

Mikrobiološka oksidacija minerala metalnih sulfida

Tunjko, Natalija

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:172160>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-09**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Natalija Tunjko

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

MIKROBIOLOŠKA OKSIDACIJA MINERALA METALNIH SULFIDA

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za fizikalnu kemiju

Mentor rada: prof. dr. sc. Tajana Begović

Zagreb, 2021. godina.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

15. srpnja 2021.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

24. rujna 2021.

Mentor rada: prof. dr. sc. Tajana Begović

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VI
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	2
2.1. Mikrobiološka oksidacija minerala sulfida	2
2.2. Kemijska reaktivnost i otapanje minerala sulfida	4
2.3. Mikrobiološka oksidacija pirita.....	5
2.4. Izravna i neizravna oksidacija minerala sulfida	8
2.5. Brzina oksidacije minerala sulfida	12
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XIII

§ Sažetak

U ovom radu opisana je mikrobiološka oksidacija minerala metalnih sulfida. Mikrobiološka oksidacija je proces u kojem mikroorganizmi potiču egzotermne reakcije oksidacije uz oslobađanje energije koju mikroorganizmi koriste za vlastiti metabolizam. Fotoautotrofi iz anorganskih tvari primljenih iz okoliša mogu sintetizirati organske spojeve koristeći se svjetlosnom energijom, dok kemoautotrofi potrebe za energijom podmiruju oksidacijom različitih anorganskih tvari koje primaju iz okoliša u stanicu. U kemoautotrofne organizme spadaju nitrifikacijske, željezne i sumporne bakterije. Opisan je utjecaj trošenja kiselih stijena na oksidaciju minerala sulfida i utjecaj raznih mikroorganizama na oksidaciju kao što su *A. ferrooxidans*. Uz to, prikazan je utjecaj kemijskih svojstava na oksidaciju minerala sulfida. Jedno od kemijskih svojstava je elektronska konfiguracija koja predstavlja raspodjelu elektrona u ljuskama i orbitalama atoma. Raspodjela elektrona u različitim metalnim sulfidima ima značajan utjecaj na njihovu reaktivnost. Najzastupljenija vrsta minerala bogata sumporom je pirit koji je ujedno i najbolje istražen. Pirit kristalizira po tipu kubične slagaline i pentagonskog dodekaedra. Oksidacija pirita u prirodi je složen proces, iako nije čisto kemijski niti mikrobiološki proces, no može se promatrati kao elektrokemijski točnije redoks proces. Opisana je oksidacija minerala sulfida kroz izravan model koji obuhvaća oksidaciju minerala tako da se direktno vežu mikroorganizmi na površinu minerala. Neizravan model opisuje oksidaciju minerala posredno preko oksidacije iona Fe^{2+} . Oksidacija Fe^{2+} oslobađa dovoljno energije za spontanu reakciju oksidacije minerala sulfida. Objašnjena je kinetika reakcije oksidacije na površinama metala sulfida.

§ 1. UVOD

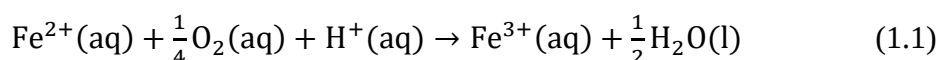
Minerali sulfida se nalaze u magnetskim, sedimentnim stijenama kao i u hidrotermalnim naslagama. Ekonomski se iskorištavaju kao sirovine za dobivanje sumporne kiseline i metala, kao što su Co, Cu, Au, Ni i Zn. Postoje kao sulfidi raznih metala (npr. CuS, Cu₂S, NiS, ZnS) ili kao koprecipitati različitih vrsta željezovog sulfida FeS₂ (npr. halkopirit, CuFeS₂). Međutim, minerali sulfida često zaostaju kao neiskoristive tvari nakon rudarskih i metalurških procesa. Izloženost minerala sulfida atmosferskom kisiku tijekom iskapanja i obrade uzrokuje razgradnju stijena što predstavlja veliki ekološki problem. Razgradnjom i otapanjem stijena u kontaktu s oborinama dolazi do zakiseljavanja okolišnih voda što ima loš utjecaj na vodene ekosustave. Dodatno, oksidacija metalnih sulfida egzoterman je proces što uzrokuje povećanje temperature okolišnih voda. Dominantna vrsta minerala bogata sumporom je pirit (FeS₂). Uz pirit se često nalaze i naslage bogate metalima poput Au, Ag, Cu, Zn i Pb ili drugim mineralima poput halkopirita (CuFeS₂), sfalerita (ZnS) i galenita (PbS). Iskapanjem ruda povećava se površina sumpornih ruda izloženih zraku i vodi te doprinosi povećanju kiselosti okolišnih voda i tla. U područjima u kojima stijene imaju niski puferški kapacitet trošenjem stijena dolazi do nastanka kiselih toksičnih otopina. Objavljena su brojna istraživanja¹ mehanizama i oksidacije minerala sulfida u svrhu (i) razumijevanja i predviđanja rizika za okoliš povezan s trošenjem kiselih stijena; (ii) razumijevanja kruženja sumpora i metala povezanog s vremenskim utjecajima i (iii) optimiziranje komercijalnog dobivanja metala iz ruda i otpada niske kvalitete.

Mikroorganizmi imaju ključnu ulogu u oksidaciji minerala sulfida, te utječu na procese koji se događaju prilikom kontakta okolišnih voda i stijena. U ovom završnom radu daje se pregled kemijskih reakcija i opisuju se svojstva minerala metalnih sulfida, objašnjava se uloga mikroorganizama u procesu oksidacije minerala sulfida te kinetika geokemijskih reakcija na površinama minerala.

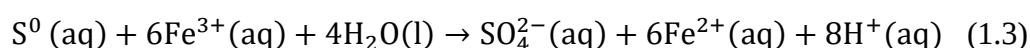
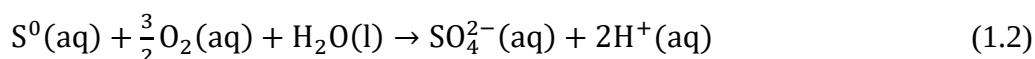
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2.1. Mikrobiološka oksidacija minerala sulfida

Mikrobiološka oksidacija je proces u kojem mikroorganizmi potiču egzotermne reakcije oksidacije uz oslobađanje energije. Tu oslobođenu energiju mikroorganizmi koriste za vlastiti metabolizam. Oksidaciju anorganskih spojeva primarno koriste kemolitotrofni mikroorganizmi, a to su mikroorganizmi koji koriste elektron donore u njihovom okruženju, za dobivanje energije kako bi izgradili svoje strukturne komponente, preživjeli, rasli i razmnožavali se. Mikroorganizmi na više načina sudjeluju u oksidaciji metalnih sulfida. Mikroorganizmi oksidiraju ione Fe^{2+} oslobođene tijekom otapanja minerala, pri čemu nastaju Fe^{3+} ioni



koji mogu katalizirati oksidativno otapanje minerala. Nadalje, mikroorganizmi sudjeluju u oksidaciji spojeva koji sadrže elementarni sumpor pri čemu dolazi do redukcije kisika ili Fe^{3+} iona:



Ove procese kataliziraju različiti acidofilni autotrofni i heterotrofni mikroorganizmi. Acidofilne vrste su mikroorganizmi (prokarioti ili eukarioti) koji se razmnožavaju i obitavaju u sredinama čija je pH vrijednost manja od tri. Termin acidofilus potječe iz grčkog jezika i znači "ljubitelj kiseline". Takve kisele sredine mogu nastati vulkanskim aktivnostima pri kojima dolazi do oslobađanja plinova koji sadrže sumpor ili kao posljedica iskapanja minerala metalnih oksida. Autotrofni organizmi stvaraju sami sebi „hranu“ npr. fotosintezom iz CO_2 stvaraju ugljikohidrate pri čemu kao izvor energije potrebne za sintezu tih spojeva koriste sunčevu svjetlost (fotoautotrofi) ili kemijske reakcije (kemoautotrofi). Za razliku od autotrofnih, heterotrofni organizmi uzimaju neophodne ugljikohidrate iz organskih tvari. Poznati acidofilni mikroorganizam *Acidithiobacillus ferrooxidans* (prije poznat kao *Thiobacillus ferrooxidans*); primjer je litoautotrofnog organizma koji je sposoban katalizirati sve tri gore navedene reakcije.

A. ferrooxidans katalizira te reakcije svojom enzimskom aktivnošću. Što je najvažnije, brzina oksidacije Fe^{2+} kisikom vrlo je spora pri pH vrijednostima ispod 4, dok je brzina mikrobiološki katalizirane oksidacije puno veća. Enzimska kataliza oksidacije Fe^{2+} je presudan korak u prijenosu elektrona i protona tijekom oksidacije sulfida.

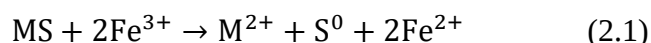
Rezultati istraživanja² ukazuju da je mikrobiološka kataliza odgovorna za oko 75% ukupnog trošenja kiselih stijena iz rudnika. Uz presudnu ulogu mikroorganizma u oksidaciji Fe^{2+} pri niskom pH, mikrobiološka oksidacija reduciranih spojeva bogatih sumporom doprinosi zakiseljavanju tla, što pomaže u održavanju stabilnosti metalnih sulfida. Oksidacija Fe^{2+} zahtjeva kisele uvjete. Mikrobiološka oksidacija S^0 nastalog na površinama FeS_2 u konačnici je korak koji ograničava brzinu zakiseljavanja tijekom oksidacije FeS_2 . Analogno tome trošenje kiselih stijena bi moglo biti smanjeno ako bi se usporila oksidacija S^0 . Nakupljanjem S^0 na površinama metalnih sulfida mijenjaju se elektrokemijska svojstva i reaktivnost površine. Nekoliko studija ukazuje³ da bi stvaranje sloja S^0 moglo usporiti daljnju oksidaciju blokirajući pristup oksidansa površini minerala. Međutim, oksidacija sulfidnih minerala ovisi o različitim količinama taloženja S^0 . Također ovisi odvija li se oksidacija kisikom ili mikroorganizmima koji sadrže sumpor. Predloženo je dva moguća objašnjenja utjecaja S^0 na oksidaciju sulfidnih minerala⁴ (i) S^0 se može nakupljati odvojeno, a ne kao kontinuirani sloj. Takve odvojene nakupine se ne moraju nužno stvarati na rubovima koji se najbrže otapaju ili (ii) sloj S^0 se može širiti manje ili više jednoliko po površini minerala, ali tako da ostaje dovoljno porozan kako bi reaktanti i produkti mogli proći difuzijom kroz taj sloj minerala.

Gore razmatrani procesi su neizravni mehanizmi kojima mikroorganizmi sudjeluju u oksidaciji metalnih sulfida uglavnom obnavljanjem Fe^{3+} i stvaranjem kiselih uvjeta. Postoji mogućnost da mikroorganizmi izravnije sudjeluju u oksidaciji sulfidnih minerala, npr. prijenosom elektrona iz minerala sulfida na površinu ili proizvodnjom izvanstaničnog spoja npr. cistein koji destabilizira površinu minerala. Izravnije sudjelovanje mikroorganizama je uočeno prilikom otapanja FeS_2 . Te je puno brže u prisutnosti acidofilnih organizama kao što je *A. ferrooxidans* u usporedbi sa samooksidacijom. Ovi mikroorganizmi imaju sklonost vezanja za površine metalnih sulfida. Pitanje je li organizmi poput *A. ferrooxidans* izravno sudjeluju u oksidaciji metalnih sulfida dugogodišnja je kontroverza i još uvijek je predmet rasprave. Do danas postoje samo posredni dokazi u prilog izravnom mehanizmu oksidacije. Međutim prihvaćeni model neizravne oksidacije predstavljen u nastavku ovog rada uključuje sudjelovanje mikroorganizama koji provode kemolitotrofni metabolizam u neposrednoj blizini

površine minerala. Mikrobiološka oksidacija sumpora važna je u biokemijskom ciklusu sumpora u okruženjima koja obiluju smanjenim vrstama bogatih sumporom i niskim koncentracijama kisika, poput morskih okruženja, sedimentnih i hidrotermalnih sustava.

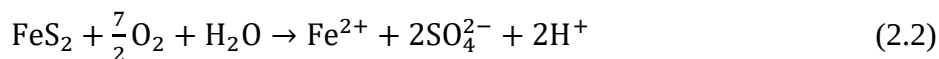
2.2. Kemijska reaktivnost i otapanje minerala sulfida

Većina minerala sulfida su obojeni i imaju veliku gustoću⁵. Elektronska konfiguracija utječe na kemijska svojstva monosulfida i disulfida. Elektronska konfiguracija je raspored elektrona po ljuskama, podljuskama i orbitalama. Razlike u elektronskoj konfiguraciji različitih faza metalnih sulfida imaju temeljni utjecaj na reaktivnost takvih faza. Monosulfidi poput CuS sadrže anion S^{2-} , dok disulfidi poput FeS_2 sadrže dianion S_2^{2-} , točnije dva aniona S^- . Monosulfidi prijelaznih metala imaju strukturu u kojoj je svaki metalni ion oktaedarski okružen sa šest sulfidnih iona. Monosulfidi (npr. CdS, CoS, CuS, FeS, NiS, PbS, ZnS) općenito su topivi u kiselinama (tj. podložni su protonskom otapanju). Krajnji produkt kiselinskog otapanja ovih minerala su divalentni metalni ion (M^{2+}) i H_2S . U prisutnosti O_2 i Fe^{3+} , H_2S se brzo pretvara u elementarni sumpor (S^0) uz nastajanje polisulfidnih međuprodukata. U usporedbi s protonom, Fe^{3+} ioni učinkovitije djeluju na kidanje veze između metala (M) i sumpora u metalnim sulfidima, te otapanjem sulfida u kiselini nastaje elementarni sumpor što se može prikazati ukupnom jednadžbom kemijske reakcije:



Fe^{2+} i S^0 nastali ovom reakcijom su izvori energije koju koriste litotrofni acidofilni mikroorganizmi. Čak i u nedostatku elementarnog željeza, organizmi koji oksidiraju sumpor, poput *A. ferrooxidans*, mogu oksidirati u kiselom mediju topljive sulfide metala. Oksidaciju topljivih sulfida metala, *A. ferrooxidans* može vršiti zahvaljujući svojoj sposobnosti stvaranja protona tijekom oksidacije S^0 .

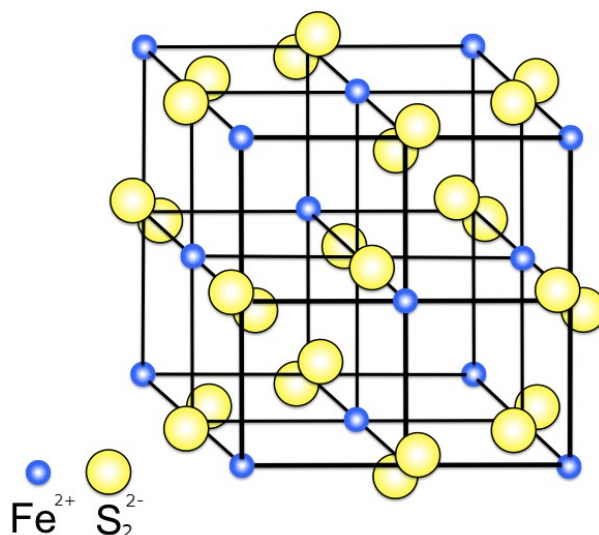
Za razliku od gore spomenutih minerala monosulfida, disulfidi npr. FeS_2 , MoS_2 i WS_2 , sadrže anion S_2^{2-} , u kojem je duljina veze S-S jednaka kao i u elementarnom sumporu⁵. Kao rezultat, ovi metalni disulfidi nisu topivi u kiselinama, stabilniji su, stoga se otapaju samo oksidacijom, uz O_2 ili Fe^{3+} . Kemijska reakcija oksidacije pirita kisikom:



Mikrobiološka oksidacija pirita bit će opisana u sljedećem poglavlju.

2.3. Mikrobiološka oksidacija pirita

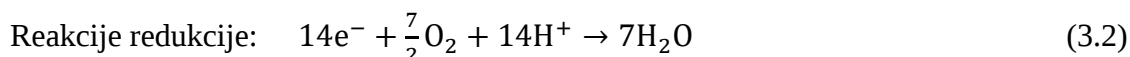
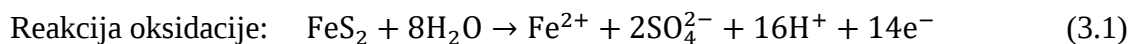
Pirit je mineral željezova sulfida s metalnim sjajem. Ima mjedenu boju koja je slična zlatu, zbog te je sličnosti poznata i pod imenom *Fools of Gold* ili lažno zlato.⁶. Ovaj disulfid također se koristio u kineskoj medicini i ima industrijsku primjenu u području katalize (ukapljivanje ugljena), fotokatalize, proizvodnje materijala koje izgrađuju litijeve baterije i solarne ćelije. Pirit se obično pronalazi u rudnicima tijekom vađenja ugljena ili različitih metala. To nažalost uzrokuje ekološke probleme tijekom procesa odvodnje stijena gdje otopljeni pirit sudjeluje u zakiseljavanju okolišnih voda. Pirit kristalizira po tipu kubične slagaline i rjeđe po tipu pentagonskog dodekaedra. Kemijska reaktivnost pirita ovisi o uvjetima medija, kao što su temperatura i kiselost otopine. Pirit pripada kubičnom sustavu sa jediničnom ćelijom, koja sadrži 4 FeS₂ jedinice. Atomi željeza zauzimaju vrhove i središte u jediničnoj ćeliji. Atomi željeza i S₂²⁻ dimeri tvore strukturu sličnu NaCl (Slika 1.)



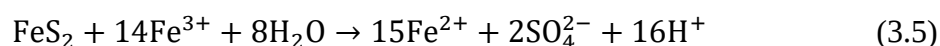
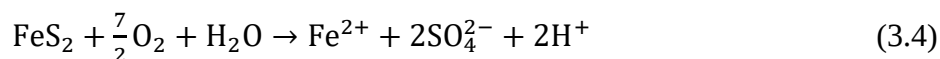
Slika 1. Kristalna struktura pirita, ioni Fe²⁺ i S₂²⁻ tvore strukturu sličnu NaCl. Slika je preuzeta iz literaturnog navoda 5.

Oksidacija pirita u prirodi nije čisto kemijski niti čisto mikrobiološki proces. Umjesto toga, rezultat je složene interakcije procesa koji ovise o vrsti stijena, kemijskoj strukturi, mikrobiološkoj zajednici i temperaturi. Unatoč važnosti otapanja sulfida pri različitim uvjetima u okolišu, literaturom većinom dominiraju istraživanja koja uključuju samo nekoliko vrsta mikroorganizama uz ograničeni raspon uvjeta okoline.

Oksidacija pirita može se razmatrati elektrokemijski, kao redoks proces. Proces se sastoji od reakcija oksidacije i redukcije koji su povezani s prijenosom elektrona na površini minerala.

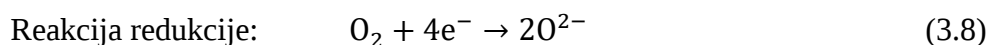
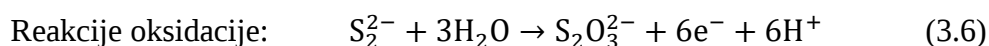


U tom slučaju moguće su dvije ukupne reakcije:



Mehanizam oksidacije pirita uključuje Fe^{3+} ione (reakcija 3.3) koji oksidiraju pirit 3 do 100 puta brže od kisika. Do ove reakcije dolazi samo pri niskom pH (<4,0), s obzirom na slabu topljivost željeza pri višim pH vrijednostima. U reakcijskom mehanizmu oksidacije FeS_2 uz mikrobiološku katalizu bitna su dva parametra. Prvo, i O_2 i Fe^{3+} su sposobni za gotovo stehiometrijsku oksidaciju S_2^{2-} u SO_4^{2-} pri neutralnom pH području. Kako Fe^{3+} može djelovati kao učinkovit oksidans Fe^{2+} pri niskom pH, oslobođena energija oksidacije Fe^{2+} dovoljna je za oksidaciju FeS_2 (ovo je neizravni mehanizam oksidacije o kojem se detaljnije govori u nastavku). Neizravni mehanizam oksidacije objašnjava zašto su organizmi kao što je *Leptospirillum ferrooxidans* sposobni oksidirati FeS_2 . *L. ferrooxidans* je vrlo učinkovit Fe^{2+} oksidans, ali ne može metabolizirati reducirani sumpor.

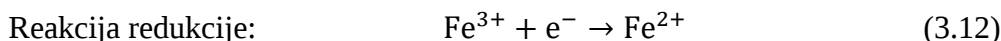
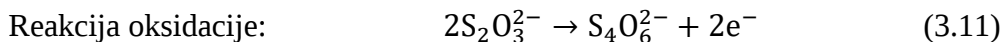
Dodatno, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ je ključni prijelazni međuprodukt u procesu oksidacije FeS_2 , koji brzo reagira s Fe^{3+} , stvarajući tetratationat ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$):



Ukupne reakcije su:

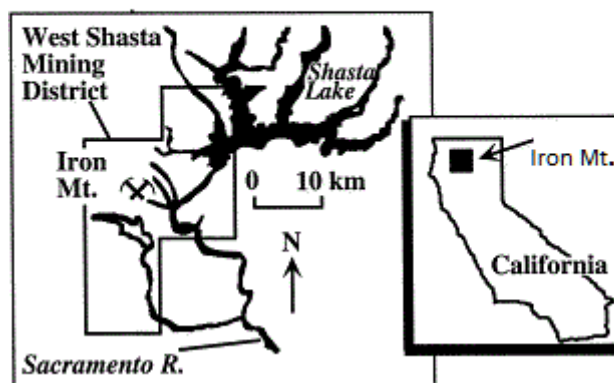


Zatim $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ reagira sa Fe^{3+} stvarajući tetratonat:



Tetratonat se zatim raspada na elementarni sumpor i sulfat. Ovaj slijed reakcija dovodi do nastajanja malih, ali značajnih količina S^0 tijekom mikrobiološki katalizirane oksidacije FeS_2 . Ta količina elementarnog sumpora može se dokazati kemijskom analizom ili elektronskom mikroskopijom. Taloženje S^0 značajno je po tome što omogućava uspješnu oksidaciju sumpora acidofilnim mikroorganizmima.

Primjer istraživanja prostornog utjecaja na oksidaciju pirita na Iron Mountain u Kaliforniji (Slika 2.), istražena je površinskim strukturnim i kemijskim metodama. Istraživanje je bilo usredotočeno na područja koja se nalaze unutar rudnika i izvan njega. Područja koja generiraju kisele uvjete, a koja su do sada ispitivana na Iron Mountain ($\text{pH} < 1$, $t > 35^\circ\text{C}$) naseljena su vrstama koje nisu *A. ferrooxidans*. Analiza bakterijskih vrsta i ispitivanja na osnovi oligonukleotidnih spojeva potvrdila su prisutnost *Leptospirillum ferrooxidans* i ukazala na postojanje i drugih vrsta mikroorganizama. Takve vrste su pronađene u područjima blizu rudnika, West Shasta, dok u Sacramentu⁷ (350 km od Iron Mt.) prevladavaju *A. ferrooxidans* mikroorganizmi (Slika 2.) *A. ferrooxidans* je povezan s relativno umjerenim uvjetima (pH 2-3) u odnosu na rudnike. Istraživanja površina pokazuju da se ovi mikroorganizmi nalaze na sulfidnim mineralima, a ne na silikatnim stijenama. Geokemijska karakterizacija tijekom godine otkrila je da je mikrobiološka zajednica koja kontrolira stvaranje kiselih uvjeta varirala i da bi mogla biti u korelaciji sa fluktuacijama geokemijskih uvjeta.



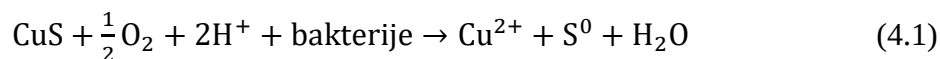
Slika 2⁷. Prikaz karte Iron Mountain , Kalifornija.

2.4. Izravna i neizravna oksidacija minerala sulfida

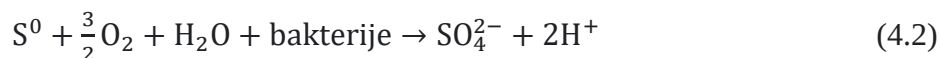
Predložena su dva modela oksidacije minerala sulfida. Izravan model obuhvaća oksidaciju minerala tako da se mikroorganizmi direktno vežu na površinu minerala. Dok neizravan model opisuje oksidaciju minerala posredno preko oksidacije iona Fe^{2+} . Oksidacija Fe^{2+} oslobađa dovoljno energije da bi oksidacija minerala sulfida bila spontana. Neki znanstvenici daju argumente u korist izravnog modela oksidacije dok neki predlažu neizravan model oksidacije metalnih sulfida.

Oksidacija minerala kovelita (CuS) u kojem je sulfid jedina oksidirajuća tvar može se objasniti izravnim modelom.⁸ CuS je izrazito netopiv ($\log K_s \approx -44$), te ravnotežna koncentracija otopljenog sulfida pri $\text{pH} = 2$ iznosi $c(\text{S}^{2-}) \approx 10^{-13} \text{ mol dm}^{-3}$. Ova koncentracija je daleko niža od koncentracije sulfida pri oksidaciji uz prisutnost *A. ferrooxidans*

($c(\text{S}^{2-}) \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$). Sama disocijacija CuS u Cu^{2+} i H_2S ne oslobađa dovoljnu količinu energije za preživljavanje mikroorganizama na samoj površini minerala kovelita. Izuzetak je *A. ferrooxidans* koji preživljavaju i zahvaljujući samo oksidaciji kovelita pri $\text{pH} = 2$ u nedostatku željeza. Suprotno tome, utvrđeno je da mikroorganizam *Thiobacillus thioparus* potiče oksidaciju kovelita tek nakon značajne oksidacije minerala u CuSO_4 i S^0 . Ovi rezultati ukazuju da *A. ferrooxidans* može izravno napadati površinu CuS , vjerojatno proizvodnjom S^0 koji služi kao supstrat za daljnju aktivnost metabolizma:



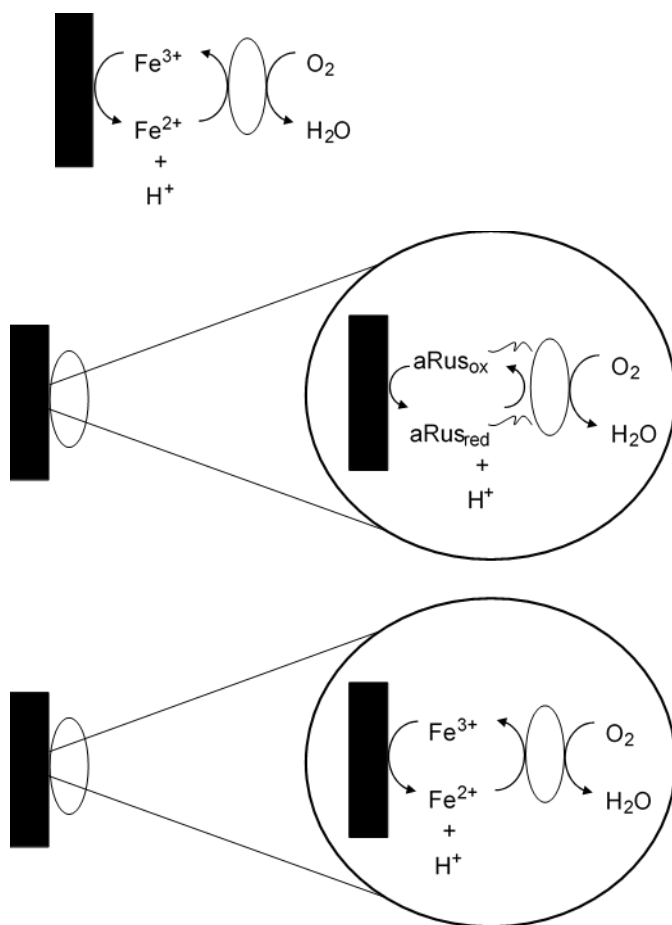
Pri čemu nastaje elementarni sumpor koji se dalje oksidira do sulfatnog aniona:



Pokazano je⁹ da je za oksidaciju u odsutnosti željeza potreban izravan kontakt između mikroorganizma i površine minerala. Ovi nalazi ukazuju da *A. ferrooxidans*, za razliku od *T. thioparus* ima sposobnost potaknuti trošenje površine CuS.

Nedavne studije¹⁰ ukazuju da *A. ferrooxidans* mogu reagirati sa –SH skupinom aminokiseline cisteina tako da se vežu na površinu CuS. Vezanjem na površinu stvara se S^0 i prenosi Fe^{2+} u stanicu. Ovaj koncept potkrijepljen je privremenim oslobađanjem S^0 koji se odvija tijekom oksidacije CuS sa *A. ferrooxidansom* te sposobnošću cisteina da ubrzava izlučivanje CuS.

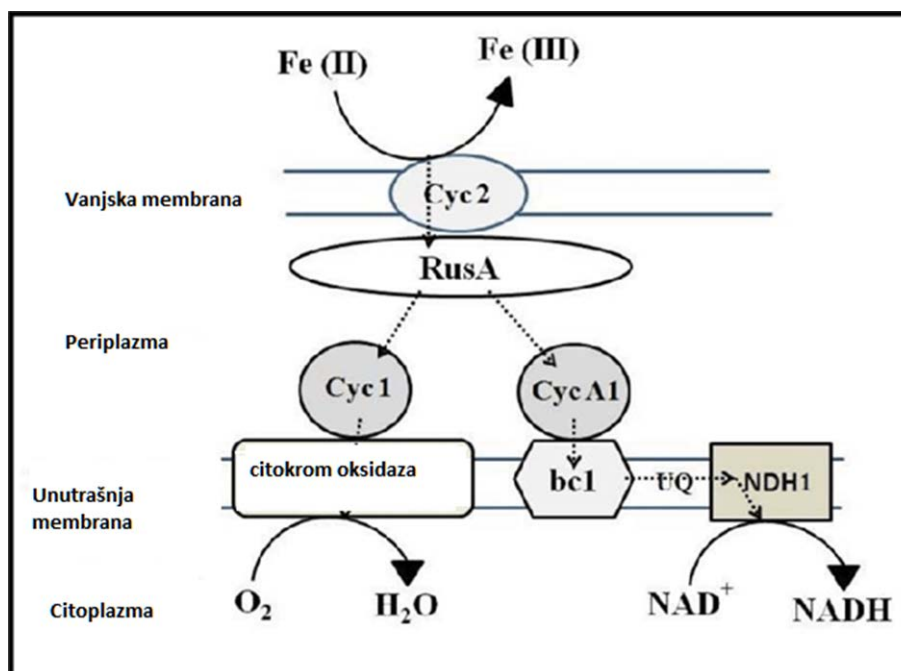
Također u prilog izravnom mehanizmu oksidacije ide dokazana prisutnost spoja aporusticijanina koji igra specifičnu ulogu u prijanjanju *A. ferrooxidansa* na površinu minerala željeznih sulfida¹¹. Aporusticijanin je oblik rusticijanina, ali bez bakra, dok je rusticijanin protein koji sadrži bakar te ima važnu ulogu u prijenosu elektrona za oksidaciju Fe^{2+} . Mikroorganizam *A. ferrooxidans* može izlučiti rusticijanin. Primijećeno je kako protein aporusticijanin i stanice *A. ferrooxidansa* imaju sličan afinitet vezanja na razne minerale željeznih sulfida (FeS_2 , FeS i CuFeS_2). Vezanje na površinu se postiže koordinacijom bakrenih liganada s atomom željeza na površini kristalne rešetke minerala. Vezanjem jednog ili više koordinacijskih liganada bakra na aporusticijanin, nastaje rusticijanin. Vezanje rusticijanina na željezo dovodi do destabilizacije površine minerala. Destabilizacija rezultira otpuštanjem Fe^{2+} u otopinu i prijenosom elektrona na atome sumpora koji se potom oksidiraju (slika 3).



Slika 3. Modeli oksidacije FeS_2 (crni pravokutnici) oksidacijskim mikroorganizmima Fe^{2+} putem (a) neizravnog mehanizma u kojem organizmi oksidiraju Fe^{2+} ione; (b) izravni, enzimski posredovani (npr. putem aporusticijanina (aRus); mehanizam koji ne zahtijeva Fe^{3+} ; ili (c) posrednim kontaktnim mehanizmom u koji vezani organizmi oksidiraju Fe^{2+} u sloju stanica, a Fe^{3+} ioni unutar sloja otapaju mineral. Slika je preuzeta iz literaturnog navoda 11.

Time je uočena povećana količina željeznih iona i oksidacija sumpora tijekom rasta na mineralima željezovih sulfida. Takvi spregnuti procesi predstavljaju izravni mehanizam oksidacije minerala sulfida. Alternativni način na koji bi aporusticijanin mogao izravno katalizirati oksidaciju FeS_2 bi bio olakšati prijenos naboja (tj. elektrona) iz FeS_2 u stanične elektron akceptore pomoću mehanizma unutarnje sfere¹². Mehanizam unutarnje sfere obuhvaća komplekse nastale adsorpcijom $-\text{O}-$, $-\text{CN}-$ ili $-\text{CO}-$ na međufazne atome željeza u FeS_2 te uvelike ubrzavaju prijenos naboja između FeS_2 i Fe^{3+} . Jedan od takvih kompleksa je citokrom

c (protein iz skupine hemoproteina koji sadrži željezo točnije prostetičku skupinu hem te je dio lanca prijenosa elektrona). Citokrom c se nalazi u vanjskoj membrani *A. ferrooxidans* koji sudjeluje u oksidaciji Fe^{2+} . Ta oksidacija je prikazana na slici 4. zajedno sa izmijenjenim modelom koji u obzir uzima moguću ulogu aporusticijanina u prijenosu elektrona iz FeS_2 u citokrom c.



Slika 4.¹² Model za transport elektrona tijekom FeS_2 oksidacije *A. ferrooxidans* uključujući početni korak, a to je neizravno otapanje minerala koordiniranim ionima Fe^{3+} , a izmijenjeni model uključuje kao početni korak izravni prijenos elektrona iz FeS_2 u aporusticijanin (RusA) i naknadni prijenos na citokrom c1 ili citokrom A1.

Gore opisani mehanizmi izravne oksidacije najaktivniji su tijekom ranih faza oksidacije minerala, kada je koncentracija topljivog željeza kao agensa za prijenos elektrona u mineral relativno niska. Kasnije u procesu oksidacije, očekivale bi se veće koncentracije Fe^{2+} za inhibiciju vezanja stanica i visokih koncentracija Fe^{3+} . Takvi uvjeti dovode do brže kemijske oksidacije, čime se otklanja potreba za pričvršćivanjem stanica na površinu minerala. Međutim, ne postoje dokazi da Fe^{3+} inhibira vezanje *A. ferrooxidans* na FeS_2 , ali postoji dovoljno dokaza da prisutnost vezanih stanica ubrzava otapanje FeS_2 destabilizirajući površinu minerala.

2.5. Brzina oksidacije minerala sulfida

U ovom odjeljku opisana je kinetika oksidacije minerala sulfida. Brzina reakcija oksidacije minerala sulfida ovisi o tome je li reakcija strogo kemijska ili mikrobiološka. Također, ovisi o veličini čestica na površini i o njihovom promjeru te o raspodjeli iona Fe^{3+} i H^+ na površini minerala. Otapanje i oksidacija minerala opisani su na primjeru FeS_2 .¹³ Ključna pretpostavka je da se oksidacija Fe^{2+} odvija samo u vodenim fazama tj. ne postoji izravno vezanje mikroorganizama na površine minerala. Izračunate brzine kemijske oksidacije Fe^{2+} uvijek su nekoliko redova veličine niže od onih izračunatih za mikrobiološku oksidaciju.

Utjecaj oksidacije Fe^{2+} i otapanja pirita opisan je modelom¹⁴ osmišljenim da oponaša medije sa vrijednostima $\text{pH} < 1$. Za to su korišteni oksidacijski parametri Fe^{2+} za *L. ferrooxidans*. Rezultati simulacije pokazali su da u kemijskim sustavima svo otopljeno željezo je u Fe^{2+} obliku, za razliku od mikrobioloških sustava u kojima je Fe^{3+} dominantna vrsta. Brzine oksidacije FeS_2 sa Fe^{3+} strogo su kontrolirane brzinama oksidacije Fe^{2+} u vodenoj fazi te su 4 reda veličine veći u biotičkim sustavima u odnosu na abiotičke sustave.

Oksidacija FeS_2 uključuje reakcije prijenosa elektrona na površini minerala, stoga veličina čestica ima temeljni utjecaj na brzine oksidacije FeS_2 mikroorganizmima. Veličine i površine čestica minerala mogu se mijenjati numeričkim modeliranjem¹⁴. Brzina oksidacije otapanja FeS_2 proporcionalno ovisi o površini čestica minerala i obrnuto s promjerom čestica.

Razlike u neravnomjernoj oksidaciji na površini pirita mogu se objasniti činjenicom da se otapanje FeS_2 događa stvaranjem nejednolikih pora na površini minerala. Posljedica je različita reaktivnost prema dugotrajnom otapanju. Smanjenje koncentracije vodikovih iona i/ili povišenje Fe^{3+} tijekom oksidacije Fe^{2+} mikroorganizmima ima važan utjecaj na kinetiku otapanja minerala sulfida. Kako bi se kvantitativno istražio ovaj koncept koristi se model transportne reakcije¹³. Ovaj model objašnjava difuziju otopljenih tvari minerala sulfida. Provedeno je šest simulacija u rasponu početnih pH vrijednosti od 1,5-2,0 kako bi se procijenio utjecaj koncentracije vodikovih iona na transport željeza. Rezultati simulacija pokazali su da je utjecaj promjene koncentracije vodikovih iona velik na raspodjelu otopljenih tvari minerala. Također je pokazano da se koncentracija Fe^{3+} povećava uz samu površinu minerala te dolazi do povećanja brzine oksidacije pirita¹⁴.

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. V. P. Evangelou, Y. L. Zhang, *Pyrite oxidation mechanisms and acid mine drainage prevention*, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **25**(2) (1995) 141-199.
2. K. J. Edwards., P. L Bond., G. K Druschel., M. M., McGuire, R. J Hamers., F. Banfield, *Geochemical and biological aspects of sulfide mineral dissolution*, *Chem. Geol.* **169** (2001) 383–397.
3. M. M. McGuire, K. J Edwards., J. F., Banfield, R. J Hamers. *Kinetics, surface chemistry, and structural evolution of microbially mediated sulfide mineral dissolution*, *Geochim. Cosmochim. Acta* **65** (2001) 1243–1258.
4. A. Schippers, P. G. Jozsa, W. Sand, *Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97** (1996) 7529–7541.
5. F. A. Cotton, G. Wilkinson *Advanced inorganic chemistry*, peto izdanje, Willey Interscience, New York (1988), str. 503-505.
6. H. Choi, J. Yang, *Crystalline structure and magnetic properties of pyrite FeS₂*, *AIP Advances* **11** (2020) 73-75.
7. K. J. Edwards, P. L. Bond, G. K. Druschel, M. M. McGuire, R. J. Hamers, J. F. Banfield *Geochemical and biological aspects of sulfide mineral dissolution: Lessons from Iron Mountain, California*. *Chem. Geol.* **169** (2001) 383–397.
8. H. L. Ehrlich, *Geomicrobiology*, 6. izdanje, CRC Press (2015) 301-312.
9. C. Pogliani, G. Curutchet, E. Donati, A. Tedesco *A need for direct contact with particle surfaces in the bacterial oxidation of covellite in the absence of a chemical lixivian*. *Biotechnol. Lett.* **12** (1990) 515–518.
10. J. Rojas-Chapana, H. Tributsch, *Biochemistry of sulfur extraction in biocorrosion of pyrite by Thiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy* **59**(2001) 291–300.
11. R. C. Blake, K. Sasaki, N. Ohmura, *Does aporusticyanin mediate the adhesion of Thiobacillus ferrooxidans to pyrite?* *Hydrometallurgy* **59**(2001) 357–372.
12. T. Rohwerder, T. Gehrke, K. Kinzler, W. Sand. *Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: Fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **63** (2003) 239–248.

13. D. E. Rawling *Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates*, Microb. Cell Fact. **13** (2005).
14. C. Mustin, P. Dedonato, J. Berthelin. *Quantification of the intragranular porosity formed in bioleaching of pyrite by Thiobacillus-Ferrooxidans*. Biotechnol. Bioeng. **39** (1992) 1121–1127.