

Original Research Paper

# Recovery of nickel from low-grade and high-grade arsenide (nickel) deposits based on comparing the performance of chemolithotrophic and heterotrophic bacteria and investigation about the effect of different types of additives

Zohreh Boroumand<sup>1,2\*</sup>, Hadi Abdollahi<sup>1</sup>, Reza Shahbazi<sup>2</sup>, Shabnam Najafi Asli-Pashaki<sup>2</sup>, and Mir Saleh Mirmohammadi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> School of Mining Engineering, College of Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Geological Survey of Iran, Tehran, Iran

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received: 2023 July 11

Accepted: 2023 November 22

Available online: 2024 June 21

### Keywords:

Bioleaching

Mesophilic bacteria

Heterotrophic bacteria

Nickeline

Ni dissolution

## ABSTRACT


In this study, microbial leaching of nickel from two arsenide ores (low- and high-grade samples) was precisely investigated. The microbial leaching of nickeline was accomplished with the admixture of mesophilic (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*) cultures in shake flasks with pulp densities of 0.5, 1, and 5% for low- and high-grade samples. The nickel content was over 99% dissolved by mesophilic bacteria of low-grade and high-grade samples after 10 and 28 days respectively at two 0.5% and 1% pulp densities, while the nickel content of the chemical and abiotic control tests was much lower than biotic tests (about 6.9% and 26.7% for low-grade, 10.3% and 16.9% for high-grade). This study marks the inaugural utilization of heterotrophic bacteria in such dissolution processes. Evaluation of three bacterial strains, (*Bacillus cereus*, *Glutamicibacter nicotianae*, and *Bacillus zhanghouensis*), revealed their proficiency in nickel dissolution from nickeline samples across a range of solid percentages (0.5%, 0.8%, 1.1%, and 3%). Notably, *Glutamicibacter nicotianae* demonstrated superior dissolution capabilities compared to its counterparts, resulting in 100% nickel recovery from low-grade samples and 70% recovery from high-grade samples. Control leaching experiments corroborated these findings, albeit with notably inferior dissolution rates (0.33%). Characterization of remaining samples and microbial activity was conducted through various analytical techniques including SEM-EDS, FE-SEM, and XRD analysis. The catalytic effect and galvanic interaction of different additives on the dissolution of the samples were investigated so that for the solid density of 50 grams per liter of low and high-grade samples, a specific amount of pyrite (0.75 g/L), graphite (0.8 g/L), L-Cysteine (0.48 g/L) and silver nitrate (0.0504 g/L) were added to the medium. In the low-grade sample, the nickel dissolution, all four additives in both low-grade samples with iron (II) and sulfur additives and without iron (II) and sulfur additives showed a positive efficiency so that the dissolution rate exceeded 90% on day 28. In high-grade, three of the four additives (silver-pyrite and L-Cysteine) in the high-grade sample without iron (II) and sulfur additives had a positive effect on the dissolution of nickel, and were able to increase the recovery to over 90% after 28 days, in the sample with iron (II) and sulfur additives, three additives (pyrite, silver, and L-Cysteine) had the greatest, but in the presence of iron (II) and sulfur was not benefiting but also reduced the recovery below 90%. That can be due to the high concentration of elements in the culture and its negative effect on the preformation of bacteria. In this study, mesophilic bacteria, by forming and depositing secondary arsenic minerals such as scorodite and jarosite, prepared the environment for their continued activity, which was also confirmed in the XRD analysis results.

\* Corresponding author: Zohreh Boroumand; E-mail: zohreh.boroumand@ut.ac.ir

### Citation:

Boroumand, Z., Abdollahi, H., Shahbazi, R., Najafi Asli-Pashaki, Sh., and Mirmohammadi, M.S., 2024. Recovery of nickel from low-grade and high-grade arsenide (nickel) deposits based on comparing the performance of chemolithotrophic and heterotrophic bacteria and investigation about the effect of different types of additives. *Scientific Quarterly Journal of Geosciences*, 34(2), 132, 89-106. <https://doi.org/10.22071/gsj.2023.406372.2100>.

E-ISSN: 2645-4963; Copyright©2021 G.S. Journal & the authors. All rights reserved.

 doi: 10.22071/gsj.2023.406372.2100

 dor: 20.1001.1.10237429.1403.34.2.6.2



This is an open access article under the by-nc/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

## 1. Introduction

In this paper, the bioleaching method will be used to extract nickel-cobalt from arsenic deposits. The most important problem of the bioleaching method is the sensitivity of microorganisms to high concentrations of elements, especially toxic elements such as arsenic, and the time-consuming nature of this process.

On the other hand, for the extraction of arsenic deposits, there is no solution other than following metallurgy, which, due to severe environmental hazards and the production of highly toxic gases, the environmental organization has severely limited the use of this method. Therefore, the use of resistant and adapted bacteria can be a suitable solution for solving this problem, and to reduce the time, two-stage bioleaching, catalytic additives such as silver and pyrite, or heterotrophic bacteria can be used.

The purpose of this paper is to investigate the effectiveness of the bioleaching method to accelerate the extraction of valuable elements from nickel ore. The studies conducted in the field of using biotechnology to extract valuable elements from nickel are very limited and almost not done. Using different additives such as L-cysteine, graphite, Ag, and Pyrite can increase efficiency and speed up the process. In addition, bacteria will be very efficient from the point of view of the environment by producing secondary biological minerals such as scorodite and settling and immobilizing dissolved arsenic.

In this project, in the first stage, microorganisms suitable for bioleaching are separated and purified from the soil and wastewater of ore-producing areas. The isolated microorganisms are then used to perform laboratory tests on a shake flask scale. During the process of these tests, the most optimal performance will be obtained. In the second phase, supplementary tests will be conducted based on laboratory results. Among the advantages of this method, we can mention the elimination of the washing step, preventing the leakage of thousands of tons of di and trioxide arsenic in the atmosphere, and speeding up the dissolution process. In other words, biological processes are completely environmentally friendly and will avoid the extensive environmental consequences of thermal metallurgy methods.

## 2. Research methodology

The mesophilic bacteria (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*) employed in this study were sourced from the microbial bank of the Sarcheshmeh copper mine. Conversely, heterotrophic bacteria (*Bacillus cereus*, *Glutamicibacter nicotianae*, *Bacillus zhanghouensis*) were isolated from soil, wastewater, and mine tailings of the Choghart mine.

For the isolation of heterotrophic bacteria, LB medium supplemented with 10 g/L sodium chloride, 10 g/L yeast extract, 5 g/L tryptone, and adjusted to pH 8 was utilized.

The low-grade nickeline sample was collected from approximately 2.5 kilometers northwest of the village of Patang (based on the geological map of Ahangaran), located in the Khorasan province of eastern Iran. Meanwhile, the high-grade nickeline sample was obtained from the Talmasi mine in central Iran. Sample sizes were reduced to less than 7 millimeters using a jaw crusher and further pulverized to <75 microns using a powder mill. Following the preparation of samples for bacterial performance evaluation, all tests were incubated for 27 days in shaking incubators at a temperature of 30 degrees Celsius for mesophilic and heterotrophic bacteria, and agitated at 150 revolutions per minute in rotary shakers. In the low-grade sample, the pH of the solution exhibits an increasing trend during the first two days following inoculation with the mesophilic bacterial consortium (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*). Subsequently, a decreasing trend in pH is observed, indicating the adaptation of bacteria to the culture and commencement of activity. The production of acid by bacteria results in a declining pH trend in the medium. Based on the results of the Pregnant Leach Solution (PLS) chemical analysis obtained from the bioleaching operation, nickel recovery in tests with the presence of iron and sulfur, both simultaneously and separately, exceeded 99% in a shorter period of time. In these tests, the initial concentration of iron sulfate (as a dual-iron source) in the medium was estimated to be 50 grams per liter, with a solid percentage of 5 grams per liter, and an initial acidity of the culture medium set at 1.8 pH. Additionally, the initial sulfur content was 10 grams per liter. This was achieved while the nickel recovery rate in acidic leaching with a pH of 1.8 reached approximately 25.71%, and in the control sample with a pH of 6, it was approximately 6.9%.

In this study, for a solid percentage of 50 grams per liter of the low-grade sample, a specific amount of pyrite (0.75 grams per liter), graphite (0.8 grams per liter), L-cysteine (0.48 grams per liter), and silver nitrate (0.504 grams per liter) were added to the environment. Considering that an increase in solid percentage from 5 grams per liter to 50 grams per liter resulted in a reduction in microbial activity and element recovery, the addition of these substances aimed to enhance bioleaching recovery by inducing catalytic effects and potential galvanic interactions between the medium, minerals, and microorganisms. About heterotrophic bacteria, only *Glutamicibacter nicotianae* demonstrated leaching capabilities.

## 3. Results and discussions

The microbial leaching of nickeline was accomplished with the admixture of mesophilic cultures in shake flasks with pulp densities of 0.5, 1, and 5% as well as 0.5, 1, and 3% respectively. The

nickel content was over 99% dissolved by mesophilic bacteria of low-grade and high-grade samples after 10 and 28 days respectively at two 0.5% and 1% pulp densities, while the nickel content of the chemical and abiotic control tests was very lower than biotic tests (about 6.9% and 26.7% for low-grade, 10.3% and 16.9% for high-grade). In addition, three heterotrophic bacteria isolated from iron mine wastewater and tailing were used for bio-leaching of low and high-grade nickeline bearing arsenic ores. Three bacteria strains were investigated for their ability to leach from nickeline samples in different pulp densities (0.5%, 0.8%, 1.1%, and 3%). The efficiencies of these isolates were compared with each other, all the bacteria demonstrated leaching capability, but generally, *Glutamicibacter nicotiana* was more effective than the other strains. The *Glutamicibacter nicotiana* extracted Ni 100%, for the low-grade sample and up to 70 for the high-grade sample, respectively. In the control leaching experiment, dissolution of Ni was only 0.33%. The catalytic effect and galvanic interaction of different additives on the dissolution of the samples were investigated so that for the solid density of 50 grams per liter of low and high-grade samples, a specific amount of pyrite (0.75 grams per liter), graphite (0.8 g/L), L-Cysteine (0.48 g/L) and silver nitrate (0.0504 g/L) were added to the medium. In the low-grade sample, the nickel dissolution, all four additives in both low-grade samples with iron (II) and sulfur additives and without iron (II) and sulfur additives showed a positive efficiency. In high-grade, three of the four additives (silver-pyrite and L-Cysteine) in the high-grade sample without iron (II) and sulfur additives had a positive effect on the dissolution of nickel, were able to increase the recovery to over 90% after 28 days, in the sample with iron (II) and sulfur additives, three additives (pyrite, silver, and L-Cysteine) had the greatest, but in the presence of iron (II) and sulfur was not benefiting but also reduced the recovery below 90%. That can be due to the high concentration of elements in the culture and its negative effect on the preformation of bacteria. in the all condition, graghite has the best application for dissolution of Ni. Different analytical methods such as SEM-EDS, FE-SEM, and XRD were applied to characterize the untreated and bioleaching residue samples carefully. The secondary biomineral (Scorodite) was formed by the solubilization of arsenic from primary minerals in the presence of iron (II), which was proved by the results of XRD analysis.

#### 4. Conclusion

Microbial dissolution of nickel from low-grade and high-grade nickeline samples was meticulously examined, and the results indicated the following:

- Initial investigations on the dissolution of samples revealed that the presence of microorganisms is essential for the dissolution of nickeline minerals, and chemical dissolution alone is not efficient for extracting elements from the ore.
- Due to the high concentration of arsenic, especially in high-grade samples, bacterial adaptation was carried out up to a solid percentage of 10 grams per liter.
- Biological dissolution of the low-grade sample with mesophilic bacteria at a solid percentage of 0.5% showed the highest nickel dissolution efficiency, reaching 99% after 14 days.
- Biological dissolution of the high-grade sample with mesophilic bacteria at a solid percentage of 0.5% exhibited the highest efficiency for nickel dissolution, reaching 93% after 13 days. After 28 days, the efficiency reached 100%.
- Among the heterotrophic bacteria, *Glutamicibacter nicotiana* proved to be the most efficient. After 21 days of treatment, the low-grade sample with solid percentages ranging from 0.5% to 1.1% exhibited the highest efficiency in nickel dissolution, approximately 99%. Meanwhile, nickel recovery in high-grade samples with a solid percentage of 0.5% ultimately reached 70%.
- Regarding the investigation of additives, in the low-grade sample, all four additives showed positive efficacy in dissolution. By day 28, the dissolution rate reached over 90%. However, in the high-grade sample, three additives—pyrite, silver, and L-cysteine—had the most significant impact.
- In the presence of microorganisms and due to the appropriate molar ratio of iron to arsenic, as well as considering the pH of the medium and the required amount of oxygen for formation, secondary biominerals such as scorodite and jarosite were suitable. These minerals precipitated biologically as secondary biominerals in the sedimentary environment.

#### Acknowledgement

The authors acknowledge with thanks the Staff of the Nano Bio Earth department and the manager of the applied research center of the geological survey of Iran.

# بازیابی نیکل از کانسارهای ارسنیدی (نیکلین) کم‌عیار و پرعیار بر مبنای مقایسه عملکرد باکتری‌های شیمیولیتوتروفیک و هتروتروفیک و بررسی تأثیر انواع افزودنی‌ها

زهره برومند<sup>۱\*</sup>، هادی عبداللهی<sup>۱</sup>، رضا شهبازی<sup>۲</sup>، شبنم نجفی اصلی پاشاکی<sup>۲</sup> و میر صالح میرمحمدی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>دانشکده مهندسی معدن، دانشکدگان فنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup>سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور، تهران، ایران

## چکیده

در این پژوهش، انحلال میکروبی عنصر نیکل از سنگ معدنی آرسنید نیکل (نیکلین) کم‌عیار و پرعیار به‌طور دقیق مورد ارزیابی قرار گرفت. انحلال میکروبی نیکلین با میکس باکتری‌های شیمیولیتوتروفیک مزوفیل (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*) در مقیاس فلاسک شیک با درصد جامدهای مختلف ۱۰/۵ و ۵٪ برای نمونه‌های کم‌عیار و پرعیار انجام شد. بازیابی بیش از ۹۹ درصد توسط باکتری‌های مزوفیل نمونه‌های کم‌عیار و پرعیار پس از ۱۰ و ۲۸ روز به ترتیب در دو درصد جامد ۵/۵٪ و ۱٪ به دست آمد، درحالی‌که بازیابی در آزمون‌های کنترل و شیمیایی بسیار کمتر بود (به ترتیب ۶/۹ درصد و ۲۶/۷ درصد برای نمونه کم‌عیار، ۱۰/۳ درصد و ۱۶/۹ درصد برای نمونه پرعیار). در این پژوهش همچنین از باکتری‌های هتروتروفیک برای نخستین بار استفاده شد. توانایی سه سویه باکتری (*Bacillus cereus*, *Glutamicibacter nicotianae*, *Bacillus zhanghouensis*) در انحلال عنصر نیکل از نمونه‌های نیکلین در درصد جامدهای (۵/۵٪، ۱/۱٪، ۰/۸٪، ۳٪) مورد بررسی قرار گرفت. هر ۳ باکتری یاد شده قابلیت انحلال را نشان دادند، باکتری *Glutamicibacter nicotiana* مؤثرتر نسبت به سویه‌های دیگر عمل نمود، به‌طوری‌که ۱۰۰ درصد عنصر نیکل از نمونه کم‌عیار و ۷۰ درصد نیکل از نمونه پرعیار انحلال یافت. در آزمایش فروشویی (لیچینگ) شاهد، انحلال نیکل تنها ۰/۳۳ درصد بود. آنالیزهای مختلفی مانند SEM-EDS, FE-SEM, XRD توصیف دقیق نمونه‌های باقیمانده شاهد و میکروبی استفاده شد. اثر کاتالیزوری و تعامل گالوانیکی افزودنی‌های مختلف بر روی انحلال نمونه‌ها، مورد بررسی قرار گرفت به‌طوری‌که به ازای درصد جامد ۵۰ گرم برلیتر (۵ درصد) از نمونه کم و پرعیار مقدار مشخصی از پیریت (۰/۷۵ گرم برلیتر)، گرافیت (۰/۸ گرم برلیتر)، آل سیستین (۰/۴۸ گرم برلیتر) و نترات نقره (۰/۵۰۴ گرم برلیتر) برای باکتری‌های مزوفیل به محیط اضافه گردید. در نمونه کم‌عیار، هر چهار افزودنی در هر دو نمونه کم‌عیار در حضور آهن فرو و گوگرد و بدون حضور آهن فرو و گوگرد، کارایی مثبتی در انحلال از خود نشان دادند، به‌طوری‌که در روز ۲۸ میزان انحلال به بیش از ۹۰ درصد رسید. در نمونه پرعیار سه افزودنی از چهار افزودنی (نقره- پیریت و آل سیستین) در نمونه بدون حضور آهن و گوگرد کارایی مثبتی در انحلال نیکل داشته‌اند و توانستند بازیابی را به بالای ۹۰ درصد پس از گذشت ۲۸ روز برسانند، در مورد نمونه با حضور آهن و گوگرد، نیز سه افزودنی (پیریت، نقره و آل سیستین) بیشترین تأثیر را داشته اما حضور آهن و گوگرد نه تنها مفید نبوده بلکه بازیابی را به زیر ۹۰ درصد کاهش داده است؛ که این می‌تواند به دلیل غلظت بالایی عناصر در محیط و تأثیر منفی آن بر عملکرد باکتری‌ها باشد. در این پژوهش باکتری‌های مزوفیل با تشکیل و رسوب کانی‌های زیستی ثانویه آرسنیک مانند اسکوردیت و جاروسیت، محیط را برای ادامه فعالیت خود مهیا نمودند و در نتایج آنالیز XRD نیز این موضوع ثابت گردید.

## اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

کلیدواژه‌ها:

فروشویی زیستی

باکتری‌های مزوفیل

باکتری‌های هتروتروف

نیکلین

انحلال نیکل

## ۱- پیش‌نوشتار

نیز مقاومت در برابر خوردگی آن را در بازه گسترده‌ای از دما، افزایش می‌دهد. این فلز در صنعت آهن و فولاد ضروری است و آلیاژهای نیکل دار نقش کلیدی را در توسعه مواد مورد نظر در صنایع هوافضا ایفا می‌کنند (Blengini *et al.*, 2020). مهم‌ترین مواد معدنی نیکل پنتلانیدیت، سولفید آهن نیکل و گارنیریت و همچنین سیلیکات

نیکل بیست و چهارمین فلز فراوان در پوسته زمین است و پنجمین عنصر فراوان نیکل پس از آهن، اکسیژن، منیزیم و سیلیسیم است که تقریباً ۳٪ از ترکیبات زمین را تشکیل می‌دهد (Crunwell *et al.*, 2011). اهمیت نیکل در توانایی و قابلیت‌های آن نهفته است که به هنگام ترکیب با دیگر عناصر برای ساختن آلیاژ، مقاومت و استحکام فلز و

\* نویسنده مسئول: زهره برومند؛ E-mail: zohreh.boroumand@ut.ac.ir

## ماخذنگاری:

برومند، ز.، عبداللهی، ه.، شهبازی، ر.، نجفی اصلی پاشاکی، ش.، میرمحمدی، م. ص.، ۱۴۰۳، بازیابی نیکل از کانسارهای ارسنیدی (نیکلین) کم‌عیار و پرعیار بر مبنای مقایسه عملکرد باکتری‌های شیمیولیتوتروفیک و هتروتروفیک و بررسی تأثیر انواع افزودنی‌ها. فصلنامه علمی علوم زمین، ۳۴(۲)، ۱۳۲-۱۰۶. <https://doi.org/10.22071/gsj.2023.406372.2100>

doi: 10.22071/gsj.2023.406372.2100



doi: 20.1001.1.10237429.1403.34.2.6.2

حقوق معنوی مقاله برای فصلنامه علوم زمین و نویسندگان مقاله محفوظ است.



This is an open access article under the by-nc/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

نیکل منیزیم و آرسنید نیکل است. انحلال میکروبی مواد معدنی، بهره‌برداری گسترده از میکروارگانیزم‌ها در فرایند استخراج فلزات در شرایط اسیدی دارای سابقه بسیار طولانی است (Watling *et al.*, 2015). اساسا میکروارگانیزم‌های شیمیولیتوتروف که جهت انحلال کانی‌ها استفاده می‌شوند، سرعت انحلال بسیاری از مواد معدنی سولفیدی را تحت شرایط اسیدی افزایش می‌دهند، (Rawlings, 1997; Norris, 2006, Watling *et al.*, 2001, Hallberg *et al.*, 1997). تمرکز اصلی این میکروارگانیزم‌ها بر روی اکسیداسیون و کاهش آهن (II) و انحلال ترکیبات گوگرد معدنی به اسیدسولفوریک (RISC)، به‌صورت همزمان است. افزون بر میکروارگانیزم‌های اسیددوست و شیمیولیتوتروف، بهره‌برداری از میکروارگانیزم‌های هتروتروف قلیایی‌دوست در فرآوری سنگ معدنی سیلیکاته، اسیدی و ارسنیدی (Bosecker, Johnson and Roberto, 1997; Valix *et al.*, 2001; Tzeferis, 1994., Johnson and Roberto, 1997; Johnson and Hallberg, 2009) می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. با توجه به این که کانسارهای ارسنیدی نسبت به کانسارهای سولفیدی و اسیدی دارای پراکنندگی و فراوانی نیستند، از سوی دیگر، دلیل حضور آرسنیک و مشکلات زیست محیطی ناشی از فرآوری این نوع از کانسارها، بسیار کم مورد پژوهش و تحقیق قرار گرفته است، تنها چندین مورد مطالعات شیمیایی (فروشویی) و شیمی فیزیک (فلوتاسیون) بر روی کانی نیکلین (ارسنید نیکل) انجام شده است، از لحاظ مطالعات میکروبی، تنها در مورد کانی‌های سولفوراسنید کبالت (کبالتیت) و سولفوراسنید مس مطالعاتی انجام شده است و در مورد کانسارهای نیکل ارسنید (نیکلین NiAs) و راملسبرژیت (NiAs<sub>2</sub>) تقریباً هیچ نوع مطالعه‌ای به‌صورت منسجم و کارا انجام نشده است، تنها یک مورد در کنار کانی‌های ارسنیدی کبالت مطالعاتی بر روی نیکلین هم به‌صورت جزئی انجام شده است (Giebner *et al.*, 2018). عبداللهی و همکاران (Abdollahi *et al.*, 2021) مطالعاتی بر روی فروشویی زیستی کبالتیت با سویه‌های مزوفیل و گرمادوست معتدل انجام داده‌اند، بهترین بازیابی برای باکتری‌های مزوفیل ۸۹ درصد با درصد جامد ۸% به دست آمد، این بازیابی نسبت به بازیابی نمونه‌های کنترلی بالاتر بود، اضافه نمودن آهن فریک باعث بالا رفتن میزان بازیابی نمونه کنترلی شد. در مورد باکتری‌های گرمادوست معتدل در مدت زمان ۱۶ روز بازیابی کبالت به ۹۷ درصد رسید (Abdollahi *et al.*, 2021). اسکوبر و همکاران (Escobar *et al.*, 2000) از باکتری دمابالایی *Sulfolobus BC* جهت انحلال کانی انارژیت (Cu<sub>3</sub>AsS<sub>4</sub>) در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در مقیاس فلاسک شیک استفاده کردند. بیشترین انحلال مس (۵۲ درصد پس از ۵۵۰ ساعت فروشویی) مربوط به آزمون دارای باکتری به همراه ۱ گرم یون فریک بود. در غیاب یون آهن، *Sulfolobus BC* تجزیه زیست‌شناختی انارژیت را از طریق سازوکار مستقیم و با اتصال به سطح کانی انجام شده است. در فروشویی زیستی در صورت حضور آهن، آرسنیک به‌صورت آرسنات آهن رسوب می‌کند و آرسنیک تا انتهای آزمون به‌صورت نامحلول باقی خواهد ماند و این مزاحمت آرسنیک در محلول را کاهش می‌دهد (Escobar *et al.*, 2000). جانسون و همکاران (Johnson *et al.*, 2000) مطالعاتی بر روی فروشویی زیستی کانی‌های حاوی کبالت ارسنوسولفیدی (کبالتیت) و ارسنیدی (اسکوتروایت) توسط باکتری‌های مزوفیل در محیط اسیدی انجام داده‌اند. ۱۳ گونه اسیددوست جهت فروشویی زیستی کانه و کنسانتره به‌کار گرفته شد. نتایج نشان‌دهنده بازیابی بالای ۹۳ درصد برای کانه و ۴۹ درصد برای کنسانتره است. با اضافه کردن پیریت به کنسانتره ارسنیدی میزان تولید زیستی کانی اسکوتروایت افزایش یافت. در این پژوهش، هدف بررسی احتمال انحلال همزمان آرسنیک از کانی‌های اولیه و تشکیل کانی ثانویه اسکوردایت است، از سوی دیگر، دمای بالا سبب تشکیل اسکوردایت بلورین می‌شود؛ بنابراین یک روش مناسب برای رسوب آرسنیک است (Johnson *et al.*, 2000). اخیراً افزون بر باکتری‌های شیمیولیتوتروفیک، استفاده از باکتری‌های هتروتروفیک اختیاری نیز به‌شدت مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است، به‌گونه‌ای که کویی و همکاران (Cui *et al.*, 2018) از باکتری *Bacillus megaterium* QM B1551

جهت فروشویی نیکل و کبالت از کنسانتره پنتلانیدیت و پیروتیت استفاده نمودند. آزمایش‌های فروشویی زیستی تماسی و غیر تماسی با کنسانتره ریزدانه در pH اولیه ۶ انجام شد و بازیابی ۴۴/۷ درصد برای عنصر نیکل و ۳۸/۲ درصد برای عنصر کبالت در فرایند فروشویی زیستی تماسی به دست آمد. آزمایش‌های اکسیداسیون گوگرد، تیوسولفات (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>) و یون‌های آهنی (Fe<sup>2+</sup>) توسط غشای سلولی برای بررسی تغییرات گوگرد و اکسیداسیون سولفید، توسط آنزیم تیوسولفات کینون ردوکتاز و آنزیم سیتوکروم B558 بر روی سطح باکتری‌ها، انجام شد. نتایج نشان داد که تیوسولفات کینون ردوکتاز و سیتوکروم B558 را می‌توان به ترتیب برای اکسیداسیون (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>) به SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> و Fe<sup>3+</sup> به Fe<sup>2+</sup> بسیار موثر هستند (Cui *et al.*, 2018). همچنین منیسوانارات و همکاران (Maneesuwanarat *et al.*, 2016, 2019) از باکتری‌های هتروتروفیک جهت فروشویی گالیم آرسنید (GaAs) و استحصال گالیم استفاده نمودند. جهت بررسی توانایی میکروارگانیزم‌ها در انحلال گالیم هشت سویه باکتریایی از خاک آلوده به کادمیوم و آرسنیک در حضور GaAs جدا شد و دو گونه پس از ۱۵ و ۳۰ روز بالاترین کارایی را در شستشوی گالیم با بازیابی ۶۳-۸۱ درصد نشان دادند. تجزیه و تحلیل توالی‌های ۱۶ rDNA نشان داد که سویه‌های جداسازی شده به گونه *Cellulosimicrobium funkei* (*C. funkei*) بسیار شبیه بوده و جزو این خانواده هستند. پژوهش‌های بیشتر نشان داد که علت فروشویی Ga از GaAs توسط این باکتری حضور اسیدهای آمینه و آنزیم‌های سلولی ناشی از فعالیت باکتری‌ها است. این فرایند در محدوده pH بازی ضعیف رخ می‌دهد (Maneesuwanarat *et al.*, 2016, 2019). از جمله مورد مطالعاتی دیگر که از باکتری‌های هتروتروفیک انجام شده پژوهش لونی و همکاران (Loni *et al.*, 2019) است که بر روی انحلال و اکسیداسیون آنتیمن در استینیت توسط میکروارگانیزم‌های هتروتروفیک در شرایط محیطی انجام شده است. از آنجا که رفتار آرسنیک و آنتیمن شبیه به یکدیگر است، می‌توان این گونه نتیجه‌گیری نمود که این فرایند در صورت حضور آرسنیک نیز اتفاق خواهد افتاد. در این مطالعه، نشان داده شد که یک سویه باکتریایی *Paraccocus versutus* XT0.6 که از معدن آنتیمن Xikuangshan، بزرگ‌ترین ذخایر آنتیمن جهان، جداسازی شد، قادر به انحلال استینیت، اکسیداسیون (III) Sb و تشکیل ماده معدنی ثانویه زیستی (V) Sb است. این سویه می‌تواند (III) Sb محلول را به‌صورت هوازی و بی‌هوازی اکسید کند. این باکتری قادر به حل (III) Sb از کانسنگ جامد است و پیرو آن می‌تواند به‌طور کامل آنتیمن ۳ را به (V) Sb اکسید کند. بخشی از (V) Sb با تشکیل کانی موپونگیت ثانویه [NaSb(OH)<sub>6</sub>] (V) Sb از محلول خارج می‌شود. از طرفی در نمونه‌های کنترلی (فقد باکتری)، (III) Sb حل شده از کانی/سنگ‌ها فقط تا حدی به (V) Sb اکسید شده و هیچ ماده معدنی ثانویه Sb تشکیل نشد. این نتایج نشان داد که فرایندهای میکروبی در انحلال، اکسیداسیون و تبدیل آنتیمن در مواد معدنی/سنگ‌ها تحت شرایط محیطی دخیل هستند و بینش جدیدی را در بیوشیمیایی Sb در مناطق معدنی ارائه می‌دهند (Loni *et al.*, 2019). یکی از مشکلاتی که به‌کارگیری فرایند میکروبی با آن درگیر است، زمان‌بر بودن فرایند و کاهش فعالیت باکتری‌ها به دلیل افزایش درصد جامد (پالپ) می‌باشد. در همین راستا، با اضافه نمودن کاتالیست‌های آلی و معدنی (افزودنی‌ها) به فرایند فروشویی زیستی می‌توان سبب رشد، افزایش فعالیت باکتری‌ها و کارایی انحلال عناصر توسط میکروارگانیزم‌ها به‌ویژه باکتری‌های شیمیولیتوتروف اسیددوست شد. در همین راستا مطالعات زیادی بر روی کانی‌های مختلف انجام شده است و میزان تاثیر این افزودنی‌ها بررسی شده است. اوایاما و همکاران (Oyama *et al.*, 2018) بر روی نقش کاتالیزوری عنصر نقره مطالعه نمودند، در این پژوهش در طی فروشویی زیستی کنسانتره انارژیت با سه باکتری (*Acidimicrobium ferrooxidans* U و یک آرکی *Ferroplasma acidiphilum* Y) به‌منظور روشن شدن سازوکار کاتالیزوری نقره، به محیط یون نقره اضافه گردید. با اضافه نمودن مقدار ۰/۰۴ گرم سولفید نقره، بازیابی

بالای آرسنیک در نمونه‌ها، جهت سازگاری باکتری‌ها، ۰/۱ گرم از نمونه معرف، توزین و در بالن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتر با مقدار مشخصی از محیط کشت 9K (برومند و همکاران، ۱۳۹۴) برای باکتری‌های مزوفیل (۹۰ میلی‌لیتر) و LB برای باکتری‌های هتروتروف در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای به مدت یک هفته گرمادهی گردید. در این مدت رشد باکتری‌ها توسط لام نئوبار و میکروسکوپ بررسی گردید که در مورد باکتری‌های هتروتروفیک بلافاصله بعد از تلقیح (نهایتاً ۲۴ ساعت) به بیشترین میزان رشد رسید (40\*10<sup>7</sup>)، این در حالی است که باکتری‌های شیمیولیتوتروف پس از گذشت ۵ تا ۷ روز شمارش قابل قبولی جهت ادامه مراحل سازگاری از خود نشان دادند (7\*10<sup>7</sup>)، هماهنگ‌سازی و تعدیل (آداپته‌سازی) تا غلظت ۵ گرم در لیتر ادامه داشت.

## ۲-۲- آزمون‌های فروشویی میکروبی

### ۲-۲-۱- تهیه نمونه‌های معرف و مشخصه‌یابی اولیه

نمونه نیکلین کم‌عیار از ۲/۵ کیلومتری شمال باختر روستای پاتنگ (نقشه زمین‌شناسی آهنگران) استان خراسان در خاور ایران و نمونه نیکلین پر عیار از معدن تالمسی در مرکز ایران نمونه‌برداری شد. اندازه نمونه‌ها توسط یک سنگ‌شکن فکی به کمتر از ۷ میلی‌متر کاهش یافت و توسط یک پودر کن به >۷۵ میکرون رسانده شد. اندازه نهایی نمونه کم‌عیار ۴۷ میکرون با 34.1 = d80 میکرون و اندازه نهایی نمونه پر عیار ۳۸ میکرون با 26 = d80 میکرون به دست آمد. نتایج تجزیه و تحلیل ICP-MS در جدول ۱ ارائه شده است. نسبت مولی Ni:As در نمونه کم‌عیار ۱/۲۵ و نمونه پر عیار ۰/۷۵ است.

مس به میزان قابل توجهی افزایش یافت (۹۶ درصد) و انحلال آهن کاهش پیدا کرد (Oyama et al., 2018). در مطالعات دیگر به بررسی تاثیر افزودنی‌هایی چون گرافیت- کربن فعال، مواد آلی و آنزیم‌ها پرداخته شده است (Oyama et al., 2020; Li et al., 2021; Ghobadi et al., 2022; Zhao et al., 2011).

این مقاله به منظور امکان‌سنجی انحلال میکروبی نیکل از کانسنگ آرسنیدی نیکل با استفاده از باکتری‌های مزوفیل و هتروتروف در درصد جامد مختلف برای دو نمونه مختلف (کم و پر عیار) و همچنین بررسی تاثیر کاتالیزوری افزودنی‌های مختلف بر روی نرخ انحلال انجام شد. سینتیک فرایند انحلال میکروبی نیز مورد مطالعه قرار گرفت. هدف این مطالعه تولید دانش فنی برای استخراج نیکل از سنگ معدن آرسنیدی به‌عنوان یک منبع ارزشمند با کمترین هزینه در کوتاه‌ترین زمان است.

## ۲- روش پژوهش

### ۲-۱- جداسازی میکروارگانسیم‌ها

باکتری‌های مزوفیل (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*) مورد استفاده در این پژوهش از بانک میکروبی معدن مس سرچشمه تامین گردید و باکتری‌های هتروتروف (*Bacillus cereus*, *Glutamicibacter nicotianae*, *Bacillus zhanghouensis*) از خاک، پساب و پسماند معدن چغارت جداسازی گردید. جهت جداسازی باکتری‌های هتروتروف، محیط کشت LB حاوی ۱۰ گرم در لیتر کلرید سدیم، ۱۰ گرم در لیتر یست-اکسترکت، ۵ گرم در لیتر تریپتون واتر و pH=۸ استفاده شد. با توجه به غلظت

جدول ۱- نتایج آنالیز عنصری نمونه کم و پر عیار توسط دستگاه ICP-OES.

Table 1. Elemental analysis results of low- and- high grade samples by ICP-OES.

Elements	As (%)	Ca(%)	Co (ppm)	Cu (%)	Fe (%)	Ni (%)	Pb (ppm)	Zn (ppm)	Mg (%)	Na (%)
کم‌عیار	5	14.7	612	-	3.38	4.93	215	186	3.98	0.01>
پر عیار	50	3.83	7728	2.12	0.22	33.4	70.3	1013	0.04	0.04

مدت pH نمونه‌ها برای باکتری‌های شیمیولیتوتروف با اضافه کردن اسیدسولفوریک ۹۸٪ در روزهای ابتدایی به مقدار ثابت ۱/۸ رسید و در طی روند آزمایش با شروع فعالیت باکتری‌های اسیددوست، کاهش نسبتاً قابل قبولی داشت. در طی زمان آزمایش‌ها، pH و ORP محلول‌ها جهت بررسی رشد و فعالیت باکتری به‌صورت روزانه پایش گردید و جهت تعیین درصد استحصال عنصر نیکل برای نمونه‌های کم‌عیار و پر عیار، نمونه‌برداری سیستماتیک انجام شد و در نهایت، جهت آنالیز غلظت نیکل به آزمایشگاه ICP MS فرستاده شد. بازیابی فروشویی زیستی بر اساس معادله ۱ محاسبه شد که در آن C<sub>1</sub> غلظت فلز (گرم در لیتر) در محلول پس از زمان مشخص شده، V حجم (لیتر) محلول، C<sub>0</sub> غلظت فلز موجود در نمونه معرف اولیه (%، M جرم اولیه نمونه نیکلین (گرم) است که به ارلن اضافه می‌شود و R همان بازیابی فروشویی است که به ۱۰۰ تقسیم می‌شود.

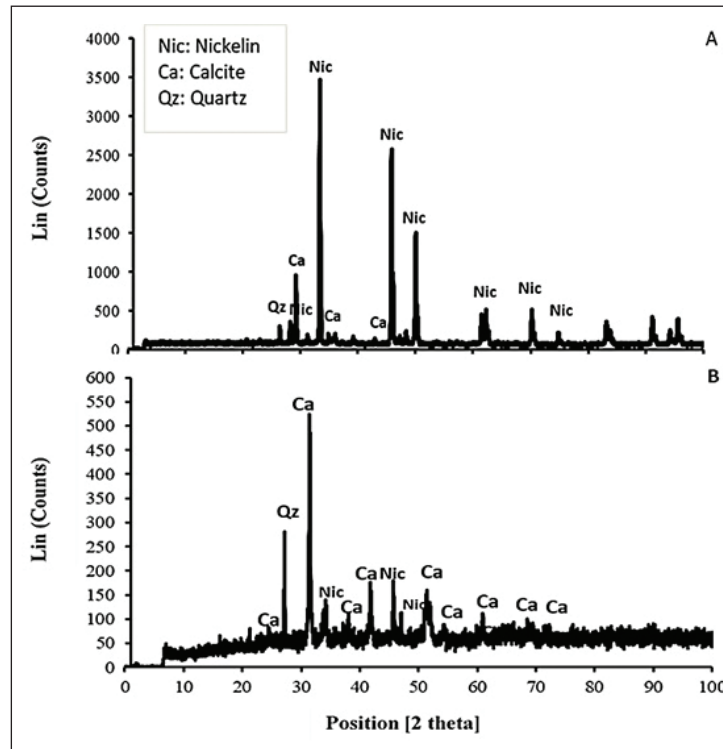
$$R = \frac{C_1 \times V}{C_0 \times M} \times 100$$

معادله شماره ۱

بر طبق آنالیز XRD نمونه خوراک، اصلی‌ترین فازهای تشکیل دهنده نمونه‌های مورد مطالعه شامل کانی‌های نیکلین، کلسیت و کوآرتز است (شکل ۱). در پژوهش حاضر از دستگاه XRD مدل EQUINOX 3000 شرکت Inel استفاده شد. در شکل ۲ نتایج حاصل از آنالیز FE-SEM و آنالیز EDS نمونه‌های مورد مطالعه در دو بزرگ‌نمایی مختلف نشان داده شده است. دستگاه FE-SEM مورد استفاده در این پژوهش دستگاه ZEISS با مدل SIGMA-VP است. همان‌گونه که نشان داده شده است، سطح نمونه‌ها تقریباً صاف و بدون خراشیدگی است و نتایج EDX نیز حضور نیکل و آرسنیک را تایید می‌کند (شکل ۲).

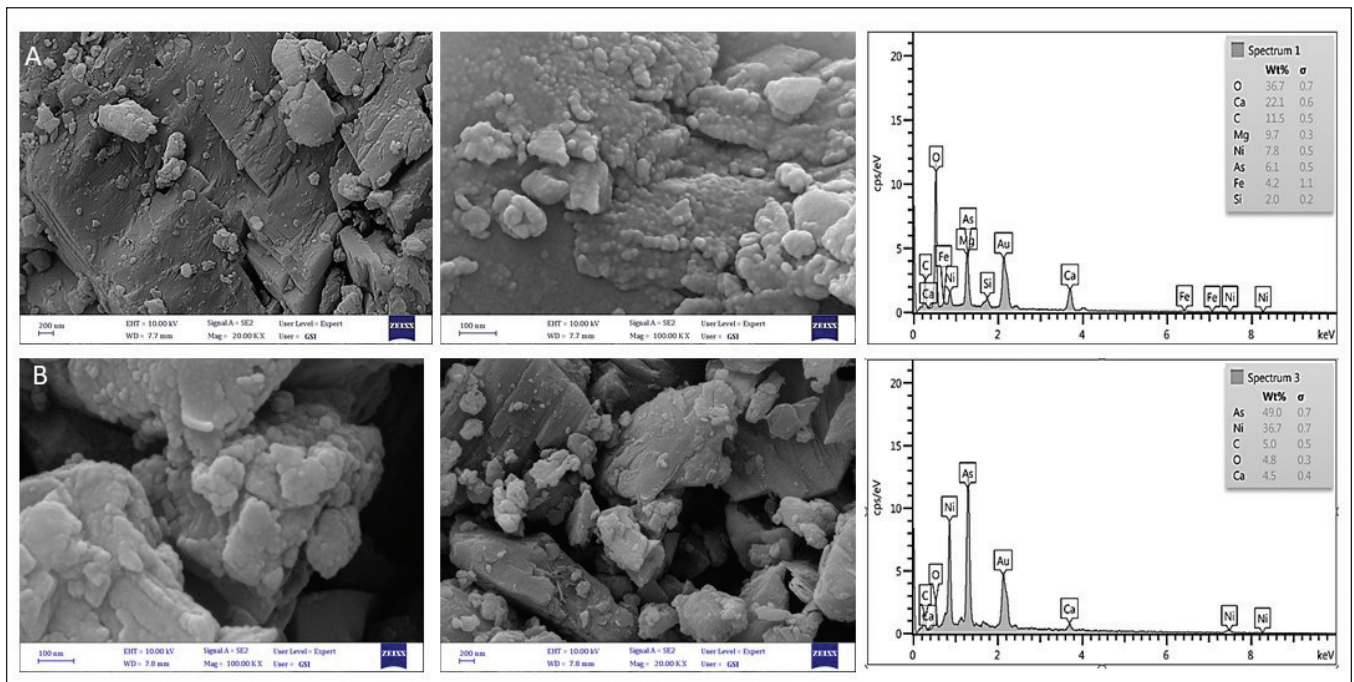
## ۳- داده‌ها و اطلاعات

پس از آماده‌سازی نمونه‌ها جهت بررسی عملکرد باکتری‌ها، تمامی آزمون‌ها (بر اساس جدول‌های ۴ الی ۲) به مدت ۲۷ روز در شیکرانکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای مزوفیل‌ها و دور همزن ۱۵۰ دور بر دقیقه گرمادهی شد و در این



شکل ۱- نتایج آنالیز XRD نمونه کم‌عیار (A) و پرعیار (B).

Figure 1. XRD analysis results of low-grade sample (A) and high-grade sample (B).



شکل ۲- تصویر FE-SEM و آنالیز EDS نمونه‌های کم‌عیار (A) و پرعیار (B).

Figure 2. FE-SEM and EDS analysis of low-grade (A) and high-grade (B) samples.

جدول ۲- آزمون‌های مربوط به باکتری‌های شیمیولیتوتروف (نمونه‌های کم‌عیار: آزمون ۱ الی ۹ - نمونه‌های پرعیار: آزمون‌های ۱۰ الی ۱۸).

Table 2. Tests of chemolithotrophic bacteria (low-grade samples: Tests 1 to 9- high-grade samples: Tests 10-18).

Test number	Culture	Pulp density g/l	Temperature (°C)	Additional Fe and S
Tests 1&10	None	5	35	None
Tests 2&11	None	5	35	Fe <sup>3+</sup>
Tests 3&12	Mesophiles	5	35	None
Tests 4&13	Mesophiles	5	35	Fe <sup>2+</sup> + S <sub>0</sub>
Tests 5&14	Mesophiles	5	35	Fe <sup>2+</sup>
Tests 6&15	Mesophiles	5	35	S <sub>0</sub>
Tests 7&16	Mesophiles	10	35	Fe <sup>2+</sup> + S <sub>0</sub>
Tests 8&17	Mesophiles	50	35	Fe <sup>2+</sup> + S <sub>0</sub>
Tests 9&18	None	5	35	Acid

جدول ۳- آزمون‌های مربوط به باکتری‌های هتروتروفیک.

Table 3. Tests of heterotrophic bacteria.

Test number	Culture	Pulp density (g/L)	Temperature (°C)	Bacterial type	Elements	Ore type
Tests 39-41	LB	5-8-11-30	30	B	Ni-Co-As	Low-grade
Tests 42-45	LB	5-8-11-30	30	B	Ni-Co-Cu-As	High-grade
Test 46	LB	5	30	A	Ni-Co-Cu-As	High-grade
Test 47	LB	5	30	C	Ni-Co-Cu-As	High-grade
Test 48	LB	5	30	Mixed culture	Ni-Co-Cu-As	High-grade
Test 49	LB	5	30	Spent medium	Ni-Co-Cu-As	High-grade
Test 50	LB	5	30	Control	Ni-Co-Cu-As	High-grade

جدول ۴- آزمون‌های بررسی تاثیر افزودنی مختلف (نمونه‌های کم‌عیار: ۱۹ الی ۲۸ و پرعیار: ۲۹ الی ۳۸).

Table 4. Tests examining the effect of various additives (low-grade samples: 19 to 28 and high-grade samples: 29 to 38).

Test number	Culture	Pulp density (g/L)	Temperature (°C)	Bacterial type	Ore type	Additive
Test 19	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	none
Test 20	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	graphite
Test 21	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	pyrite
Test 22	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	L-Cystein
Test 23	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	Ag
Test 24	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	add

ادامه جدول ۴- آزمون‌های بررسی تاثیر افزودنی مختلف (نمونه‌های کم‌عیار: ۱۹ الی ۲۸ و پرعیار: ۲۹ الی ۳۸).

Continued from Table 4. Tests examining the effect of various additives (low-grade samples: 19 to 28 and high-grade samples: 29 to 38).

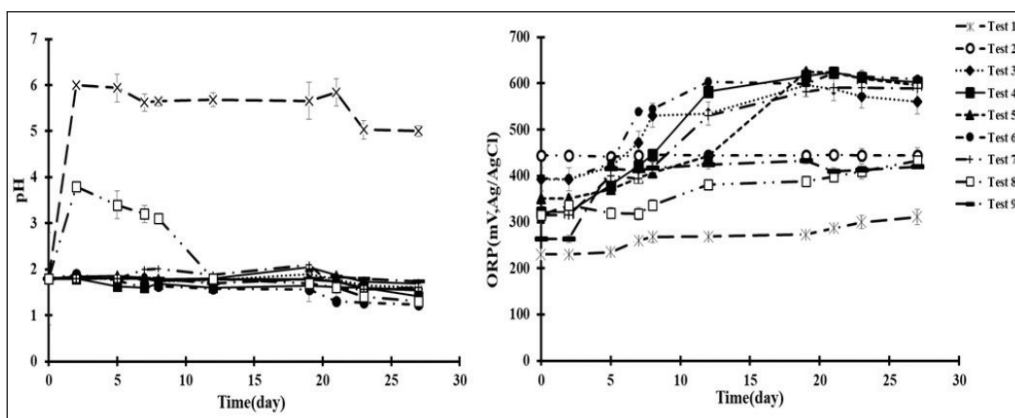
Test number	Culture	Pulp density (g/L)	Temperature (°C)	Bacterial type	Ore type	Additive
Test 25	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	Add-graphite
Test26	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	Add-Pyrite
Test 27	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	Add-Ag
Test 28	9K	50	30	mesophiles	Low-grade	Add-L-cystein
Test 29	9K	50	30	mesophiles	High-grade	none
Test 30	9K	50	30	mesophiles	High-grade	graphite
Test 31	9K	50	30	mesophiles	High-grade	pyrite
Test 32	9K	50	30	mesophiles	High-grade	L-Cystein
Test 33	9K	50	30	mesophiles	High-grade	Ag
Test 34	9K	50	30	mesophiles	High-grade	add
Test 35	9K	50	30	mesophiles	High-grade	Add-graphite
Test 36	9K	50	30	mesophiles	High-grade	Add-Pyrite
Test 37	9K	50	30	mesophiles	High-grade	Add-Ag
Test 38	9K	50	30	mesophiles	High-grade	Add-L-cystein

در محدوده ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی ولت باقی می‌ماند و در مورد نمونه‌های حاوی اسید نهایتاً تا ۴۵۰ میلی ولت افزایش یافته است.

pH در نمونه پرعیار، به دلیل مقدار پایین کانی‌های کربناته کانسنگ، مقدار خیلی جزئی افزایش داشته و پس از تنظیم با اسیدسولفوریک بر روی ۱/۸ ثابت ماند و از روز دوم به بعد روند کاهشی به خود گرفت. دلیل آن فعالیت باکتری‌های اکساینده گوگرد و تولید اسیدسولفوریک در نمونه‌هاست. همان‌گونه که نمایان است، نمونه‌هایی که حاوی باکتری و مواد افزودنی آهن فرو هستند، ORP (میلی ولت، Ag/AgCl) بالاتری نسبت به نمونه‌های شاهد (حدود ۲۵۰ میلی ولت) و اسیدی (۴۵۰ میلی ولت) و فاقد باکتری (حاوی سولفات آهن ۳، ۴۰۰ میلی ولت) دارند. بیشترین مقدار ORP مربوط به نمونه حاوی آهن فرو و گوگرد با مقدار ۶۲۶ میلی ولت می‌باشد (شکل ۴).

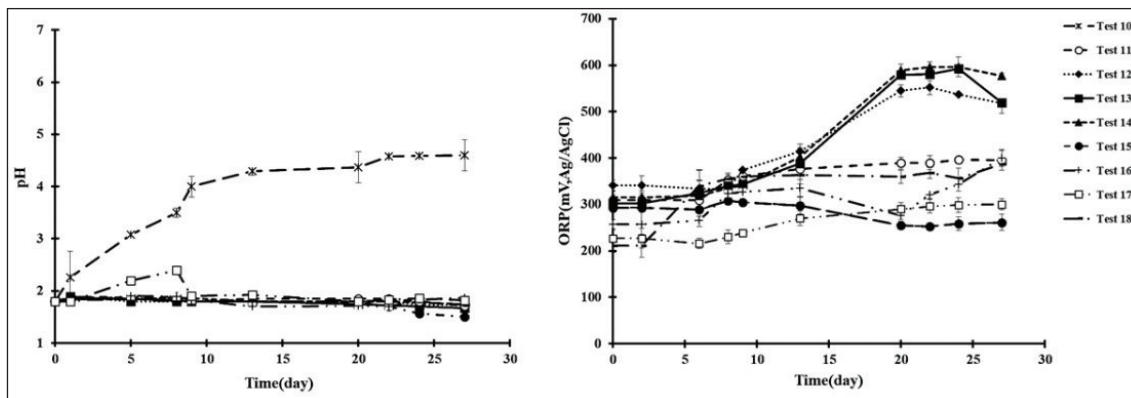
### ۳-۱- بررسی تغییرات pH و ORP

میزان pH محلول در نمونه کم‌عیار در ۲ روز اول پس از تلقیح مخلوط باکتری‌های مزوفیل (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*) و *Leptospirillum ferrooxidans* روندی افزایشی دارد و پس از آن روند تغییرات pH کاهشی است که نشان می‌دهد باکتری‌ها با محیط سازگار شده و شروع به فعالیت کرده و با تولید اسید، pH محیط روند کاهشی به خود گرفته است. علت اصلی افزایش پتانسیل اکسایش و کاهش در فروشویی زیستی، اکسایش یون فرو توسط باکتری‌ها است. همان‌گونه که روند تغییرات پتانسیل اکسایش و کاهش محلول در شکل ۳ نشان داده شده است، در روزهای اولیه پس از رشد باکتری روند افزایشی به خود می‌گیرد و به بالای ۶۰۰ میلی ولت می‌رسد. ORP محلول شاهد (فاقد باکتری)،



شکل ۳- تغییرات pH، ORP نمونه کم‌عیار در طول ۲۷ روز.

Figure 3. Changes in ORP and pH of the low-grade sample over 27 days. Test1: (Control sample), Test2: Fe (III), Test3: Without Fe(II) and S<sup>0</sup>, Test4: With Fe(II) and S<sup>0</sup>, Test5: Fe(II), Test6: S<sup>0</sup>, Test7:10 g/L (S/L), Test8: 5 g/L (S/L).



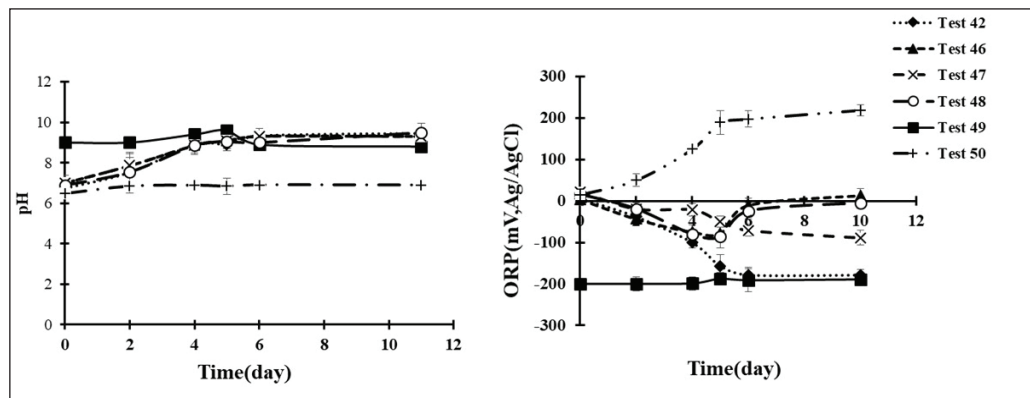
شکل ۴- تغییرات pH، ORP نمونه پر عیار در طول ۲۷ روز.

Figure 4. Changes in ORP and pH of the high-grade sample over 27 days.

Test10: (control sample), Test11:  $Fe_2(SO_4)_3$ , Test12: Without Fe(II) and  $S^0$ , Test13: Fe(II) +  $S^0$ , Test 14: Fe(II), Test15:  $S^0$ , Test16: 10 g/L (S/L), Test17: 5 g/L (S/L), Test18: chemical sample.

مقدارهای مختلف پالپ) افزایش می‌یابد (نمودار ۴-۳۰). در آزمایش‌های تلقیح شده با درصد جامدهای مختلف (۵/۰ و ۸/۰%) پس از ۱۰ روز روند کاهشی با مقدار بیش از ۱۰۰ میلی ولت نشان می‌دهد. انحلال فلزات از نمونه‌ها در بالاترین pH و کمترین ORP اتفاق افتاد (شکل ۵).

در مورد باکتری‌های هتروتروف (*Bacillus cereus*, *Glutamicibacter nicotianae*) در pH و ORP (الکتروود پلاتین با مرجع Ag/AgCl) در نمونه‌های پر و کم‌عیار به صورت روزانه پایش گردید. pH اولیه در روز آغازین آزمون‌ها در حدود ۶/۹ است، در طول آزمایش فروشویی میکروبی pH تا ۹/۷ (در



شکل ۵- تغییرات pH و ORP انحلال میکروبی هتروتروفیک در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نمونه پر عیار در طول ۱۰ روز.

Figure 5. Changes in pH and ORP during heterotrophic microbial dissolution at 35°C in a high-grade sample over 10 days.

Test42: (*Glutamicibacter nicotianae*), Test46: spent medium, Test47: *Bacillus zhangzhouensis*, Test48: *Bacillus cereus*, Test 49: mix of bacteria, Test50: (control sample).

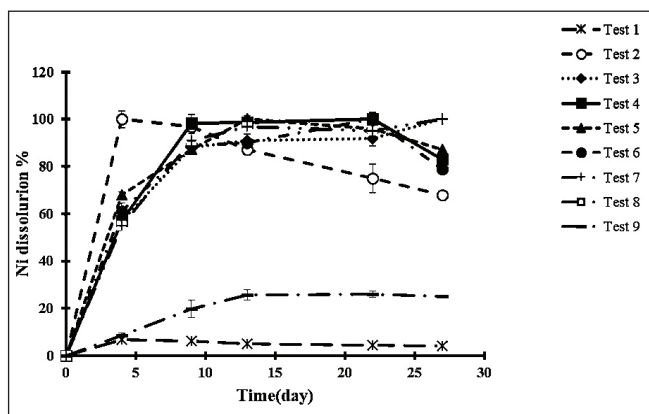
جداگانه بیش از ۹۹ درصد، در مدت زمان کمتر بود. در این آزمون‌ها غلظت سولفات آهن (به‌عنوان منبع آهن دو ظرفیتی) اولیه در محیط ۵۰ گرم در لیتر، درصد جامد برابر ۵ گرم در لیتر و اسیدیته اولیه محیط کشت برابر ۱/۸ و گوگرد اولیه ۱۰ گرم در لیتر برآورد شد. این در حالی بود که میزان بازیابی نیکل در فروشویی اسیدی با  $pH=1/8$  برابر ۲۵/۷۱ درصد و در نمونه شاهد با  $pH=6$  در حدود ۶/۹ درصد به دست آمد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، وجود میکروارگانیسم‌ها میزان بازیابی نیکل را افزایش

۲-۳- بازیابی نیکل با باکتری‌های مزوفیل (*Acidithiobacillus ferrooxidans*)

(*Acidithiobacillus thiooxidans*., *Leptosprillum ferrooxidans*)

جهت بررسی میزان انحلال میکروبی عنصر نیکل به صورت سیستماتیک در طول مدت آزمایش نمونه‌برداری انجام شد و برای آنالیز به آزمایشگاه ICP MS فرستاده شد. بر اساس نتایج آنالیزهای شیمیایی محلول باردار (PLS) حاصل از عملیات فروشویی زیستی، بازیابی نیکل در آزمون‌های با حضور آهن و گوگرد به‌صورت همزمان و

زیستی بود. این در حالی بود که میزان بازیابی نیکل در نمونه اسیدی با  $pH = 1/8$  برابر ۴۶ درصد و در نمونه شاهد با  $pH = 4/5$  میزان بازیابی در حدود ۱۰/۳ درصد به دست آمد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، وجود میکروارگانیزم‌ها میزان بازیابی نیکل را افزایش داده‌اند. در نمونه‌ای با درصد جامد بیشتر با مقدار ۱۰ و ۳۰ گرم برلیتر به دلیل غلظت بالای آرسنیک و سایر عناصر، کمترین میزان بازیابی را داشته و در روزهای پایانی در نهایت به ۹۵ و ۴۰ درصد رسید. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت افزایش درصد جامد نمونه‌ها نیاز به زمان بیشتری جهت انحلال کامل دارد، در حالی که افزودن آهن و گوگرد و اسیدیته سبب افزایش بازیابی نیکل خواهد شد (شکل ۷).



شکل ۷- میزان بازیابی عنصر نیکل از نیکلین پر عیار طی ۲۷ روز.

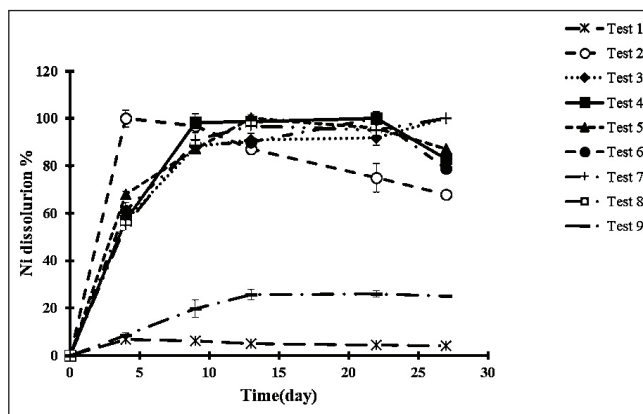
Figure 7. Recovery of nickel from high-grade nickel over 27-days. Test10: (control sample), Test11:  $Fe_2(SO_4)_3$ , Test12: Without Fe(II) and  $S^0$ , Test13: Fe(II)+  $S^0$ , Test 14: Fe(II), Test15:  $S^0$ , Test16: 10 g/L(S/L), Test17: 5 g/L(S/L), Test18: chemical sample.

نمونه با حضور آهن و گوگرد، نیز سه افزودنی (پیریت، نقره و آل سیستین) بیشترین تاثیر را داشته اما حضور آهن و گوگرد نه تنها مفید نبوده بلکه بازیابی را به زیر ۹۰ درصد کاهش داده است. این امر می‌تواند به دلیل غلظت بالایی عناصر در محیط و تاثیر منفی آن بر عملکرد باکتری‌ها باشد.

### ۳-۴- بازیابی نیکل با باکتری‌های هتروتروف

سه گونه *Glutamicibacter* و *Bacillus cereus*, *Bacillus zhanghouensis* و *nicotianae* از پسماند و پساب معدن چغارت جداسازی شد که از بین این سه گونه تنها گونه *Glutamicibacter nicotianae* توانایی فروشویی از خود نشان داد و دو گونه دیگر در بهترین شرایط تنها بازدهی ۱۶ درصدی در استحصال نیکل از خود نشان دادند. نتایج فروشویی زیستی نیکلین توسط گونه *Glutamicibacter nicotianae* از نمونه‌های کم و پر عیار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در درصد جامدهای مختلف در شکل ۱۰ نشان داده شده است. بازدهی انحلال نیکل در آزمایش نمونه کم‌عیار برای درصد جامدهای ۰/۵، ۰/۸ و ۱/۱ % به ۱۰۰ درصد و برای درصد جامد بالاتر (۳ %) در تیمار ۲۱ روزه به ۶۸ درصد رسید. زمان بیهینه برای دستیابی به این بیشینه بازیابی ۲۱ روز از شروع آزمایش‌ها بود. بازدهی نیکل در نمونه پر عیار برای درصد جامدهای ۰/۵، ۰/۸، ۱/۱ و ۳% به ترتیب به ۴۲، ۵۴، ۷۰ و ۲۸ درصد در روز ۲۱ رسید. این نتایج نشان‌دهنده توانایی این دسته از میکروارگانیزم‌ها با هزینه و مخاطرات زیست‌محیطی کمتر نسبت به باکتری‌های شیمیولیتوتروف است.

داده است. کمترین میزان بازیابی نیکل مربوط به فلاسک حاوی درصد جامد ۵ گرم برلیتر با اسیدیته ۱/۸ بدون حضور آهن و گوگرد بود. بازیابی در این حالت برابر ۹۳ درصد اندازه‌گیری شد. در نمونه با درصد جامد ۱۰ گرم برلیتر میزان بازیابی در مدت طولانی‌تر به ۱۰۰ درصد رسید. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت با افزایش درصد جامد نیاز به زمان بیشتری جهت انحلال کامل هست و همچنین افزودن آهن و گوگرد سبب افزایش بازیابی نیکل خواهد شد. شکل ۶ میزان بازیابی را در ۹ آزمون انجام‌شده نمایش می‌دهد. در نمونه‌های پر عیار، بازیابی نیکل در آزمون‌های با حضور آهن و گوگرد به‌صورت همزمان و جداگانه بیش از ۹۹ درصد در روز پایانی فروشویی

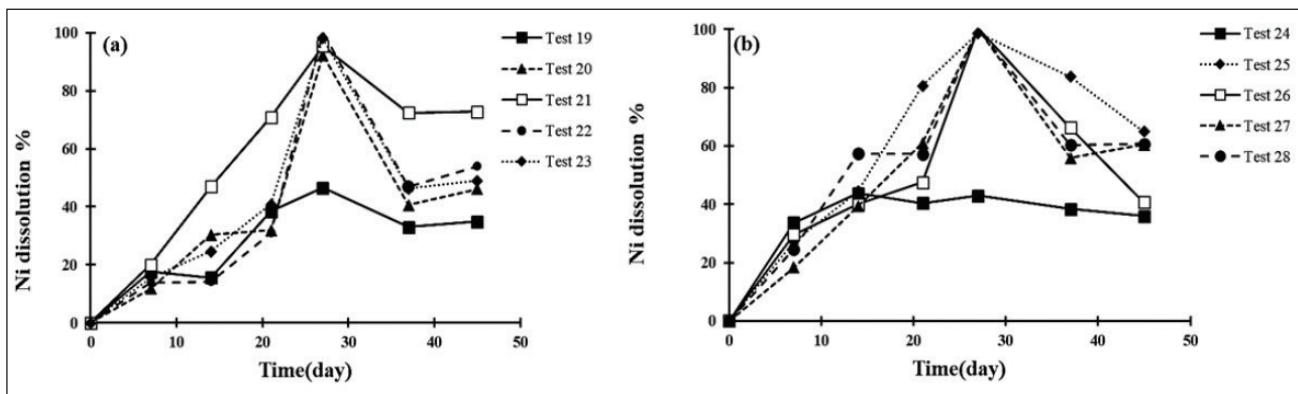


شکل ۶- میزان بازیابی عنصر نیکل از نمونه نیکلین کم‌عیار طی ۲۷ روز.

Figure 6. Recovery of nickel from low-grade nickel over 27-days. Test1: (Control sample), Test2: Fe(III), Test3: Without Fe(II) and  $S^0$ , Test4: With Fe(II) and  $S^0$ , Test5: Fe(II), Test6:  $S^0$ , Test7: 10 g/L(S/L), Test8: 5 g/L(S/L).

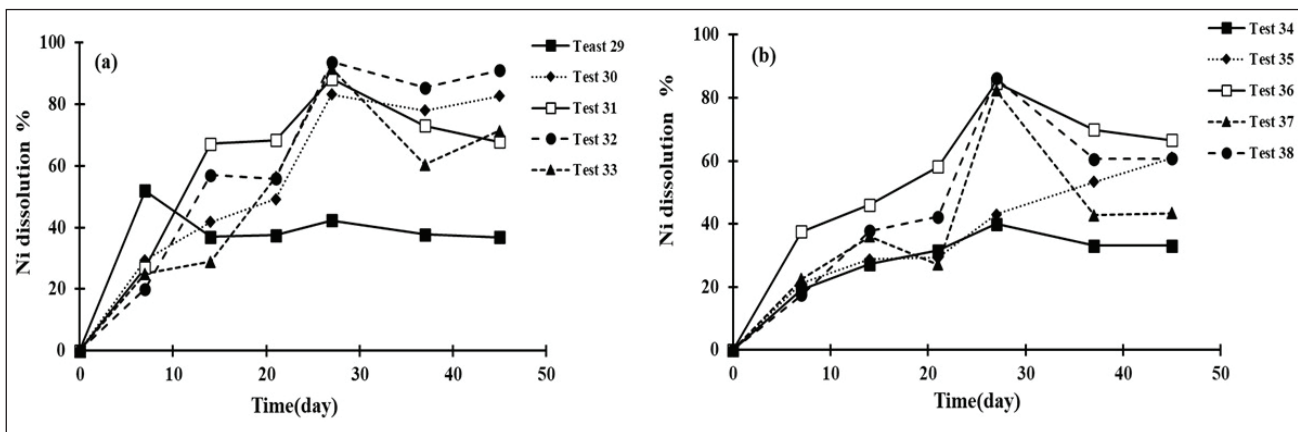
### ۳-۳- بررسی تاثیر مواد افزودنی‌های گرافیت- نقره و آل سیستین بر عملکرد باکتری‌های مزوفیل

در این پژوهش به ازای درصد جامد ۵۰ گرم برلیتر از نمونه کم‌عیار مقدار مشخصی از پیریت (۰/۷۵ گرم برلیتر)، گرافیت (۰/۸ گرم برلیتر)، آل سیستین (۰/۴۸ گرم برلیتر) و نترات نقره (۰/۰۵۰۴ گرم برلیتر) به محیط اضافه گردید. با توجه به این که افزایش درصد جامد از ۵ گرم برلیتر به ۵۰ گرم برلیتر سبب کاهش فعالیت میکروارگانیزم‌ها و بازیابی عناصر گردید، با افزودن این مواد و ایجاد اثر کاتالیزوری و تعامل گالوانیک احتمالی بین محیط، کانی‌ها و میکروارگانیزم‌ها می‌توان باعث ارتقای بازیابی فروشویی زیستی شد. در این قسمت از پژوهش، دو فاز متفاوت از نمونه‌های کم‌عیار مورد مطالعه قرار گرفت به‌گونه‌ای که به یک‌سری از نمونه‌ها افزون بر افزودنی‌های یاد شده (پیریت- نقره، آل سیستین و گرافیت) مقدار مشخصی از آهن فرو و گوگرد (۴۵ گرم برلیتر سولفات آهن فرو و ۱۰ گرم برلیتر گوگرد) نیز اضافه شد (شکل ۸). مشابه این آزمایش برای نمونه پر عیار نیز تکرار گردید (شکل ۹). همان‌گونه که از شکل‌های ۸ مشخص است، هر چهار افزودنی در هر دو نمونه کم‌عیار با حضور آهن و گوگرد و بدون آن کارایی مثبتی در انحلال از خود نشان دادند. به‌طوری که در روز ۲۸ میزان انحلال به بیش از ۹۰ درصد می‌رسد. در مورد نمونه پرعیار، همان‌گونه که از شکل ۹ مشخص است، سه افزودنی از چهار افزودنی (نقره، پیریت و آل سیستین) در نمونه کم‌عیار بدون حضور آهن و گوگرد کارایی مثبتی در انحلال نیکل داشته‌اند و توانستند بازیابی را به بالای ۹۰ درصد پس از گذشت ۲۸ روز ارتقا دهند، در مورد



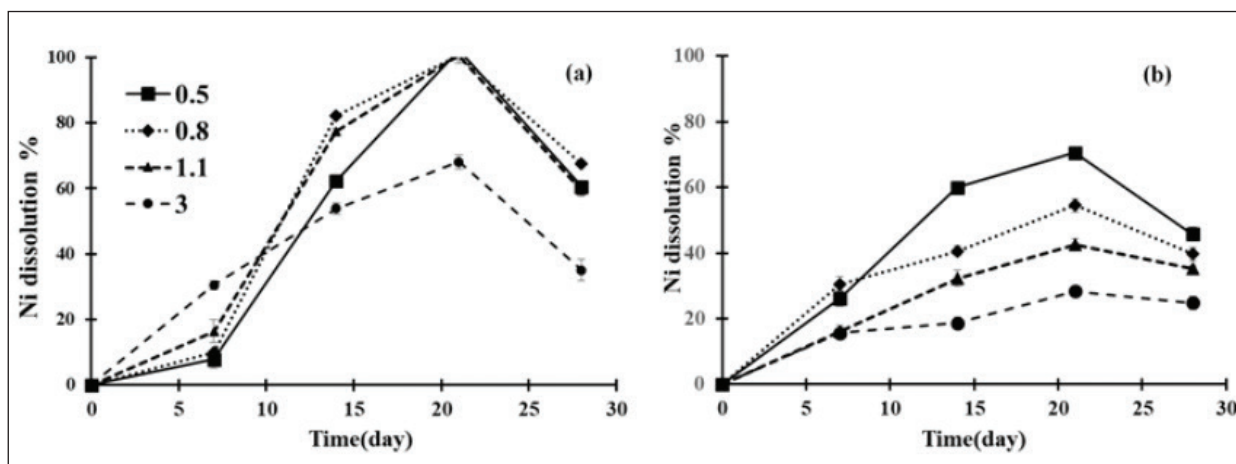
شکل ۸- بررسی تاثیر افزودنی‌های مختلف بر استحصال عنصر نیکل از نمونه کم‌عیار نیکلین طی دوره ۴۵ روزه؛ (a) انحلال نیکل بدون حضور آهن و گوگرد؛ (b) انحلال نیکل با حضور آهن و گوگرد.

Figure 8. Investigation the effect of different additives on the extraction of nickel from low-grade nickel during over 45 days; a) Dissolution of nickel without the presence of iron and sulfur; b) dissolution of nickel with the presence of iron and sulfur.



شکل ۹- بررسی تاثیر افزودنی‌های مختلف بر استحصال عنصر نیکل از نمونه پرعیار نیکلین طی دوره ۴۵ روزه؛ (a) انحلال نیکل بدون حضور آهن و گوگرد؛ (b) انحلال نیکل با حضور آهن و گوگرد.

Figure 9. Investigation the effect of different additives on the extraction of nickel from high-grade nickel during over 45 days; a) Dissolution of nickel without the presence of iron and sulfur; b) dissolution of nickel with the presence of iron and sulfur.



شکل ۱۰- میزان بازیابی نیکل توسط باکتری *Glutamicibacter nicotianae* در درصد جامدهای مختلف، (a) نمونه کم‌عیار؛ (b) نمونه پرعیار.

Figure 10. nickel recovery by *Glutamicibacter nicotianae* bacteria at different solid levels, a) low-grade and; b) high-grade samples.

**۳-۵- حذف آرسنیک توسط باکتری‌ها در حین فروشویی زیستی**

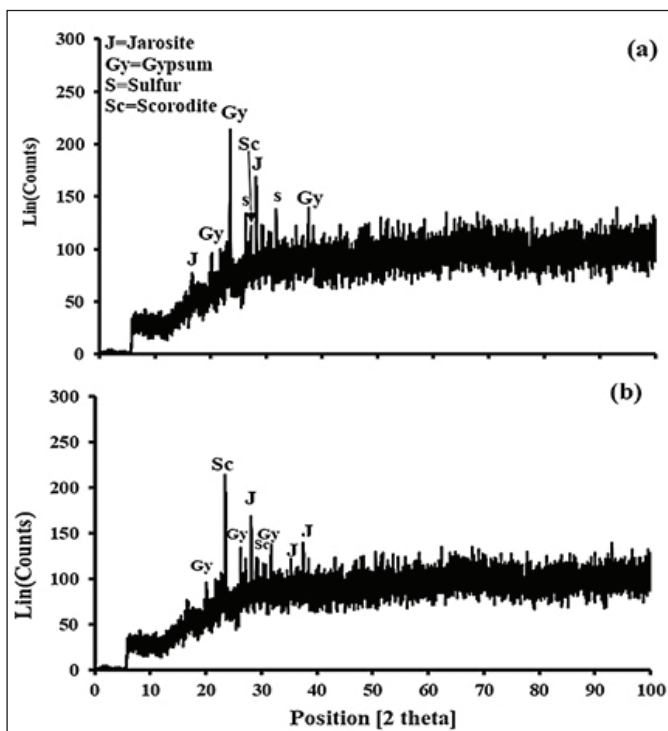
آرسنیک یک‌شبه فلز سمی است که در خاک‌ها و سنگ‌های سرتاسر جهان فراوانی دارد. آرسنیک دارای چهار حالت اکسیداسیون (۳-، ۰، ۳+، ۵+) است و در شکل‌های آلی و معدنی وجود دارد. متداول‌ترین کانی‌های حاوی آرسنیک عبارت‌اند از: نیکلین، آرسنوپیریت (FeAsS)، رآلگار، انارژیت، کبالتیت (CoAsS)، تنانتیت و اریمنت است. سمیت آرسنیک با آسیب شدید به سلامت انسان همراه است و می‌تواند سبب اختلالاتی مانند آرسنیکوز، ورم ملتحمه، هیپرکراتوز، گانگرن و نئوپلاسم‌های بدخیم و سرطان کبد، ریه، مثانه، کلیه، پروستات و پوست شود. زیست‌پالایی یک رویکرد بی‌خطر و مقرون‌به‌صرفه برای حذف آرسنیک از مناطق آلوده است. میکروارگانسیم‌های مورد استفاده به‌ویژه باکتری‌های شیمیولیتوتروف با تولید کانی زیستی ثانویه و رسوب آن، آرسنیک از محیط خارج و حذف می‌شود. یکی از کانی‌های ثانویه‌ای که در طی فرایند فروشویی زیستی توسط میکروارگانسیم‌ها تولید و رسوب می‌کند، کانی اسکورودیت (FeAsO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O) است که به نسبت آهن و آرسنیک و همچنین pH محلول بستگی دارد. اوتگن و همکاران (Otgton et al., 2019) حذف آرسنیک از فرایند هیدرومتالورژی را بررسی کرد. نتایج تجربی نشان داد که آرسنیک را می‌توان از محلولی با غلظت ۵ گرم در لیتر به‌عنوان رسوب اسکورودیت کریستالی از طریق اکسیدکننده یون‌های آهن تحت سیستم هوادهی در pH=2 حذف کرد (Otgton et al., 2019). تشکیل اسکورودیت در فرایند فروشویی در سال ۲۰۱۹ توسط کی و لیو (Ke and Liu., 2019) مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس این مطالعات، تازمانی که نسبت مولی Fe/As ۱:۱ باشد، در شرایط اسید pH=2 اسکورودیت تشکیل می‌شود و در صورت تغییر این نسبت، پوششی از اکسیدهای آهن (هیدرو) حاوی سولفات در سطح ذرات یافت می‌شود (Ke and Liu, 2019). با ایجاد شرایط لازم برای محیط حاوی آرسنیک، می‌توان این عنصر سمی را به‌صورت اسکورودیت سازگار با محیط به‌راحتی از محیط خارج کرد.

لی و همکاران (Li et al., 2020) موفق شدند ۹۸ درصد از آرسنیک را از پساب‌های اسیدی حاوی آرسنیک از فرایند ذوب مس با افزودن مقدار مشخصی آهن حذف کنند (Li et al., 2020).

در مطالعه دیگری، لی و همکاران (Li et al., 2021) استفاده از لیمونیت را به‌عنوان منبع آهن جامد در محل برای افزایش تبلور اسکورودیت از طریق هسته‌زایی ناهمگن برای حذف موثر آرسنیک از پساب ذوب با آرسنیک بالا پیشنهاد کردند (Li et al., 2021). دایان و همکاران (Daoyan et al., 2022) راه‌حلی مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط‌زیست برای اکسیداسیون و رسوب همزمان آرسنیک و همچنین تشکیل اسکورودیت با افزودن سولفات آهن به‌عنوان منبع آهن در دمای بالا (۱۷۰ درجه سانتی‌گراد) و اکسیژن تحت‌فشار پیشنهاد کردند. در این مطالعه با توجه به شواهد موجود در نتایج آنالیز XRD، کانی اسکورودیت توانست تشکیل شود و نشان داد که نسبت مولی آهن به آرسنیک و pH محیط و همچنین مقدار اکسیژن برای تشکیل این ماده کافی است. تنها ایراد این روش این است که با رسوب اسکورودیت مقداری نیکل توسط آن به دام افتاده و رسوب می‌کند.

**۳-۶- نتایج XRD و آنالیز SEM و EDAX بعد از فروشویی زیستی**

ساختار بلورشناختی نمونه‌ها با آنالیز XRD تعیین شد. باقیمانده‌های حاصل از فروشویی زیستی آزمون‌های ۴ و ۲۲ باکتری‌های مزوفیل با درصد جامد ۵٪ برای نمونه‌های کم و پرعیار برای بررسی توسط آنالیز XRD انتخاب شدند. همان‌گونه که در شکل ۱۱ نشان داده شده است، در جامدات باقیمانده، کانی نیکلین تشخیص داده نشد. رسوب آهن فریک، سولفات و کاتیون‌های تک‌ظرفیتی در طی عملیات انحلال زیستی باعث پیدایش جاروسیت و اسکورودیت شده است. عدم شناسایی پیک‌های گوگردی در پسماند نمونه‌ها نشان می‌دهد که انحلال زیستی باکتری‌های مزوفیل نمونه‌های پرعیار عمدتاً اجازه رسوب گوگرد را با تشکیل SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> نمی‌دهند.

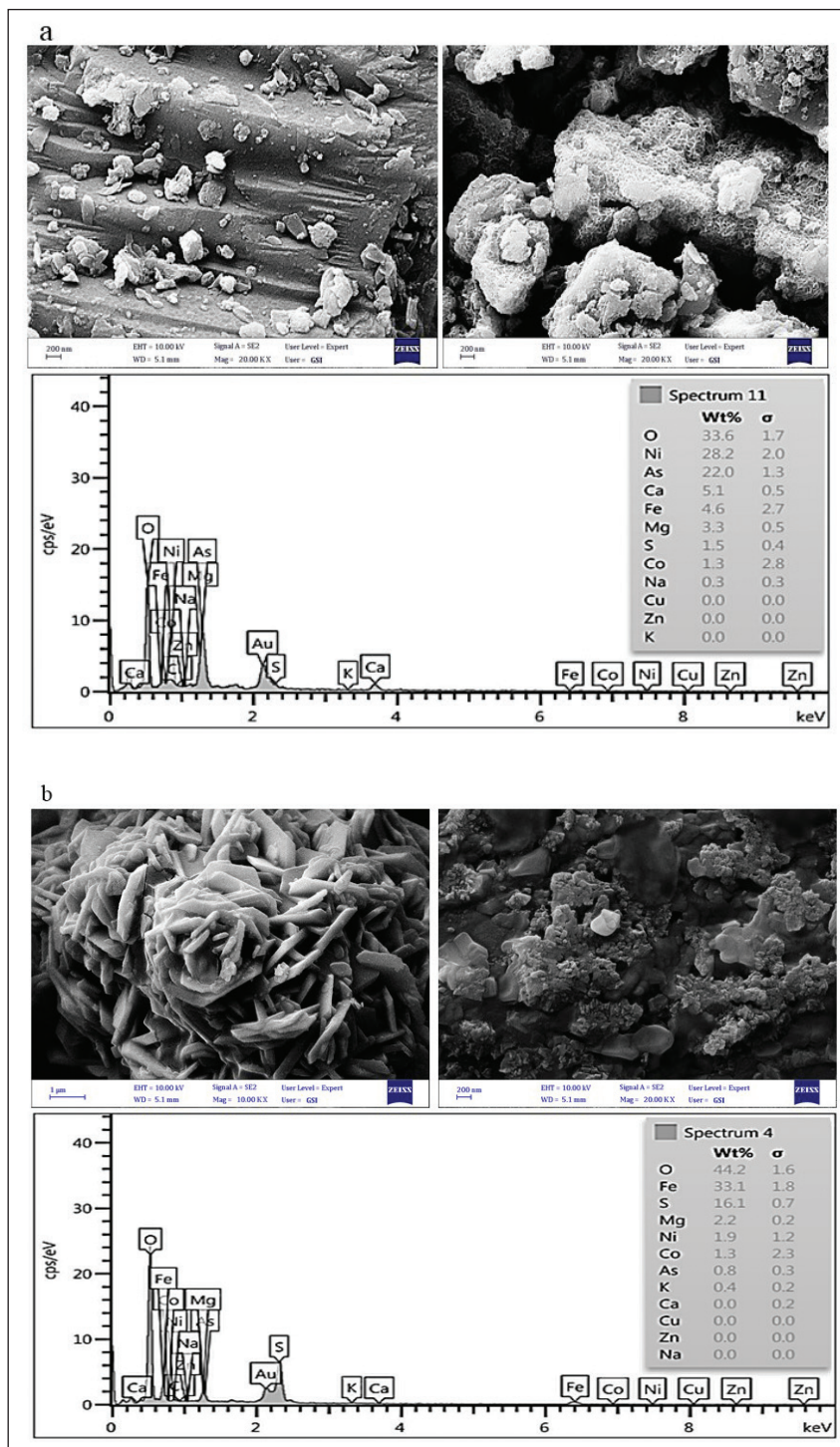


شکل ۱۱- نتایج آنالیز XRD پسماند نمونه‌های نیکلین پس از فروشویی زیستی: (a) نمونه کم‌عیار، (b) نمونه پرعیار. J: Jarosite, Gy: Gypsum, S: Sulfur, Sc: Scorodite.

Figure 11. XRD Analysis Results of Nickelin residue after Bioleaching: a) low-grade Sample, b) high-grade Sample. Identified Phases: J: Jarosite, Gy: Gypsum, S: Sulfur, Sc: Scorodite.

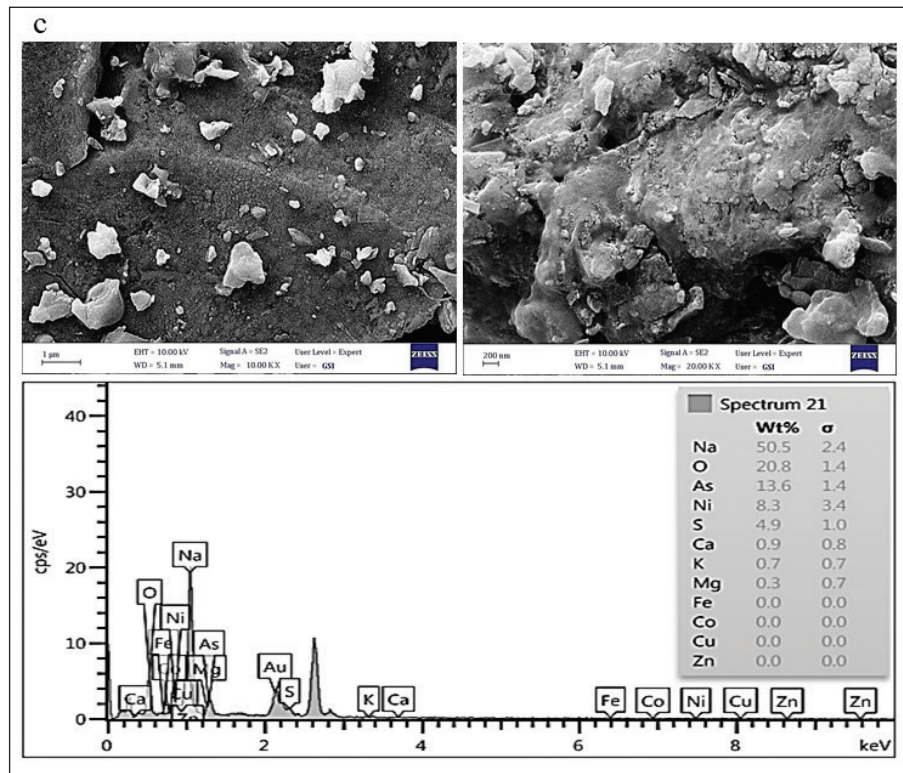
نشان داد که مقدار نیکل در آزمایش شاهد (کنترلی)، برخلاف انحلال زیستی، بسیار نزدیک به نیکل اصلی بوده و مقدار کمی از این عنصر در طول مدت شسته شده است. داده‌ها همچنین حضور گوگرد را در پسماند فروشویی زیستی مزوفیل در نمونه کم‌عیار نشان می‌دهد این در حالی است که میزان گوگرد نمونه پرعیار بسیار کمتر از نمونه کم‌عیار است و این می‌تواند به دو دلیل (۱) عملکرد خوب باکتری‌ها در تبدیل گوگرد عنصری به یون سولفات، (۲) مقدار سولفید کمتر کانی نیکلین در نمونه پرعیار باشد.

نتایج میکروگراف SEM پسماند نمونه‌های نیکلین پس از ۱۴ روز تیمار با باکتری‌های مزوفیل در شکل ۱۲ نشان داده شده است. تفاوت ظاهر سطحی نمونه‌ها بعد از فروشویی زیستی بسیار آشکار است. همان‌گونه که مشخص است، سطح تقریباً صاف نمونه‌ها پس از فرایند فروشویی زیستی تخریب و خراشیده شد. افزون بر این، داده‌های EDX برای پسماند نمونه‌های کنترلی و انحلال زیستی در نمونه کم و پرعیار نیز در شکل ۱۲ نشان داده شده است. با تجزیه و تحلیل مقدار عنصر نیکل در پسماند،



شکل ۱۲- میکروگراف‌های SEM و آنالیز EDAX نمونه‌های نیکلین پس از فروشویی زیستی: (a) نمونه کنترلی، (b) نمونه کم‌عیار؛

Figure 12. SEM Micrographs and EDAX Analysis of nickelin samples after bioleaching: a) control sample, b) low-grade sample,



ادامه شکل ۱۲- میکروگراف‌های SEM و آنالیز EDAX نمونه‌های نیکلین پس از فروشویی زیستی (C) نمونه پر عیار بعد از تیمار ۱۴ روزه (مزوفیل).

Continued from Figure 12. SEM Micrographs and EDAX Analysis of nickelin samples after bioleaching: c) high-grade sample after 14-day treatment (mesophile)."

#### ۴- بحث

انحلال زیستی نمونه کم‌عیار با باکتری مزوفیل، بالاترین بازدهی انحلال را پس از ۱۴ روز از خود نشان داد. در مورد نمونه پرعیار پس از ۱۳ به بالاترین بازدهی رسید. باکتری‌های مزوفیل در انحلال زیستی نیکل به‌ویژه برای نمونه پر عیار، کارآمد عمل نمودند. اضافه نمودن  $Fe^{2+}$  و  $S^0$  به‌عنوان مواد مغذی نقشی در افزایش بازدهی از خود نشان نداد.

از بین ۳ گونه باکتری هتروتروف کارآمدترین باکتری *Glutamicibacter nicotianae* تشخیص داده شد. که بالاترین بازدهی در انحلال نیکل برای نمونه کم‌عیار، در حدود ۹۹ درصد بود، درحالی‌که بازیابی نیکل در نمونه‌های پرعیار نهایتاً به ۷۰ درصد رسید که نشان می‌دهد باکتری‌ها در نمونه‌هایی با غلظت بالای آرسنیک نمی‌توانند چندان کارا عمل کنند.

جهت مطالعه تاثیر افزودنی‌های مختلف بر روند انحلال زیستی، چهار افزودنی پیریت، گرافیت، ال-سیستین و نترات نقره استفاده شد، که هر چهار افزودنی در نمونه کم‌عیار عملکرد مثبتی از خود نشان داد و در مورد پرعیار تقریباً سه افزودنی نقره، پیریت و ال سیستین بهترین عملکرد را داشتند.

#### ۵- نتیجه‌گیری

انحلال میکروبی نیکل از نمونه‌های نیکلین‌دار با عیار پایین و عیار بالا به‌طور دقیق مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که کلسیت و کوارتز و نیکلین اصلی‌ترین کانی‌های نمونه‌های مورد مطالعه هستند. با توجه به این‌که در نمونه پر عیار کانی‌های ارسنیدی نسبت به کربناته بیشتر هستند، نیازی به انحلال اسیدی نیست و در نمونه‌های

کم‌عیار نیز دولومیت کانی اصلی را تشکیل می‌دهد که انحلال‌پذیری آن نسبت به کلسیت بسیار کمتر بوده و در روزهای ابتدایی حالت افزایشی آن به‌راحتی توسط میکروارگانسیم‌ها کنترل می‌شود. بررسی اولیه بر روی انحلال نمونه‌ها نشان داد که حضور میکروارگانسیم‌ها جهت انحلال کانی نیکلین لازم و ضروری است و انحلال شیمیایی به‌تنهایی جهت استحصال عناصر از کانسنگ کارایی ندارد. فروشویی زیستی نمونه با عیار پایین با باکتری مزوفیل در درصد جامد ۰/۵٪، بالاترین بازیابی نیکل را با بیش از ۹۹ درصد پس از ۱۴ روز داشت، انحلال زیستی نمونه پرعیار با باکتری‌های مزوفیل با درصد جامد ۰/۵٪، پس از ۱۴ روز بازدهی نیکل، با ۹۳ درصد را داشت و پس از ۲۸ روزه بازدهی بیش از ۹۹ درصد رسید. اضافه نمودن  $Fe^{2+}$  و  $S^0$  به‌عنوان مواد مغذی مدت زمان رسیدن به بالاترین بازیابی را کاهش می‌دهد. در شستشوی زیستی نمونه کم‌عیار، لایه گوگرد در بقایای جامد تشخیص داده شد، درحالی‌که در نمونه با عیار بالا این لایه تشخیص داده نشد. انحلال کامل گوگرد به سولفات در نمونه پر عیار نشان می‌دهد که باکتری‌های اکسیده‌کننده سولفات مزوفیل نسبتاً موفق‌تر در تبدیل گوگرد عنصری به سولفات عمل کرده‌اند. به دلیل نسبت مولی مناسب آهن به آرسنیک و از آنجایی‌که pH محیط و مقدار اکسیژن جهت تشکیل، کانی‌های زیستی ثانویه اسکورودیت و جاروسیت مناسب بود، این کانی‌ها توسط آنالیز XRD تشخیص داده شد و با رسوب اسکورودیت و جاروسیت عناصر نیکل به دام افتاده و رسوب داده شد به همین دلیل نمودارها پس از گذشت ۲۲ روز روند کاهشی به خود گرفته است. سه گونه باکتری هتروتروف از پساب معدن آهن و باطله برای آزمون‌های فروشویی زیستی جداسازی شد. از بین سه گونه، *Bacillus cereus*

توانستند بازیابی را به بالای ۹۰ درصد پس از گذشت ۲۸ روز برسانند، در مورد نمونه با حضور آهن و گوگرد، نیز سه افزودنی (پیریت، نقره و L-Cysteine) بیشترین تاثیر را داشته اما حضور آهن و گوگرد نه تنها مفید نبوده بلکه بازیابی را به زیر ۹۰ درصد کاهش داده است. این امر می‌تواند به دلیل غلظت بالایی عناصر در محیط و تاثیر منفی آن بر عملکرد باکتری‌ها باشد. با مقایسه دو گونه باکتریایی می‌توان به جرات گفت باکتری‌های اسیددوست کارایی بسیار بالایی به‌ویژه در انحلال نیکل در نمونه پرعیار داشته‌اند و همچنین از نظر زمانی نیز باکتری‌های شیمیولیتوتروف بهینه‌تر عمل نموده و در مدت‌زمان کمتری به بالاترین بازدهی رسیده‌اند؛ و از بین افزودنی‌ها می‌توان پیریت را برای باکتری‌های مزوفیل به سبب ارزان و در دسترس بودن، بهترین گزینه معرفی نمود.

### سپاسگزاری

نگارندگان از کارشناسان و کارکنان اداره نانوبیوزمین و مدیر مرکز پژوهش‌های کاربردی سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور به سبب همکاری صمیمانه قدردانی می‌نمایند.

کارآمدترین باکتری *Glutamicibacter nicotianae* تشخیص داده شد. پس از ۲۱ روز تیمار، نمونه کم‌عیار با درصد جامد ۰/۵ تا ۱/۱٪ دارای بالاترین بازدهی در انحلال نیکل، در حدود ۹۹ درصد بود، درحالی‌که بازیابی نیکل در نمونه‌های پرعیار با درصد جامد ۰/۵٪ در نهایت به ۷۰ درصد رسید که نشان می‌دهد باکتری‌ها در نمونه‌هایی با غلظت بالای آرسنیک نمی‌توانند چندان کارا عمل کنند. در این پژوهش جهت بررسی اثر کاتالیزوری و تعامل گالوانیکی افزودنی‌های مختلف بر روی انحلال نمونه‌ها، موردبررسی قرار گرفت به‌طوری‌که به ازای درصد جامد ۵۰ گرم برلیتر از نمونه کم و پرعیار مقدار مشخصی از پیریت (۰/۷۵ گرم برلیتر)، گرافیت (۰/۸ گرم برلیتر)، L-ال سیستین (۰/۴۸ گرم برلیتر) و نترات نقره (۰/۵۰۴ گرم برلیتر) به محیط اضافه گردید. در نمونه کم‌عیار، در مورد عنصر نیکل هر چهار افزودنی در هر دو نمونه کم‌عیار با حضور آهن و گوگرد و بدون حضور آهن و گوگرد، کارایی مثبتی در انحلال از خود نشان دادند. به‌طوری‌که در روز ۲۸ میزان انحلال به بیش از ۹۰ درصد می‌رسد. عنصر نیکل در نمونه پرعیار، با هر سه افزودنی از چهار افزودنی (نقره- پیریت و ال سیستین) بدون حضور آهن و گوگرد کارایی مثبتی داشته‌اند و

### کتابنگاری

برومند، ز.، قصاب، س.، مرادیان، م.، عبدالمهی، ه.، فتح‌آبادی، غ. ر.، فخرمقدم، ک.، ۱۳۹۴، فروشویی میکروبی کانسنگ معدن سرب و روی انگوران به‌وسیله باکتری‌های مزوفیل بومی مخلوط اسیددوست جداسازی شده از خاک و پساب، فصلنامه علمی علوم زمین، ۲۵ (۹۷)، ص. ۳-۱۰. <https://doi.org/10.22071/gsj.2015.41347>.

### References

- Abdollahi, H., Saneie, R., Shafaei, S.Z., Mirmohammadi, M., Mohammadzadeh, A. and Tuovinen, O.H., 2021. Bioleaching of cobalt from magnetite-rich cobaltite-bearing ore. *Hydrometallurgy*, 204, p.105727. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2021.105727>.
- Boroumand, Z., Ghassa, S., Moradian, M., and Abdollahi, H., 2016. Bioleaching of Zinc and Lead from Anguran Ore by Indigenous Mixed Local Culture of Mesophilic Acidophilic Bacteria., *Scientific Quarterly Journal of Geosciences.*, 25 (97), p. 3-10., <https://doi.org/10.22071/gsj.2015.41347>. (In Persian).
- Bosecker, K., 1986. Leaching of lateritic nickel ores with heterotrophic microorganisms. Fundamental and applied biohydrometallurgy. Proceedings of the sixth international symposium on biohydrometallurgy Vancouver, BC, Canada, August 21-24.
- Crundwell, F., Moats, M., Ramachandran, V., Robinson, T., and William, G., 2011. Davenport, Extractive Metallurgy of Nickel, Cobalt and Platinum Group Metals, Elsevier, Page iii, ISBN 9780080968094, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096809-4.10039-5>.
- Cui, X., Gu, Q., Liu, X. Wen, J., Lu, A., Ding, H., Yang, F., Shang, H. Wu, B., Zhang, M., Wang, X., 2018. Contact-bioleaching mechanism of Ni and Co from sulfide concentrate at neutral pH by heterotrophic bacteria, *Minerals and Metallurgical Processing*, 2018, Vol. 35, No. 4, pp. 221-229. <https://doi.org/10.19150/mmp.8599>.
- Daoyan, J., Zhiyong, L., and Zhihong, L., 2022. Oxidation of As(III) by pressurized oxygen and the simultaneous precipitation of As (V) as scorodite in acidic sulfate solutions. *Chemical Engineering Journal*, 447, p.137395.
- Escobar, B., Huenupi, E., Godoy, I., and Wiertz, J. V., 2000. Arsenic precipitation in the bioleaching of enargite by *Sulfolobus* BC at 70 C. *Biotechnology Letters*, 22, 205-209.
- Blengini, G. A., Latunussa, C. E., Eynard, U., de Matos, C. T., Wittmer, D., Georgitzikis, K., Pavel, C., Carrara, S., Mancini, L., Unguru, M., Blagoeva, D., Mathieux, F., Pennington, D., 2020. European Commission, Study on the EU's list of Critical Raw Materials, Factsheets on Non-critical Raw Materials. Final Report.

- Ghobadi, S., Mehrabani, J. V., and Panda, S., 2022. Catalytic Effect of Graphite Promoting Zn Dissolution from Sphalerite using a *Leptospirillum ferrooxidans* Dominated Mixed Culture. *Geomicrobiology Journal*, 39(3-5), 199-209. <https://doi.org/10.1080/01490451.2021.1964112>.
- Giebner, F., Laura, K., Wiche, O., Tischler, J. S., Schopf, S., and Schlömann, M., 2018. Bio-leaching of cobalt from arsenic ore. *Minerals Engineering*, Volume 131, 73-78, ISSN 0892-6875. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.10.020>.
- Hallberg, K.B., Johnson, D.B., 2001. Biodiversity of acidophilic prokaryotes. *Adv. Appl. Microbiol*, 49, 37–84.30. DOI: 10.1016/s0065-2164(01)49009-5.
- Johnson, D. B., Dybowska, A., Schofield, P. F., Herrington, R. J., Smith, S. L., and Santos, A. L., 2020. Bioleaching of arsenic-rich cobalt mineral resources, and evidence for concurrent biomineralisation of scorodite during oxidative bio-processing of skutterudite. *Hydrometallurgy*, 195, 105395.
- Johnson, D.B., and Roberto, F.F., 1997. Heterotrophic acidophiles and their roles in the bioleaching of sulfide minerals. In *Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes*; Rawlings, D.E., Ed. Springer-Verlag: Berlin, Germany, pp. 259–279.35.
- Johnson, D.B., Hallberg, K.B., 2009. Carbon, iron (II) and sulfur metabolism in acidophilic micro-organisms. *Adv. Microb. Physiol.*, 54, 201–255.
- Ke, P. C., and Liu, Z.H., 2019. Synthesis, in-situ coating, and characterization of scorodite with high leaching stability. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, Volume 29, Issue 4, 876-892, ISSN 1003-6326. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(19\)64998-8](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(19)64998-8).
- Li, Q., Shen, H., Xu, R., Zhang, Y., Yang, Y., Xu, B., Jiang, T., and Yin, H., 2020. Effect of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* on preg-robbing of gold by graphite from thiourea leaching solution. *Journal of Cleaner Production*, 261, p.121122.
- Li, X., Cai, G., Li, Y., Zhu, X., Qi, X., Zhang, X., Shu, B., Li, K., Wei, Y., and Wang, H., 2021. Limonite as a source of solid iron (II) in the crystallization of scorodite aiming at arsenic removal from smelting wastewater, *Journal of Cleaner Production*, Volume 278, 123552, ISSN 0959-6526. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123552>.
- Li, Y. Zhu, X., Qi, X., Shu, B., Zhang, X., Li, K., Wei, Y., Hao, F., and Wang, H., 2020. Efficient removal of arsenic from copper smelting wastewater in form of scorodite using copper slag. *Journal of Cleaner Production*, Volume 270, 122428, ISSN 0959-6526. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122428>.
- Loni, P. C., Wu, M., Wang, W., Wang, H., Ma, L., Liu, C., Song, Y., and H. Tuovinen., O., 2019. Mechanism of microbial dissolution and oxidation of antimony in stibnite under ambient conditions, *Journal of Hazardous Materials*, V. 385, 2020, 121561, ISSN 0304-3894, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121561> PMID: 31740307.
- Maneesuwanarat, S., Kudpeng, K., Yingchutrakul, Y., Roytrakul, S., Vangnai, A. S., Yamashita, M., and Thiravetyan, P., 2019. A possible protein model involved in gallium arsenide leaching by *Cellulosimicrobium funkei*. *Minerals Engineering*, 137(9), 207-216. DOI:10.1016/j.mineng.2019.04.002.
- Maneesuwanarat, S., Vangnai, A. S., Yamashita, M., and Thiravetyan, P., 2016. Bioleaching of gallium from gallium arsenide by *Cellulosimicrobium funkei* and its application to semiconductor/electronic wastes. *Process Safety and Environmental Protection*, 99, 80-87. DOI:10.1016/j.psep.2015.10.008.
- Norris, P.R., 1997. Thermophiles and bioleaching. In *Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes*; Rawlings, D.E., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Germany, 1997; pp. 247–258.29.
- Otgon, N., Zhang, G. J., Zhang, K. L., and Yang, C., 2019. Removal and fixation of arsenic by forming a complex precipitate containing scorodite and ferrihydrite. *Hydrometallurgy*, V. 186, 58-65, ISSN 0304-386X. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2019.03.012>.
- Oyama, K., Shimada, K., Ishibashi, J. I., Miki, H., and Okibe, N., 2018. Silver-catalyzed bioleaching of enargite concentrate using moderately thermophilic microorganisms. *Hydrometallurgy*, 177, 197-204. doi:10.1016/j.hydromet.2018.03.014.
- Oyama, K., Kyohei T., Kaito H., Yuji A., Shigeto K., Tsuyoshi H., and Naoko O., 2021. Carbon-Assisted Bioleaching of Chalcopyrite and Three Chalcopyrite/Enargite-Bearing Complex Concentrates *Minerals* 11, no. 4: 432. <https://doi.org/10.3390/min11040432>.

- Rawlings, D. E., 1997. Mesophilic autotrophic bioleaching bacteria: Description, physiology and role. In *Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes*; Rawlings, D.E., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Germany, 1997; pp. 229–245.28.
- Tzeferis, P.G., 1994. Leaching of a low-grade hematitic laterite ore using fungi and biologically produced acid metabolites. *Int. J. Miner. Process.* 1994, 42, 267–283.
- Valix, M., Usai, F., and Malik, R., 2001. Fungal bio-leaching of low-grade laterite ores. *Miner. Eng.* 2001,14, 197–203.
- Watling, H.R., 2006. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides—A review. *Hydrometallurgy* 2006, 84, 81–108.
- Watling, H.R., Shiers, D. W, and Collinson, D. M., 2015. Extremophiles in Mineral Sulphide Heaps: Some Bacterial Responses to Variable Temperature, Acidity and Solution Composition. *Microorganisms*. 2015 Jul 9;3(3):364-90. doi: 10.3390/microorganisms3030364. PMID: 27682094; PMCID: PMC5023253.
- Zhao, J. C., Liang, W. J., Hu, Y. H., and Qiu, G. Z., 2011. Effect of L-cysteine on bioleaching of Ni-Cu sulphide by *A. manzaensis*. *Journal of Central South University*, 18(2), 381-385.