

حذف ناخالصی آهن از کاتولن معدن رضاآباد دامغان با استفاده از *Aspergillus niger*

سید محمد رئوف حسینی^۱، محمد پازوکی^{۲*}، محمد رنجبر^۳

۱- کارشناس ارشد فراوری مواد معدنی

۲- استادیار، عضو هیات علمی پژوهشکده انرژی، پژوهشگاه مواد و انرژی، مشکین دشت، کرج

۳- دانشیار، عضو هیات علمی بخش مهندسی معدن، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

تاریخ پذیرش: ۸۷/۵/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۱۶

چکیده

کاتولن یک کانی رسی است که به علت داشتن یک سری خصوصیات ویژه، دارای استفاده‌های گسترده صنعتی است. یکی از ویژگی‌های مهم این ماده، رنگ سفید آن است. ذخایر گسترده‌ای از کاتولن در کشور وجود دارد که متأسفانه به دلیل دارا بودن اکسیدهای آهن از شفافیت مناسبی برخوردار نیستند. در این تحقیق از روش انحلال زیستی اکسیدهای آهن توسط *Aspergillus niger* NCIM۵۴۸ برای حذف ناخالصی موجود در کاتولن استفاده شد و در پایان مدلی برای پیش‌بینی درصد حذف آهن توسط این سویه ارائه شد. فروشویی با استفاده از این سویه در بهترین حالت منجر به حذف ۲/۲ درصد از کل آهن موجود شد. نتایج به دست آمده برای ادامه مطالعات امیدوارکننده بوده و در صورت بررسی عملکرد سویه‌هایی دیگر از این قارچ و ایجاد شرایط بهینه، در تحقیقات آتی امکان افزایش حذف آهن وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: کاتولن، اکسید آهن، فروشویی زیستی، *Aspergillus niger*

۱- مقدمه

چینی کاربرد دارد [۲۰]. متأسفانه حضور اکسی- هیدروکسیدهای آهن در این کانی باعث کاهش سفیدی و شفافیت آن شده و آن را در صنایع اشاره شده غیر قابل استفاده می‌سازد. مطالعات آزمایشگاهی و مشاهدات میدانی نشان داده‌اند که میکروب‌ها می‌توانند با تولید اسیدهای آلی و معدنی، ایجاد لیگاندهای کمپلکس دهنده با فلزات [۲]، احیای مستقیم $Fe(III)$ و تولید ناقلین الکترون، آهن موجود در کانی‌های رسی را استخراج و حذف کنند.

در این تحقیق، حذف آهن از کاتولن توسط قارچ *NCIM 548 Aspergillus niger* با استفاده از روش طراحی آزمایش مورد مطالعه قرار گرفته است. قارچ‌ها می‌توانند با ترشح اسیدهای آلی (اسید اگزالیک، سیتریک و گلوکونیک)، آمینو اسیدها و دیگر متابولیت‌ها به داخل محیط کشت خود، آهن موجود در رس را به صورت کمپلکس محلول از آن خارج کنند.

امروزه استفاده از فروشویی میکروبی به منظور استخراج فلزات و حذف ناخالصی‌های فلزی، به دلیل سادگی عملیات، پایین بودن هزینه سرمایه‌گذاری و انرژی و عاری بودن از آلودگی‌های زیست‌محیطی گسترش یافته است. همچنین استفاده از روش‌های زیستی و به کار گرفتن میکروارگانیزم‌ها به عنوان یک روش جدید و جایگزینی مناسب برای روش‌های شیمیایی در حذف ناخالصی آهن از کاتولن به حساب می‌آید [۱].

کاتولن یک کانی رسی مهم از نظر صنعتی و اقتصادی است که به عنوان ماده خام در ساخت سرامیک‌های بهداشتی، الکتریکی، کف و دیوار و همچنین در تولید کاغذ و ظروف

*- نویسنده مکاتبه کننده

Email : mpazouki@merc.ac.ir

شد. غلظت آهن درون فلاسک‌ها نیز به همین روش [۴] اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری مقدار قند موجود در محیط کشت، نمونه مورد نظر پس از رقیق‌سازی هیدرولیز و با استفاده از روش نلسون [۵] و سوموگای [۶] آنالیز شد. برای اندازه‌گیری زیست‌توده، در انتهای آزمایش‌ها فاز جامد درون فلاسک‌ها جدا شده و تفاوت وزن آن پس از خشک کردن در دمای 120°C و پس از سوزاندن زیست‌توده در دمای 170°C محاسبه شد.

۲-۶ طراحی آزمایش‌ها

طراحی آزمایش‌ها با استفاده از یک طرح فاکتوریل کامل [۷] و با دو متغیر در دو سطح انجام شد. متغیرها عبارت بودند از: چگالی پالپ و روز افزودن خاک به محیط کشت.

۳-۳ ارائه و تحلیل نتایج

از آنجا که آهن قابل حذف به صورت اکسیدها و هیدروکسیدهای چسبیده به سطح ذرات بوده و توسط فروشویی با اسید هیدروکلریدریک قابل انحلال است، میزان آهن قابل انحلال از طریق فروشویی به همین روش محاسبه شد و برابر با کل آهن موجود در نمونه بود که قبلاً توسط آنالیز XRF اعلام شده بود.

در این مطالعه توانایی قارچ *A. niger NCIM548* در انحلال آهن از کائولن بررسی شد. نتایج آزمایش‌های انجام شده به مدت یک ماه در جدول ۱ آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، آزمایش‌هایی که خاک در شروع آزمایش به کشت اضافه شده است نتیجه بهتری را به دست داده‌اند، به طوری که در آزمایش اول که چگالی پالپ 2.0 g/l بود، غلظت آهن محلول به $34/63\text{ ppm}$ و میزان حذف آهن به $2/2\%$ رسید. غلظت بالاتر آهن، $82/73\text{ ppm}$ ، در آزمایش ۲ به علت بیشتر بودن مقدار خاک اضافه شده به کشت است (6 g). علت این است که در فلاسک‌هایی که خاک در شروع آزمایش به آنها اضافه گردیده است، میکروارگانیسم به تدریج با محیط کشت حاوی کائولن سازگار شده است، اما در فلاسک‌های دیگر، میکروارگانیسم به علت رشد در محیط عاری از رس، با تغییر ناگهانی شرایط محیط کشت در روز سوم (اضافه کردن کائولن) تا مدتی ناسازگار است.

۲- مواد و روش کار

۲-۱- میکروارگانیسم

سویه مورد استفاده در این آزمایش‌ها، *NCIM 548 Aspergillus niger* بود که از طرف انستیتو تکنولوژی هند - مدرس هدیه شد.

۲-۲- نمونه کائولن

نمونه کائولن توسط شرکت مهرخاک و از ذخیره‌ای واقع در منطقه دامغان استان سمنان تامین گردید. این ذخیره به علت دارا بودن مقادیر زیاد ناخالصی اکسید آهن ($11\% \text{Fe}_2\text{O}_3$) از نظر صنعتی غیر قابل استفاده است.

۲-۳- محیط کشت

برای رشد و نگهداری میکروارگانیسم‌ها از محیط جامد حاوی 3.0 kg/m^3 عصاره مالت، 3 kg/m^3 پیتون گوشت، و 15 kg/m^3 آگار در $\text{pH} = 5/6$ استفاده شد. برای کشت میکروارگانیسم‌ها از محیط کشت ترکیبی [۳] حاوی (گرم در لیتر): ساکارز، 120 ؛ NH_4NO_3 ، $0/45$ ؛ KH_2PO_4 ، $0/1$ ؛ $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$ ، $0/3$ ؛ $\text{FeSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$ ، 10^{-4} و $\text{ZnSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$ ، 25×10^{-5} استفاده شد.

۲-۴- آزمایش‌های فروشویی زیستی

سویه‌های قارچ از یک اسلنت آگار ۷ روزه به محلولی حاوی $0/1\%$ Tween 80 و $0/9\%$ NaCl منتقل شده و پس از شمارش در زیر میکروسکوپ، بخشی از آن به محیط کشت درون فلاسک‌ها اضافه شد طوری که غلظت اسپور در آنها به 10^6 spores/ml رسید. مقادیر ۲ و ۶ گرم از کائولن در شروع و در روز سوم آزمایش به فلاسک‌ها افزوده شد. آزمایش‌های فروشویی زیستی در فلاسک‌های 300 میلی‌لیتری که حاوی 100 میلی‌لیتر محیط کشت بود، با دوبار تکرار انجام شد.

۲-۵- روش‌های اندازه‌گیری

برای اندازه‌گیری آهن قابل جدایش توسط فرایند فروشویی، نمونه کائولن، ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در HCl RN حرارت داده و هم زده شد [۱]. سپس، میزان آهن موجود در محلول با استفاده از روش 1,10-phenanthroline [۴] اندازه‌گیری

بوده و محصول عملیات فروشویی زیستی از نظر استفاده در صنعت از کیفیت مناسبی برخوردار نیست. در ستون آخر جدول ۱، همچنین درصد مصرف قند توسط قارچ در مدت یک ماه فروشویی آورده شده است.

همان طور که در شکل ۲ ملاحظه می شود، pH محیط کشت در طول مدت آزمایش به تدریج کاهش یافته است. علت این مساله تولید اسیدهای آلی در اثر متابولیسم قارچ است. این اسیدها عبارتند از استات، سترات، اگزالات [۲] و گلوکونات [۳]. برای آهن، اگزالیک اسید پنج برابر موثرتر از اسید سیتریک است [۱۱]. این اسید می تواند با کمپلکس کردن و احیای آهن، آن را از رس خارج کند. این فرایند از طریق حمله مستقیم یونهای H^+ و تشکیل کمپلکس محلول $[Fe(C_2O_4)_3]^{3-}$ با نسبت اگزالات به آهن یک به سه است [۳]. بنابراین، سرعت کمتر انحلال آهن در روزهای اول آزمایش، احتمالاً به علت کم بودن اسیدیته محیط است. در روزهای بعد با کاهش pH محیط، سرعت انحلال افزایش یافته است.

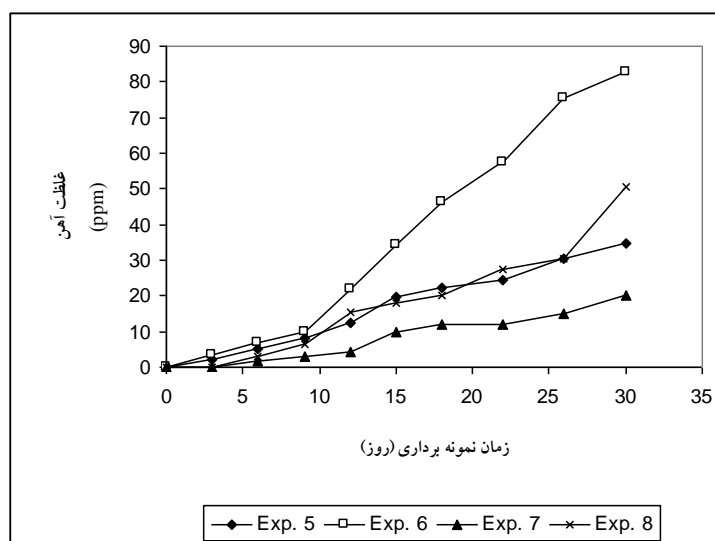
همچنین، با مراجعه به جدول ۱ مشاهده می شود، آزمایش هایی که خاک کمتری به آنها اضافه شده (چگالی پالپ 20 g/l) درصد حذف آهن بالاتر است. علت این پدیده، خاصیت چسبندگی ذرات رس و تجمع آنها و در نتیجه کاهش سطح تماس ذرات با اسیدهای ترشح شده به محیط کشت است.

افزایش تدریجی غلظت آهن برای تمام آزمایش ها در شکل ۱ مشاهده می شود. شیب بالای نمودار افزایش غلظت آهن مربوط به آزمایش دوم، نشان دهنده سرعت بالاتر انحلال آهن، $4/3 \text{ g/l-day}$ ، در این حالت است، که علت آن افزایش چگالی پالپ در اثر افزایش مقدار خاک است. افزایش چگالی پالپ، با ثابت فرض کردن دانه بندی و ابعاد ذرات باعث افزایش سطح تماس بین فاز جامد و میکروارگانیسم شده و سرعت انحلال را افزایش می دهد [۸].

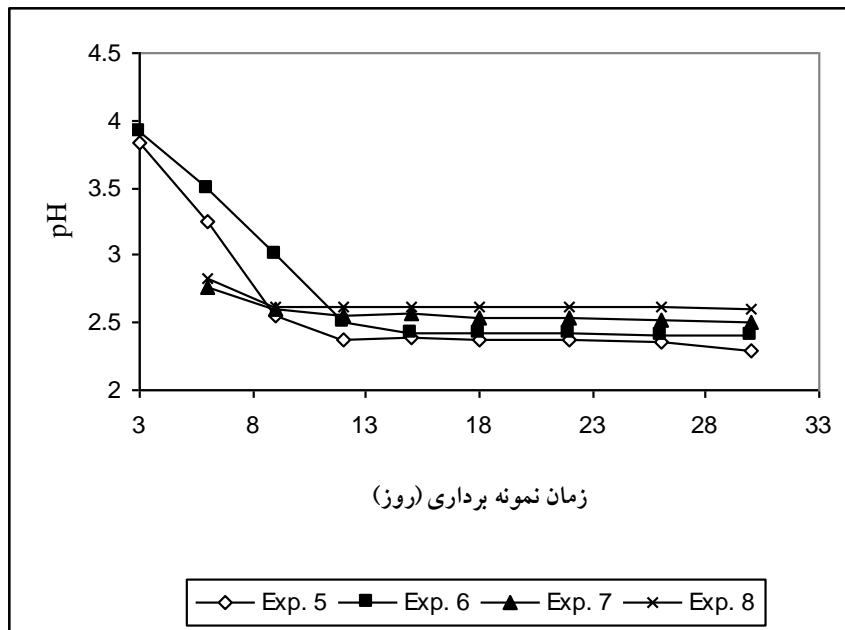
متاسفانه میزان حذف آهن توسط این سویه در مقایسه با روشهای مرسوم آهن زدایی مانند CBD [۹] یا استفاده از اسیدهای آلی [۱۰] یا سویه هایی دیگر از همین قارچ [۳] که حذف آهن در آنها بین ۷۰ تا ۱۰۰ درصد است، بسیار پایین

جدول ۱- شرایط آزمایش ها و نتایج فروشویی با استفاده از *A. niger* NCIM ۵۴۸

شماره آزمایش	چگالی پالپ (g/l)	روز افزودن خاک	غلظت آهن محلول (ppm)	درصد حذف آهن	مصرف قند (%)
۱	۲۰	اول (۰)	۳۴/۶۳	۲/۲	۴۷
۲	۶۰	اول	۸۲/۷۳	۱/۸	۴۳
۳	۲۰	سوم (۳)	۲۰/۰۴	۱/۳	۳۸
۴	۶۰	سوم	۵۰/۳۷	۱/۱	۳۸



شکل ۱- افزایش غلظت آهن در طول یک ماه



شکل ۲ - تغییر pH محیط کشت با زمان

جدول ۲ - نتایج آنالیز واریانس

متغیر	مجموع مربعات	درجه آزادی	متوسط مربعات	آماره F	Prob > F
مدل	۱/۶۰	۳	۰/۵۳	۲۰/۳۷	۰/۰۰۶۹
A	۰/۲۱	۱	۰/۲۱	۸/۰۵	۰/۰۴۷۰
B	۱/۳۶	۱	۱/۳۶	۵۱/۸۶	۰/۰۰۲۰
AB	۰/۰۳۱	۱	۰/۰۳۱	۱/۱۹	۰/۳۳۶۶
خطای خالص	۰/۱۰	۴	۰/۰۲۶	-	-
کل	۱/۷۱	۷	-	-	-

جدول ۳ - ضرایب هر متغیر و محدوده اطمینان آنها

متغیر	ضریب	درجه آزادی	خطای استاندارد	۹۵٪ CI پایین	۹۵٪ CI بالا	VIF
عرض از مبدا	۱/۶۱	۱	۰/۰۵۷	۱/۴۵	۱/۷۷	-
مقدار خاک A	-۰/۱۶	۱	۰/۰۵۷	-۰/۳۲	-۳/۴۵۹E-۰۰۳	۱/۰۰
روز افزودن خاک B	-۰/۴۱	۱	۰/۰۵۷	-۰/۵۷	-۰/۲۵	۱/۰۰
AB	۰/۰۶۲	۱	۰/۰۵۷	-۰/۰۹۷	۰/۲۲	۱/۰۰

پیشنهاد گردید. در جدول ۲ نتایج آنالیز واریانس داده‌ها مشاهده می‌شود. در این جدول، چگالی پالپ با حرف A و زمان افزودن خاک به محیط کشت با حرف B نشان داده شده است. همچنین، بیانگر تاثیر متقابل دو پارامتر A و B است. میزان حذف آهن نیز با IR نشان داده شده است. مقدار آماره F مدل، ۲۰/۳۷، بیانگر معنی‌دار بودن مدل ارائه شده

پس از اتمام آزمایش‌ها، مقدار زیست توده تولید شده اندازه‌گیری شد که برای آزمایش‌های ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۲۲ گرم و برای آزمایش‌های ۳ و ۴، ۰/۱۵ و ۰/۱۱ گرم بود. در نهایت، به منظور پیش‌بینی درصد حذف آهن از کاتولن توسط *A. niger NCIM ۵۴۸*، داده‌های حاصل توسط نرم-افزار *Design Expert [۷]* تحلیل شده و یک مدل ریاضی

شکل ۳ نیز تاثیر متقابل هر دو پارامتر را نشان می‌دهد. در این شکل، خطوط به حالت موازی شبیه هستند که از کم اهمیت بودن تاثیر متقابل A و B حکایت می‌کند.

معادله انحلال آهن توسط *A. niger NCIM548* از کائولن بر حسب متغیرهای کد شده با استفاده از جدول ۳، (سطح بالا +۱، سطح پایین -۱) به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$IR = + 0.16 - 0.16A - 0.41B + 0.62 * A * B \quad (1)$$

همچنین معادله (۱) بر حسب مقادیر واقعی این متغیرها به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$IR = + 2/47500 - 0.11250 * (\text{چگالی پالپ}) + 0.35833 * (\text{روز اضافه کردن خاک}) - 0.03E-2/0.8333 * (\text{چگالی پالپ}) * (\text{روز اضافه کردن خاک}) \quad (2)$$

توسط نرم‌افزار است. تنها ۰/۶۹٪ احتمال وجود دارد که مقدار F در اثر خطا بوجود آمده باشد. مقدار آماره F کمتر از ۰/۰۵۰۰ نشان می‌دهد که پارامترهای موجود در مدل معنی‌دار هستند، همچنین مقادیر بزرگ‌تر از ۰/۱۰۰۰ نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن پارامترهای مدل هستند.

بنابراین در این مدل، متغیرهای چگالی پالپ و زمان افزودن خاک به کشت، معنی‌دار هستند، لیکن تاثیر متقابل آن دو از نظر آماری معنی‌دار نیست. همچنین ضریب قطعیت مدل، $R^2 = 0.94$ است، که نشان می‌دهد مدل ارائه شده به خوبی بر داده‌های آزمایش منطبق است.

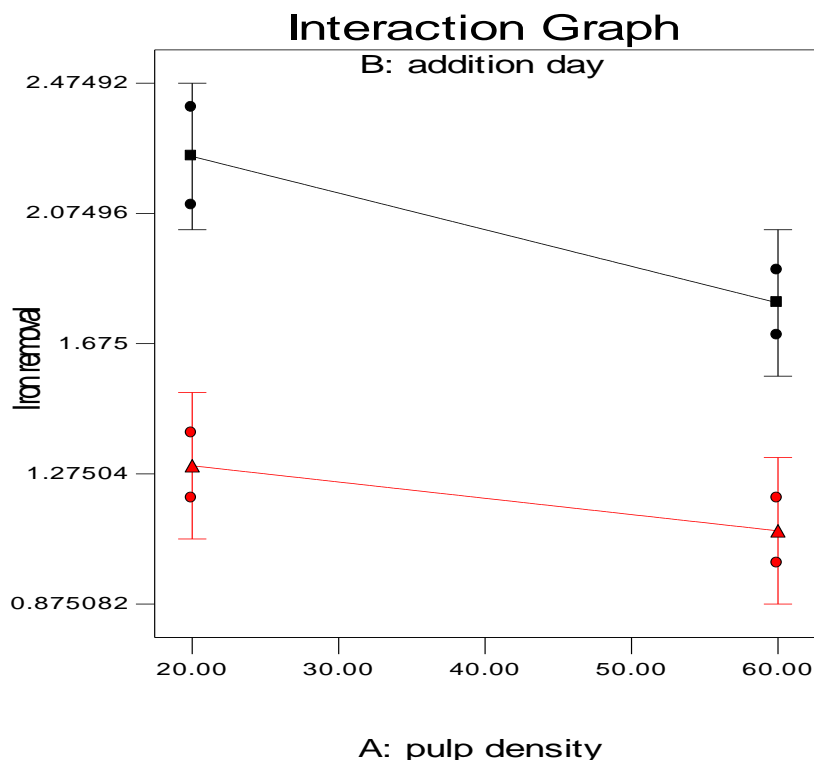
ضرایب و عرض از مبدا مدل در جدول ۳ آورده شده است. علامت منفی ضرایب A و B نشان‌دهنده این است که با افزایش چگالی پالپ و زمان افزودن رس به محیط کشت، درصد حذف آهن از کائولن کاهش می‌یابد. نمودار نحوه تاثیر این متغیرها بر پاسخ در اشکال ۴ و ۵ نیز قابل مشاهده است.

DESIGN-EXPERT Plot

Iron removal

X = A: pulp density
Y = B: addition day

- Design Points
- B- 0.000
- ▲ B+ 3.000



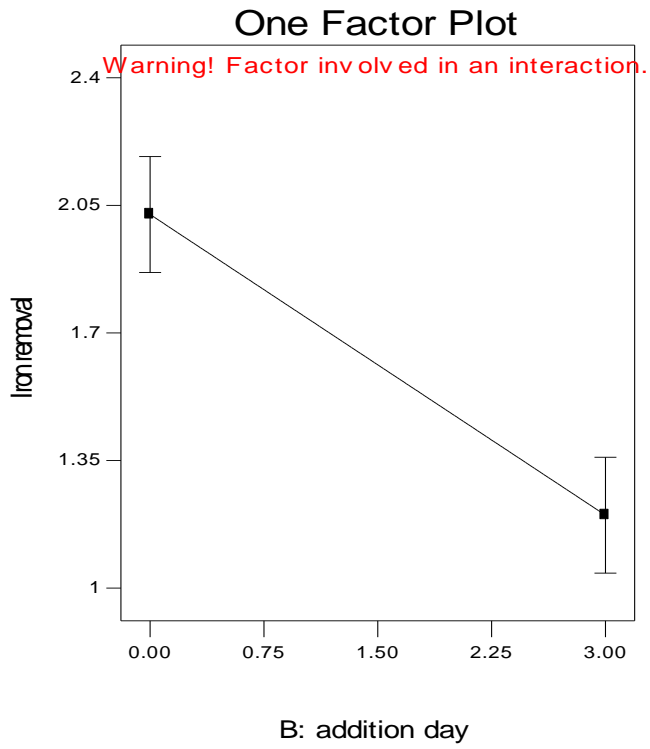
شکل ۳ - نمودار تاثیر متقابل چگالی پالپ و روز افزودن خاک

DESIGN-EXPERT Plot

Iron removal

X = B: addition day

Actual Factor
A: pulp density = 0.04



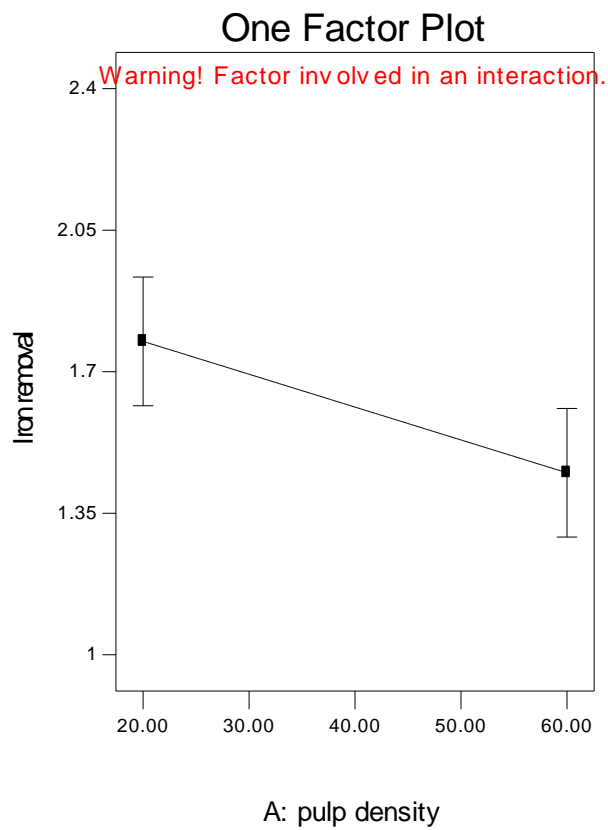
شکل ۴ - نمودار تاثیر زمان افزودن خاک بر حذف آهن

DESIGN-EXPERT Plot

Iron removal

X = A: pulp density

Actual Factor
B: addition day = 1.50



شکل ۵ - نمودار تاثیر چگالی پالپ بر حذف آهن

۴- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از فروشویی زیستی با استفاده از *Aspergillus niger* NCIM ۵۴۸، بیانگر این مطلب است که با افزایش چگالی پالپ و زمان افزودن رس به محیط کشت، درصد حذف آهن از کائولن کاهش می‌یابد. بنابراین، برای افزایش درصد حذف آهن، بهتر است مقدار خاک اضافه شده را تا حدی که باعث کاهش ظرفیت عملیات نگردد، کاهش داد. همچنین، بهتر است خاک در شروع آزمایش به محیط کشت اضافه شود. این سویه در بهترین شرایط تنها ۲/۲٪ از کل ناخالصی آهن موجود در نمونه را حذف کرده است که برای افزایش کیفیت این کانی تا حد مطلوب کافی نبوده و به منظور افزایش راندمان فروشویی می‌توان از سویه‌های دیگری از این قارچ یا میکروارگانیسمی که بتواند درصد بیشتری از آهن را حذف نماید استفاده کرد. به علاوه از آنجا که عامل انحلال آهن در این آزمایش‌ها، ترشح اسیدهای آلی مخصوصاً اگزالیک اسید به درون محیط کشت میکروارگانیسم است، می‌توان با تنظیم pH محیط در حدود ۵-۷ تولید این اسید را افزایش داد [۱۲].

مراجع

۸. وقار، رامز، "فناوری میکروبی در متالورژی"، دانشگاه صنایع و معادن ایران، ۱۳۷۹.
9. I.H.M. VanOorschot, M.J. Dekkers, "Dissolution Behavior of Fine-Grained Magnetite and Maghemite in the Citrate-Bicarbonate-Dithionite Extraction Method" Earth and Planetary Science Letters, Vol. 167, (1999) 283-295.
10. V.R. Ambikadevi, M. Latithambika, "Effect of Organic Acids on Ferric Iron Removal from Iron-Stained Kaolinite", Applied Clay Science, Vol. 16, (2000) 133-145.
11. N. Mulligan Catherine, M. Kamali, F. Gibbs Bernard, "Bioleaching of Heavy Metals from a Low-Grade Mining Ore Using *Aspergillus niger*", Journal of Hazardous Materials, Vol. 110, (2004) 77-84.
12. W. Rymowicz, D. Lenart, "Oxalic acid production from lipids by a mutant of *Aspergillus niger* at different pH", Biotechnology Letters, Vol. 25, (2003) 955-958.

1. E.Y. Lee, K. S. Cho, H.W. Ryu, "Microbial refinement of Kaolin by Iron-Reducing Bacteria", Applied Clay Science, Vol. 22, (2002) 47-53.
2. I. Styriakova, I. Styriak, "Iron Removal from Kaolins by Bacterial Leaching", Ceramics-Silikaty, Vol. 44, (2000) 135-141.
3. C. Cameselle, M.T. Ricart, M.J. Nunez, J.M. Lema, "Iron Removal from Kaolin. Comparison between in situ and two stage Bioleaching Process", Hydrometallurgy, Vol. 65, (2003) 97-105.
4. G.H. Jeffery, J. Basset, J. Mendham, R.C. Denny, "Vogel's textbook of quantitative chemical analysis", Longman Science and Technical, New York, (1989) 690-692.
5. N. Nelson, "A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose", J. Biol. Chem., Vol. 153, (1944) 375-380.
6. M. Somogyi, "Notes on sugar determination", J. Biol. Chem., Vol. 195, (1952) 9-23.
7. C.D. Montgomery, "Design and Analysis of Experiments", John Wiley, New York, (2005) 203-264.