



## Küre piritli bakır cevherinin liçinde sülfür ve demir oksidasyonu yapan bakterilerin metal kazanımına etkisi

*Effect of sulphur and iron-oxidizing bacteria on metal recovery in leaching of Kure pyritic copper ore*

**Ata AKÇIL, Hasan ÇİFTÇİ**

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Maden Mühendisliği Bölümü, 32260, ISPARTA

### ÖZ

Sülfür içerikli ve düşük tenörlü cevherlerden ya da konsantrelerden metal değerlerinin kimyasal kazanımı son yıllarda yerini çevresel ve ekonomik açıdan önemli bir yöntem olan biyolojik kazanıma bırakmıştır. Biyoliç, sülfürlü cevherlerden metalleri kazanmak için bir çok ülkede ticari anlamda başarıyla uygulanmaktadır. Bunun yanında, Türkiye'de biyoliç prosesine uygun bakır ve altın içerikli sülfürlü cevherleşmeler de bulunmaktadır. Bu çalışmada, Küre bakır işletmesindeki piritli bakır cevherlerinden asidofilik (asit sever) bakteriler (*Acidithiobacillus thiooxidans* ve *Leptospirillum ferrooxidans*) yardımıyla bakır çözünmesi araştırılmıştır. Yapılan biyoliç deneyleri sonunda en yüksek bakır çözünme verimi, *Leptospirillum ferrooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerinde gerçekleştirilmiştir. *Leptospirillum ferrooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerinde 24 gün (576 saat) sonra yaklaşık %54 bakır çözünme verimi elde edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Asidofilik bakteriler, bakır, biyoliç, biyoteknoloji, çevre, sülfürlü cevherler.

### ABSTRACT

Recently, chemical recovery of metallic values from low-grade sulphur-bearing ores or concentrates has been replaced by biological treatment; an important recovery process from the environmental and economical respects. Bioleaching has been utilized in several countries to recover metals from sulphide ores with commercial success. In Turkey, there are also some copper and gold-bearing sulphides appropriate for bioleaching process. In this study, the copper recovery from pyritic copper ores in Küre copper mine is investigated with acidophilic bacteria (*Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*). As a result of laboratory tests, the highest copper recovery was obtained by *Leptospirillum ferrooxidans*. Approximately 54% copper recovery was determined after 24 days (576 hours) bioleaching tests.

**Key words:** Acidophilic bacteria, copper, bioleaching, biotechnology, environment, sulphidic ores.

### GİRİŞ

Biyoliç prosesinde mikroorganizmalar, sülfürlü cevherlerden metalleri kazanmak için daha ucuz ve etkili bir şekilde kullanılabilir. İki bin yıl önce, sülfürlü bakır cevherlerinden bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ ) olarak bakırın biyoliçi ve sementasyon ile metalik bakırın kazanımının Avrupa'da (Rio

Tinto, İspanya) ve Çin'de uygulandığı öne sürülmektedir (Rossi, 1990). Biyoliçin diğer kimyasal proseslere göre ekonomik olması ve proses artıkları ile düşük tenörlü cevherlere uygulanabilmesi, son zamanlarda biyolojik proseslerle metal kazanımına olan ilgiyi gittikçe arttırmaktadır. Bu proseslerde mikroorganizmalar metallerin cevherlerden ayrılmasında katalizör görevini

üstlenmektedir. Bu nedenle, bakterilerin varlığında gerçekleştirilen liç işlemi, oda sıcaklığında ve atmosfer basıncında gerçekleştirilen kimyasal proseslerden daha hızlı olmaktadır.

Biyoliç prosesi için mikrobiyolojik mekanizma 1950'lere kadar net bir şekilde tanımlanamamıştır. Bakır çözünmesi, çeşitli asidofilik (asit sever) bakteriler tarafından meydana getirilmektedir. Bu tür bakteriler, cevher mineraline doğrudan tutunmayla veya oksitleyici bir reaktif (genellikle asidik çözeltide ferrik iyonu) üretimi ile sülfürlü cevheri oksitlemektedirler (Ehrlich, 1996).

Kalkopirit ( $\text{CuFeS}_2$ ), dünyada en önemli bakır içeren minerallerden biri olup, bu nedenle bakır endüstrisi için son derece önemlidir (Dutrizac, 1981). Endüstriyel olarak kalkopirit konsantresi pirometalurjik yöntemlerle işlenmektedir. Sülfürlü konsantrelerin kavurma ve pirometalurjik işlemleri kükürt dioksit ( $\text{SO}_2$ ) oluşturmakta ve atmosferin kirlenmesine neden olmaktadır. Ergitme işleminin büyük ölçekli prosesler hariç yüksek maliyetli olması ve bu işlem sırasında  $\text{SO}_2$  oluşması nedeniyle, geleneksel ergitme işlemine bir alternatif olarak hidrometalurjik bir proses için araştırmalar hızlanmıştır. Ortam sıcaklığında ve atmosferik basınçta meydana gelen biyoliç işlemi, geleneksel hidrometalurjik ve pirometalurjik prosesler ile karşılaştırıldığında çevre açısından oldukça az kirlilik problemi olan ve daha az maliyetli bir yöntemdir (Tipre vd., 1999). Bu nedenle sülfürlü cevher ve konsantrelerden metal kazanımı için biyohidrometalurji alternatif bir kazanım tekniği olmaktadır. Ancak, kalkopiritin sülfat çözeltilerinde özellikle doğrudan liç işleminde zor çözüldüğü bilinmektedir (Hiskey ve Wadsworth, 1975; Dutrizac, 1989; Çiftçi, 2003; Akçıl, 2002, 2003; Akçıl ve Çiftçi, 2003a, 2003b, 2003c). Bunun başlıca nedeni kalkopiritin yüzeyinde oluşan kükürt tabakasının liç kinetiğini yavaşlatmasından kaynaklanmaktadır (Tshilombo vd., 2002). Kalkosin ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), kovelin ( $\text{CuS}$ ), bornit ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) gibi ikincil sülfürlü bakır mineralleri genel olarak kalkopirite göre daha kolay ve hızlı bir şekilde liç edilmektedirler. Biyoliç prosesi bilimsel açıdan yoğun şekilde çalışılmakta ve endüstriyel uygulamalarda giderek önem kazanmaktadır (Torma, 1977; Pooley, 1987; Ahonen ve Tuovinen, 1989; Bockecker, 1997; Brierley ve Brierley, 2001; Kawatra ve Natarajan, 2001; Suzuki, 2001).

Endüstriyel biyoliç uygulaması, 1950'lerde yığılma (dump) liç işlemiyle düşük tenörlü sülfürlü bakır cevherlerinin biyoliçiyle başlamıştır. 1980 yılından bu yana 11 adet yığın (heap) liç tesisi (Amerika, Avustralya, Myanmar, Peru, Şili) ve 1 adet yerinde (in situ) liç tesisi (Avustralya) sülfürlü cevherlerden biyoliç yöntemiyle bakırın kazanımı için faaliyettedir. Ayrıca 1985 yılından bu yana refrakter altın konsantrelerinin biyooksidasyonu için 7 tesis (Avustralya, Brezilya, Gana, Güney Afrika, Peru) bulunmaktadır (Brierley, 2001; Brierley ve Brierley, 2001).

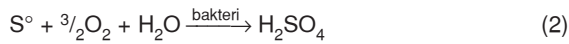
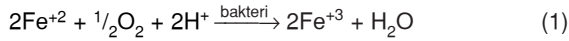
Biyoliç prosesi, pirometalurjik ve hidrometalurjik proseslerle karşılaştırıldığında; daha az sermaye gerektirmesi, düşük tenörlü sülfürlü cevherlerin ekonomik olarak liç edilebilmesi, pirometalurjik proseslerden daha az enerji harcaması ve pirometalurjik proseslerde ortaya çıkan çevre için zararlı  $\text{SO}_2$  ve  $\text{CO}_2$  emisyonlarının oluşmaması gibi önemli avantajları bulunmaktadır. Bu avantajlarının yanında; biyoliç prosesinin hidrometalurjik ve pirometalurjik proseslere kıyasla çok daha yavaş bir proses olması, kontrolünün zor olması ve biyoliç sisteminde istenen mikroorganizmaların aktif olarak varlığının sürdürülmesi gerekliliği gibi sınırlamalara da sahiptir. Brierley'in (1995) yaptığı bir araştırmada, biyoliç işlemi kavurma prosesleriyle karşılaştırıldığında, endüstriyel ölçekli bir tesis için sermaye %12 - 20 ve işletme giderleri % 10 daha az olduğu belirtilmiştir.

Yapılan bu araştırma kapsamında iki farklı bakteri kültürü için küre piritli bakır cevherinin liçine katı oranının etkisi araştırılmış, bunun yanında pH ve hücre sayısı gibi biyoliç için önemli veriler de incelenmiştir. İncelenen parametreler açısından daha önce bu konuda yapılan araştırmalarla (Bailey ve Hansford, 1993; Bevilacqua vd., 2002; Deveci, 2002; Deveci vd., 2003; Hiroyoshi vd., 1999; Nematı ve Harrison, 2000; Third vd., 2000) paralel sonuçlar bulunmuştur.

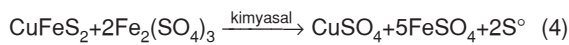
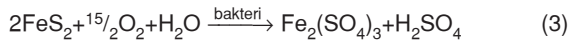
## BAKTERİLERİN ÇÖZME MEKANİZMALARI

Biyoliç, normal basınç altında ve 5 ile 90°C sıcaklık aralığında, mikroorganizmaların katalizör etkisini kullanarak cevher veya konsantrelerden metalik bileşiklerin çözüldürülmesi işlemlerini kapsamaktadır. Asidofilik bakteriler için demir ve kükürt, farklı doğal ortamlarda bakterilerin gelişmesi için önemli bir enerji kaynağıdır.

Bakteri yardımıyla gerçekleştirilen liç işlemi, kuvvetli bir oksitleyici reaktif olarak hareket eden ferrik demirin ( $Fe^{+3}$ ) ortamda bulunması ile hızlanmaktadır. Biyoliç, sülfür bileşikleri ve ferros demirin ( $Fe^{+2}$ ) bakteriyel oksidasyonu ile üretilen ferrik demir (1 no'lu reaksiyon) ve sülfürik asitin (2 no'lu reaksiyon) konsantrasyonuna bağlı olmaktadır (Pooley, 1998).



Genel olarak sülfürlü mineraller ile birlikte bulunan piritin bakteriyel oksidasyonu ile oluşan ferrik demir, oksitleyici olarak görev almaktadır (Dutrizac ve MacDonald, 1974). En önemli bakır minerali olan kalkopiritin bakteriyel oksidasyonu aşağıdaki gibi gerçekleşmektedir (Seifelnassr ve Abouzeid, 2000).



Sülfürlü cevherleri oksitleyen birçok bakteri bulunmaktadır. Maden ocağı sularında bol miktarda bulunan bu tür bakteriler kalkopiriti, kovelini, kalkosini ve borniti oksitleyerek  $CuSO_4$ 'a dönüştürmektedir. Biyoliç işleminde;  $O_2$ ,  $CO_2$ , sıcaklık, tane boyutu, ortam pH'sı, karıştırma hızı, katı oranı ve organizmaları besleyici elementlerin varlığı etkili olmaktadır.

*Acidithiobacillus thiooxidans* türü bakteriler ilk kez 1922'de izole edilmiştir (Waksman ve Joffe, 1922). *Acidithiobacillus thiooxidans* asidofilik, ototrofik (gelişmeleri için gerekli karbonu  $CO_2$ 'den elde eden), aerobik ( $O_2$ 'li ortamda gelişen) ve mezofilik (gelişmeleri için 20 ile 40°C arasındaki bir sıcaklığa gerek duyan) bakterilerdir. Genellikle 1 – 2 µm uzunluğunda çubuk şeklinde tek tek, seyrek olarak da kısa zincirler veya çiftler halinde bulunurlar. Elementel kükürt ve sülfür bileşiklerinde gelişirler ve  $Fe^{+2}$ 'yi oksitleyemezler (Bosecker, 1987; Seifelnassr ve Abouzeid, 2000). *Acidithiobacillus thiooxidans* türü bakteriler, 1 ile 1.5 arasındaki pH ortamında elementel kükürt ve tiyosülfatı sülfürik asit ve sülfata oksitlemektedirler. Böylece sülfürlü metal bileşikleri, sülfat olarak çözeltilmeye geçebilmektedir (Bosecker, 1987). *Thiobacilli*, biyoliç işleminde en önemli bakteri gurubunu oluşturmaktadır. Özellikle *Acidithiobacillus ferrooxidans*'ın çeşitli

türleri ve biyoliçte önemli rol oynayan diğer asidofilik ve mezofilik, demiri oksitleyen bakteriler izole edilmiştir. Bu önemli bakterilerden biri de *Leptospirillum ferrooxidans*'dır. *Leptospirillum ferrooxidans*, *Spirillaceae* türünden olup mezofilik bir bakteridir (Garcia Frutos, 1998). Bu tür bakteri ilk olarak Markosyan (1972) tarafından maden ocağı suyundan izole edilmiştir. *Leptospirillum ferrooxidans* türü bakteriler, ototrofik olarak gelişmekte ve spiral şekilli olup sadece  $Fe^{+2}$ 'i oksitleyebilmektedir.

Bu tür bakterinin,  $Fe^{+2}$ 'yi oksitlemesi sonucunda oluşan  $Fe^{+3}$  ile sülfürlü cevherleri asidik koşullarda dolaylı olarak liç edebilme yetenekleri vardır. *Leptospirillum ferrooxidans*'ın gelişme için optimum sıcaklığı ve pH aralığı sırasıyla 30°C ve 1.5-5.0'dir (Pooley, 1998).

## MALZEME VE YÖNTEM

### Bakteri Kültürleri ve Gelişme Ortamları

Biyoliç deneylerinde kullanılan iki tip asidofilik bakteri; *Acidithiobacillus thiooxidans* (DSM 504) ve *Leptospirillum ferrooxidans* (DSM 2705) Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. DSMZ'den temin edilen bu tür bakteriler deneylerde kullanılmadan önce ferros demir ( $Fe^{+2}$ ) ve kükürt ( $S^{\circ}$ ) içeren besiyerinde daha sonrada pirit konsantresi üzerinde çoğaltılmıştır. *Leptospirillum ferrooxidans* türü bakterilerin çoğaltılmasında kullanılan besiyeri Çizelge 1'de, *Acidithiobacillus thiooxidans* türü bakterininki ise Çizelge 2'de gösterilmiştir.

*Acidithiobacillus thiooxidans* ve *Leptospirillum ferrooxidans* türü bakteriler, yukarıda belirtilen besiyerlerinde çoğalmaları için yaklaşık 5 ile 7

Çizelge 1. *Leptospirillum ferrooxidans* için kullanılan besiyeri.

Table 1. Medium used for *Leptospirillum ferrooxidans*.

Besiyeri Bileşimi	Konsantrasyon g/L
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	55.6
$(NH_4)_2SO_4$	0.4
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.4
$KH_2PO_4$	0.2
KCl	0.1

Çizelge 2. *Acidithiobacillus thiooxidans* için kullanılan besiyeri.

Table 2. Medium used for *Acidithiobacillus thiooxidans*.

Besiyeri Bileşimi	Konsantrasyon g/L
Sülfür	10.0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.4
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2
KCl	0.1

gün arasında 150 rpm ve 30°C'ye ayarlanmış çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda çoğalan bakterilerin bulunduğu besiyerlerinden 10 ml alınarak yeni hazırlanan besiyerine (90 ml) aktarılmış ve alt kültürler oluşturulmuştur. Bu işlem steril koşullarda 4 – 5 kez kademeli şekilde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bakterilerin cevhere adapte olması amacıyla demir ve kükürt yerine Etibank Küre Bakır İşletmesi flotasyon tesisinden alınan pirit konsantresi üzerine de ekimler yapılmıştır (Çizelge 3).

### Deney Örnekleri

Deneylerde, Etibank Küre bakır işletmesi flotasyon tesisine beslenen dissemine cevher ile masif cevherlerin karıştırılmasıyla elde edilmiş tüvenan cevher kullanılmıştır. Küre piritli bakır yataklarının ana cevher mineralleri, pirit ve kalkopirittir. Bunların yanında, az miktarda sfalerit, markasit, bornit mineralleri bulunmaktadır. Önemli gang mineralleri ise kuvars, klorit, serisit, karbonatlar ve kil mineralleridir. Tüvenan cevher (%100'ü -75 µm) bileşimindeki bakır, demir ve sülfür oranları sırasıyla %1.19, %39.04, %37.22'dir.

Çizelge 3. *Acidithiobacillus thiooxidans* ve *Leptospirillum ferrooxidans* için adaptasyonda kullanılan besiyeri.

Table 3. Medium used for *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* during adaptation.

Besiyeri Bileşimi	Konsantrasyon g/L
Pirit konsantresi	10.0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.4
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2
KCl	0.1

### Analiz Yöntemleri ve Bakteri Sayımları

Liç çözeltisindeki demir ve bakır, Süleyman Demirel Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarında bulunan Atomik Absorbsiyon Spektrometresinde (AAS) ölçülmüştür. Çözeltinin pH'ı, pH/Ion Analyzer cihazı ile ölçülmüştür. AAS'de demir ve bakırın analizi ayrıca pH'ın takibi için steril koşullarda liç çözeltisinden her iki günde bir 1 ml örnek alınmıştır.

Liç çözeltisindeki bakteri sayısı mikroskop kullanılarak Petroff-Hausser lamı ile yapılmıştır. Petroff-Hausser lamının derinliği 0.02 mm olup, lamda sayım yapılan alan ise 1 mm<sup>2</sup>'dir. Bakteri sayısının yoğun olduğu durumlarda seyreltme işlemini takiben sayım yapılmıştır. Bakteri sayımı için steril koşullarda liç çözeltisinden her iki günde bir 0.5 ml örnek alınmış, ancak azalan çözeltiye ilave yapılmamıştır. Bu nedenle, analiz yapılacağı günlerdeki toplam hacim üzerinden hesaplamalar yapılmıştır.

### BIYOLİÇ DENEYLERİ

Deneyel çalışmalar, Süleyman Demirel Üniversitesi, Maden-Gıda Mühendisliği Bölümleri ve Merkezi Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Biyoliç deneyleri, 250 ml'lik Erlenmayerlerde 100 ml'lik çalışma hacminde yapılmıştır. Deneylerde iki tip bakteri kültürü (*Acidithiobacillus thiooxidans* ve *Leptospirillum ferrooxidans*) kullanılarak tüvenan cevherin farklı katı oranlarındaki (%1, %2, %3, %5) bakır ve demir çözünürlükleri araştırılmıştır.

Biyoliç deneylerinde; sıcaklık 30°C, pH *Leptospirillum ferrooxidans* için 1.6, *Acidithiobacillus thiooxidans* için 2.2, karıştırma hızı 150 rpm olarak değişik katı oranları için test edilmiştir. Tüvenan cevherden 1 g, 2 g, 3 g ve 5 g örnekler alınarak, her bir Erlenmayere konulmuştur. Daha sonra Erlenmayerlere 90 ml besiyeri ilave edilmiştir. Besiyeri ilave edildikten sonra Erlenmayerler 121°C sıcaklıkta ve 1 atmosfer basınç altında 15 dakika otoklavda bekletilerek sterilizasyon sağlanmıştır. Sterilizasyon işleminden sonra pH, steril sülfürik asit ile ayarlanmıştır. Ayrıca bakteri içermeyen kontrol deney gurubu da aynı yöntemle hazırlanmıştır. Daha sonra çoğalmış bakteri kültürlerinden 10 ml alınarak steril koşullarda her bir Erlenmayere (kontrol deney gurubu

hariç) ekim yapılmıştır. Erlenmayerler 30°C ve 150 rpm'e ayarlanmış çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiştir.

### Bakteri Sayısının Farklı Katı Oranlarındaki Değişimi

Biyoliç deneylerinde öncelikle iki farklı mezofilik bakteri kültürlerinin farklı katı oranlarındaki davranışları 576 saat (24 gün) boyunca incelenmiştir. DSMZ'den alınan iki saf kültür ilk önce laboratuvarında steril koşullarda uygun besiyerlerinde yaklaşık 7 gün geliştirilerek çoğaltılmıştır. Daha sonra bakteriler biyoliç uygulanacak tüvenan cevhere iyi adapte olması amacıyla Küre bakır işletmesi flotasyon tesisinden alınan pirit konsantresi üzerinde geliştirilmişlerdir. Pirit üzerinde geliştirilmiş taze bakterilerden (yaklaşık  $10^7$  bakteri/ml'nin üstünde) alınarak biyoliç deneylerine başlanmıştır. İki günde bir mikroskopta yapılan bakteri sayımı ile tüvenan cevherin biyoliçinde iki bakteri kültürünün 576 saat (24 gün) boyunca gelişimleri incelenmiştir. Deney sürecince yapılan bakteri sayım sonuçları Çizelge 4'de verilmiştir.

*Leptospirillum ferrooxidans* için biyoliç deneylerine başlandığında ve liç işlemi sonunda bakteri sayıları *Acidithiobacillus thiooxidans* sayılarına göre daha düşüktür. *Leptospirillum ferrooxidans*'ın biyoliç deneylerine başlandığındaki bakteri sayısı her bir katı oranı için yaklaşık  $3 \times 10^6$  ile  $3.18 \times 10^6$  bakteri/ml arasındadır. Liç deneyleri sonunda (576 saat) % 1 katı oranında bakteri sayısı,  $1.11 \times 10^9$  bakteri/ml olarak saptanmıştır. Katı oranı arttıkça, deney sonunda elde edilen bakteri sayısında da artış gözlenmiştir. Ancak %

5 katı oranında deney sonundaki bakteri sayısı diğer katı oranlarından daha düşüktür. *Leptospirillum ferrooxidans* için uyum evresi diğer bakteri kültürüne göre daha uzun olmuştur. Özellikle % 1, % 2 ve % 5 katı oranlarında uyum evresi 144 saate kadar devam etmiş olup, % 3 katı oranında ise uyum evresi 96 saattir. Bu sürelerden sonra bakteri sayılarında hızlı bir artış olmuş (gelişim evresi), bu hızlı artış % 1 katı oranı için 384 saat, % 2-3-5 katı oranları için 336 saate kadar devam etmiştir. 336 ve 384 saatten sonra bakteri sayılarında daha düşük bir hızla artış olmaktadır. Sülfür oksidasyonu yapan *Acidithiobacillus thiooxidans* bakteri kültürü için biyoliç deneylerine başlanıldığında bakteri sayısı her bir katı oranında  $7.76 \times 10^6$  ile  $8.02 \times 10^6$  bakteri/ml arasında olduğu saptanmıştır. Biyoliç deneyleri sonunda ise, % 1 katı oranında bakteri sayısı 1 ml'de  $1.21 \times 10^9$  olarak belirlenmiş ve katı oranı arttıkça bakteri sayısında da artış olmuştur. *Acidithiobacillus thiooxidans* için % 1 katı oranında uyum evresi 48 ile 96 saat arası sürmüş, % 2 ve % 5 katı oranlarında da aynı durum gözlenmiştir. % 3 katı oranında bakteriyel faaliyetin uyum evresi 48 saattir. *Acidithiobacillus thiooxidans* için *Leptospirillum ferrooxidans* türü bakterinin gelişme evresine benzer bir davranım gözlenmiştir. % 1 katı oranında 96 saat ile 384 saat arasında bakteri sayısında hızlı bir artış olmuştur. 384. saatten sonra ise bakteri sayısı daha düşük bir hızla artmaktadır. Özellikle % 2 katı oranında bakteriyel gelişme evresi 432 saate kadar devam etmiş ve bu saatten sonra bakteri sayısında artış durmuş, diğer bir ifadeyle bakteri duraklama evresine girmiştir. % 3 ve % 5 katı oranlarında ise, bakteriyel gelişme evresi daha kısa sürede tamamlanmıştır.

Çizelge 4. Farklı katı oranlarındaki bakteri sayımları.  
Table 4. Bacteria counts on different solid ratios.

Bakteri tipi	Katı oranı (%)	Bakteri sayısı (bakteri/ml)						
		Süre (saat)						
		48	96	144	192	336	528	576
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	1	$4.16 \times 10^6$	$1.12 \times 10^7$	$6.30 \times 10^7$	$1.96 \times 10^8$	$8.10 \times 10^8$	$1.10 \times 10^9$	$1.11 \times 10^9$
	2	$4.14 \times 10^7$	$6.26 \times 10^7$	$9.05 \times 10^7$	$3.08 \times 10^8$	$9.53 \times 10^8$	$1.24 \times 10^9$	$1.28 \times 10^9$
	3	$5.06 \times 10^6$	$1.37 \times 10^7$	$1.20 \times 10^8$	$3.85 \times 10^8$	$1.02 \times 10^9$	$1.31 \times 10^9$	$1.33 \times 10^9$
	5	$4.87 \times 10^6$	$1.21 \times 10^7$	$7.55 \times 10^7$	$2.20 \times 10^8$	$8.93 \times 10^8$	$1.28 \times 10^9$	$1.30 \times 10^9$
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	1	$2.06 \times 10^7$	$7.48 \times 10^7$	$1.80 \times 10^8$	$4.00 \times 10^8$	$1.03 \times 10^9$	$1.19 \times 10^9$	$1.21 \times 10^9$
	2	$2.65 \times 10^7$	$8.74 \times 10^7$	$2.62 \times 10^8$	$5.27 \times 10^8$	$1.07 \times 10^9$	$1.37 \times 10^9$	$1.39 \times 10^9$
	3	$3.14 \times 10^7$	$1.37 \times 10^8$	$2.93 \times 10^8$	$4.73 \times 10^8$	$1.13 \times 10^9$	$1.40 \times 10^9$	$1.41 \times 10^9$
	5	$3.01 \times 10^7$	$8.52 \times 10^7$	$2.28 \times 10^8$	$4.41 \times 10^8$	$1.03 \times 10^9$	$1.24 \times 10^9$	$1.26 \times 10^9$

### pH'in Farklı Katı Oranlarındaki Değişimi

Biyoliç deneylerinde bakteri sayımı ile birlikte iki günde bir pH ölçümleri de yapılmıştır. Biyoliç deneylerinde kullanılan mezofilik kültürlerin pH takiplerinde katı oranıyla olan ilişkisi Şekil 1 ve 2'de belirtilmiştir.

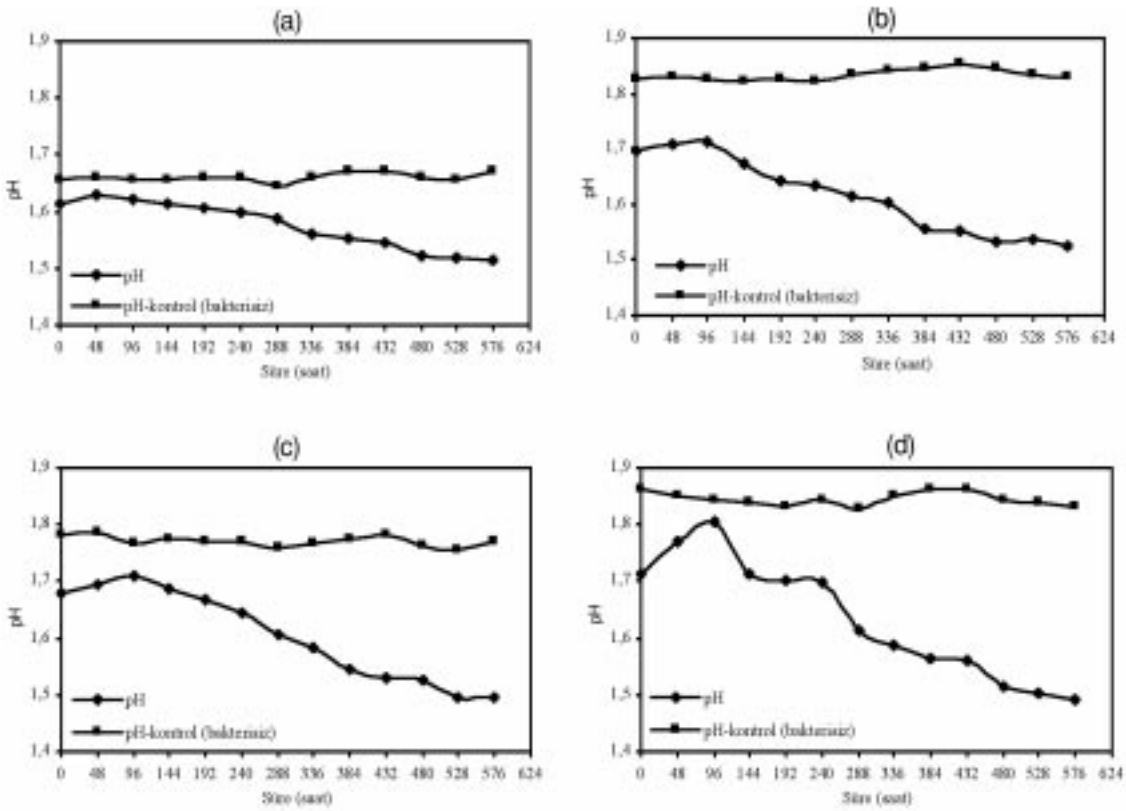
*Leptospirillum ferrooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerinde % 1 katı oranında pH'da deneyin başlangıcından itibaren 48. saate kadar bir artış olmuş ve bu süreden sonra pH düşmeye başlamıştır. % 2, % 3 ve % 5 katı oranlarında ise pH artışı 96 saate kadar devam etmiştir. Özellikle bu süre içerisinde katı oranını artması ile daha yüksek pH değerler ölçülmüştür (bkz. Şekil 1). % 3 katı oranında pH 1.68'den 1.71'e çıkarken, % 5 katı oranında pH 1.7'den 1.8'e çıkmaktadır.

*Acidithiobacillus thiooxidans* türü bakterilerin doğal gelişme ortamında pH 2 ile 2.3 arasında

başlanılan biyoliç deneylerinde sülfür oksidasyonu sonucunda % 1 katı oranında başlangıçta pH 2 iken, deney sonunda pH 1.8'e düşmüştür. Diğer katı oranlarında da benzer durumu görmek mümkündür. Yaklaşık 48 ile 96 saate kadar olan süre içerisinde pH'da artış olmuştur. Özellikle katı oranı arttıkça daha yüksek bir pH artışı olduğu Şekil 2'den açık bir şekilde görülebilmektedir.

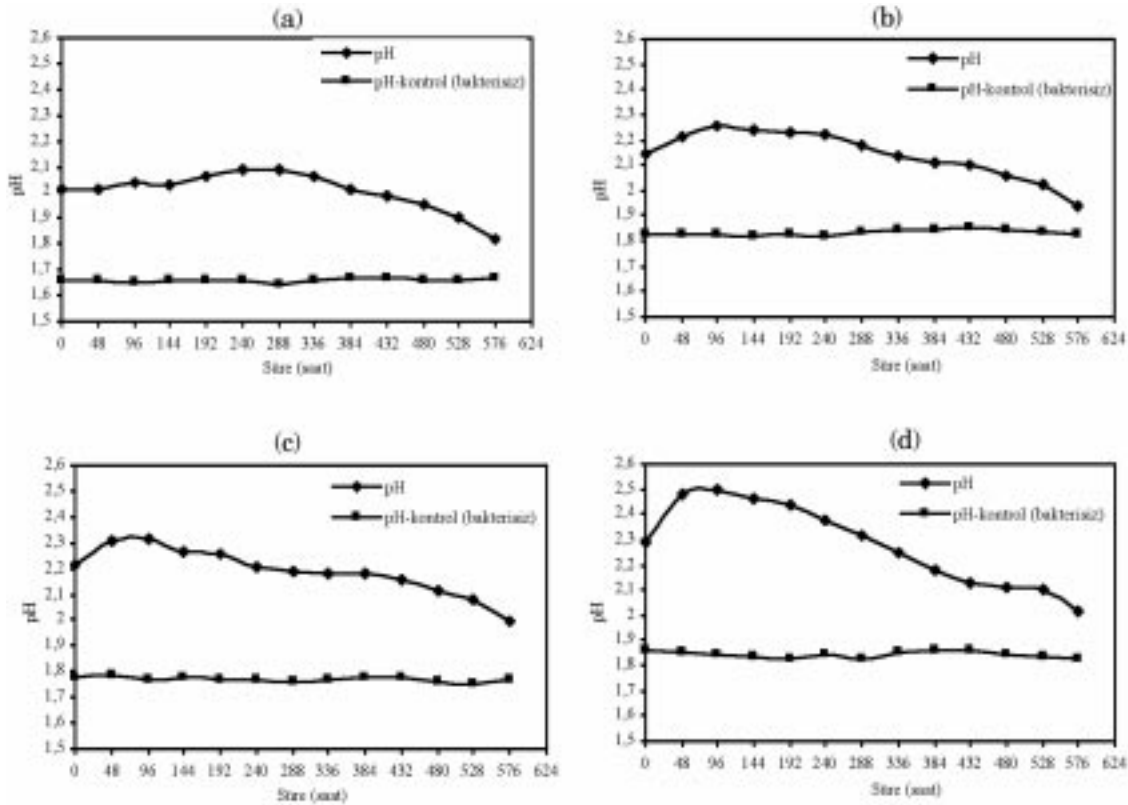
### Metal Çözünürlüklerinin Farklı Katı Oranlarındaki Değişimi

Katı oranının metal çözünürlüğüne etkisi amacıyla 24 günlük ölçümlerde kalkopiritin biyoliçi için önemli olan bakır ve demir çözümleri hesaplanmıştır. Bakteri sayımı ve pH'ın yanında metal çözümlerinin biyoliç deneylerindeki önemini daha net olarak belirlemek amacıyla iki günde bir AAS cihazı yardımıyla bakır ve demir analizleri yapılarak, Şekil 3 ve 4 yardımıyla yorumlanmıştır.



Şekil 1. *Leptospirillum ferrooxidans* ile farklı katı oranlarında yapılan biyoliç deneylerinde pH değişimi: (a) % 1 katı oranı, (b) % 2 katı oranı, (c) % 3 katı oranı, (d) % 5 katı oranı.

Figure 1. Variation of pH at different pulp densities during bioleaching tests with *Leptospirillum ferrooxidans*: (a) 1% w/v pulp density, (b) 2% w/v pulp density, (c) 3% w/v pulp density, (d) 5% w/v pulp density.



Şekil 2. *Acidithiobacillus thiooxidans* ile farklı katı oranlarında yapılan biyoliç deneylerinde pH değişimi: (a) %1 katı oranı, (b) %2 katı oranı, (c) %3 katı oranı, (d) %5 katı oranı.

Figure 2. Variation of pH at different pulp densities during bioleaching tests with *Acidithiobacillus thiooxidans*: (a) 1% w/v pulp density, (b) 2% w/v pulp density, (c) 3% w/v pulp density, (d) 5% w/v pulp density.

*Leptospirillum ferrooxidans* türü bakteri kullanılarak yapılan biyoliç deneylerinin sonunda her bir katı oranında elde edilen bakır çözünme verimlerinin, *Acidithiobacillus ferrooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerindeki göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak her bir katı oranında elde edilen demir çözünme verimleri ise daha yüksektir. *Leptospirillum ferrooxidans* için % 1 katı oranında biyoliç deneyleri sonunda elde edilen bakır çözünme verimi % 53.75, demir çözünme verimi ise % 38.41 olarak saptanmıştır. Katı oranı arttıkça bakır ve demir çözünme verimlerinde düşme olmaktadır (bkz. Şekil 3).

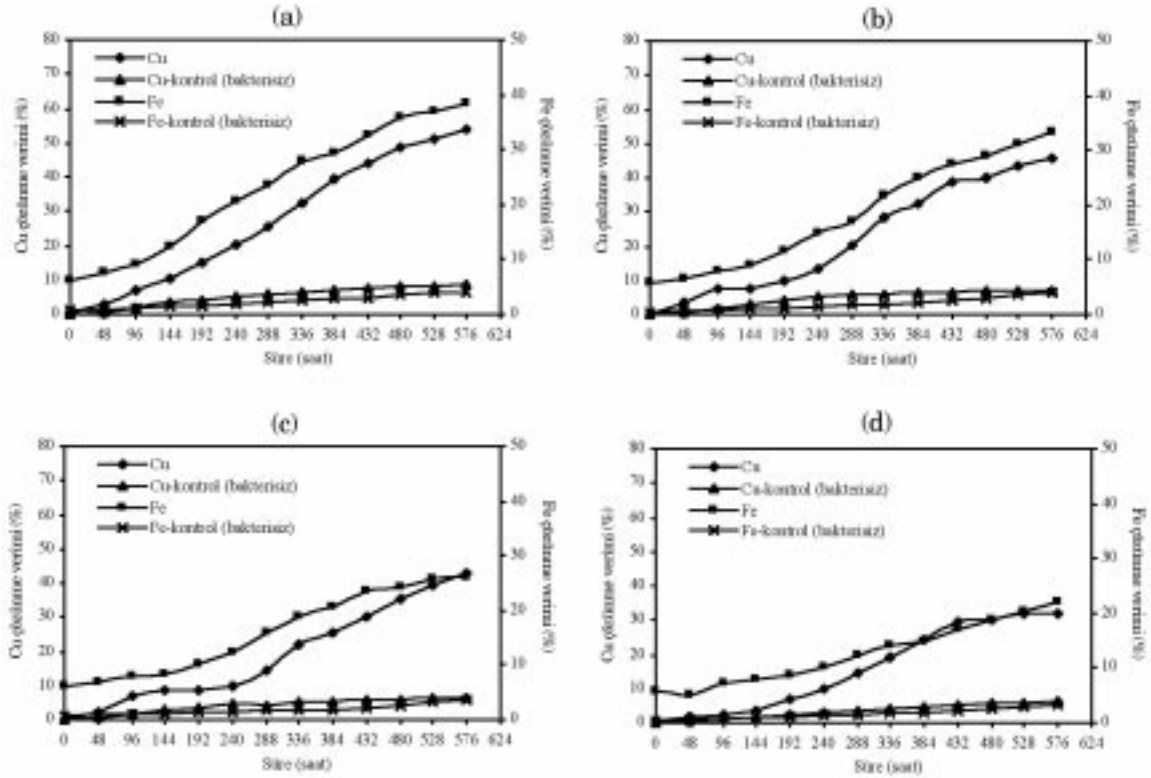
*Acidithiobacillus thiooxidans* türü bakterinin sadece sülfür oksidasyonunda etkili olması nedeniyle, kalkopirit gibi biyoliçi zor olan cevherlerde bakır ve demir çözünme verimine katkısı beklenmemektedir. Bu nedenle *Acidithiobacillus thiooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerinde elde edilen bakır ve demir çözünme verimleri ile kontrol deneylerinde elde edilen bakır ve demir çö-

zünme verimleri yaklaşık birbirine yakındır. % 1 katı oranında 576 saat sonra bakır çözünme verimi % 21.11, demir çözünme verimi % 4.84 olarak saptanmıştır. Katı oranı arttıkça bakır ve demir çözünme verimlerinde düşme olmaktadır (bkz. Şekil 4).

Steril bakteri içermeyen kontrol deneylerinde 576 saat sonra bakır çözünme verimi %6 ile %8 ve demir çözünme verimi % 3 ile % 4 arasında değişmektedir (bkz. Şekil 3 ve 4).

## TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Biyoliç prosesi, sülfürlü cevherlerin işlenmesi için basit ve aynı zamanda etkili bir teknolojidir. Bu yöntem; bakır, altın ve uranyumun kazanımı için endüstriyel ölçekte bir çok ülkede (Amerika, Avustralya, Brezilya, Gana, Güney Afrika, Myanmar, Peru, Şili, Hindistan) başarılı bir şekilde uygulanmaktadır.



Şekil 3. *Leptospirillum ferrooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerinde katı oranının metal çözünme verimine etkisi: (a) %1 katı oranı, (b) %2 katı oranı, (c) %3 katı oranı, (d) %5 katı oranı.  
 Figure 3. Effect of pulp density on metal recovery during bioleaching tests with *Leptospirillum ferrooxidans*: (a) 1% w/v pulp density, (b) 2% w/v pulp density, (c) 3% w/v pulp density, (d) 5% w/v pulp density.

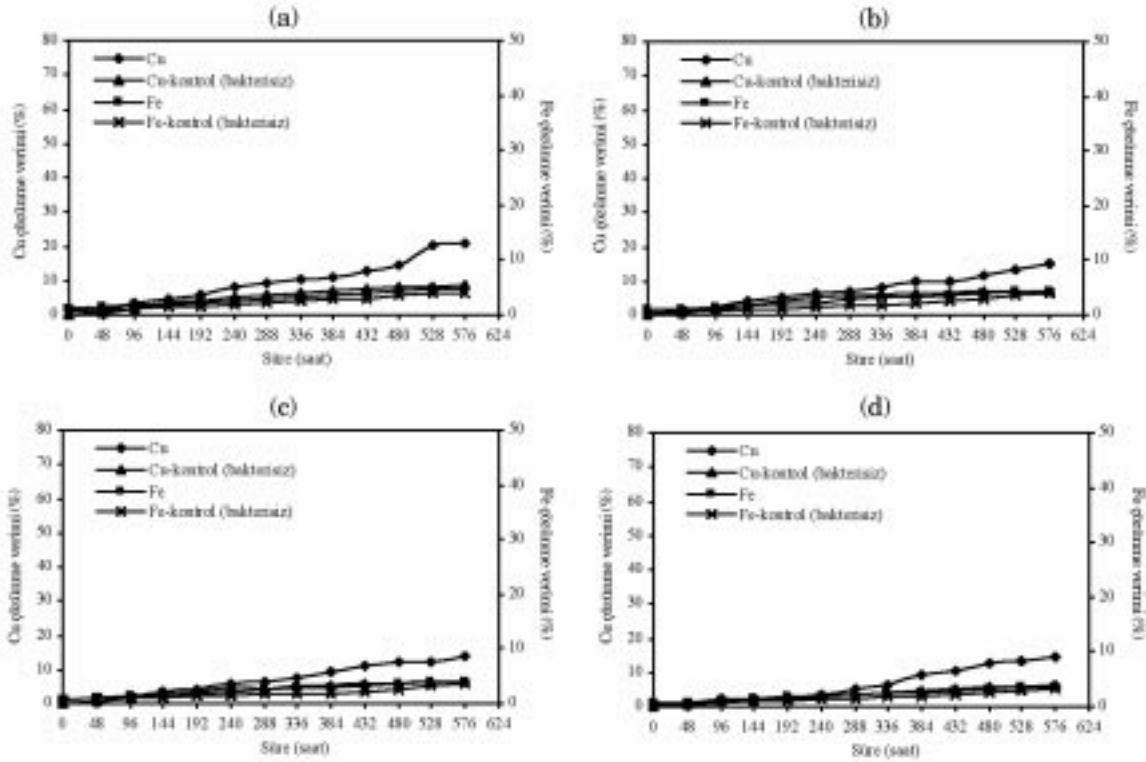
*Leptospirillum ferrooxidans* kullanılarak yapılan biyoliç deneylerinde bakır çözünme verimi 576 saat sonra % 54-32 arasında gerçekleşmiştir. Ancak *Acidithiobacillus thiooxidans* tek başına kullanıldığında bakır çözünme verimi % 10-20 arasında elde edilmiştir. Bu durum bakterilerin  $Fe^{2+}$ 'yi  $Fe^{3+}$ 'e dönüştürmesi yani  $Fe^{3+}$ 'ün liç işlemindeki önemini göstermektedir. Biyoliç sistemlerinde bakterilerin en büyük rolü, sülfürlü mineraller için kuvvetli bir oksitleyici reaktif olan  $Fe^{3+}$ 'ün liç ortamında demir oksitleyici bakteriler tarafından üretilmesidir. *Acidithiobacillus thiooxidans* sadece sülfürü oksitleyen bakteri olmasından dolayı biyoliç deneyinde  $Fe^{2+}$ 'nin  $Fe^{3+}$ 'e oksitlenmesi kimyasal olarak çok yavaş gerçekleşmektedir. Bu nedenle *Acidithiobacillus thiooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerinde elde edilen bakır çözünme verimleri, kontrol deneylerinde meydana gelen bakır çözünme verimleri ile yaklaşık aynı değerlerdedir.

Şekil 1 ve 2'de görüldüğü üzere bakteriler ile yapılan biyoliç deneylerinde süre artışıyla pH düş-

mektedir. Ancak bakteri içermeyen kontrol deneylerinde ise pH'da bir düşme olmamaktadır. Kontrol deneylerinde pH'ın düşmemesine karşın, bakteriler ile yapılan biyoliç deneylerinde pH'ın düşmesi piritin oksitlendiğinin dolayısıyla bakteriyel aktivitenin bir göstergesidir. 3 no'lu reaksiyonda görüldüğü üzere piritin bakteriyel oksidasyonu sonucu ferrik sülfat ( $Fe_2(SO_4)_3$ ) ve sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ) oluşmaktadır. Sülfürik asitin oluşması liç çözeltisinin pH'ının düşmesine neden olmaktadır. Ayrıca piritin bakteriyel (*Leptospirillum ferrooxidans*) oksidasyonu sonucu oluşan ferrik demir kalkopiriti oksitleyerek bakırın çözünmesini sağlamaktadır.

Prosesin ekonomikliğı ve etkinliğı bakterilerin aktivitesine ve cevherin mineralojik ve kimyasal bileşimine büyük ölçüde bağlıdır. Bu nedenle tek bir tip cevher üzerinde test edilmiş prosesler diğer cevherlere taşınmaz. Teknik bir uygulamadan önce farklı tip sülfürlü cevherler için optimum liç koşullarının ayrıntılı bir şekilde laboratuvar ortamında belirlenmesi gerekmektedir.





Şekil 4. *Acidithiobacillus thiooxidans* ile yapılan biyoliç deneylerinde katı oranının metal çözünme verimine etkisi: (a) %1 katı oranı, (b) %2 katı oranı, (c) %3 katı oranı, (d) %5 katı oranı.

Figure 4. Effect of pulp density on metal recovery during bioleaching tests with *Acidithiobacillus thiooxidans*: (a) 1% w/v pulp density, (b) 2% w/v pulp density, (c) 3% w/v pulp density, (d) 5% w/v pulp density.

## KATKI BELİRTME

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi BIOMIN Group çalışanları tarafından desteklenen ve 2000-2003 yılları arasında değişik proje ve tez çalışmalarının yayınlanmamış sonuçlarından oluşmaktadır. Çok disiplinli bu araştırma kapsamında yazarlar; Eti Bakır A.Ş. çalışanlarına, Prof.Dr. Güleren ALSANCAK'a ve S.D.Ü. Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda görevli tüm personele, mikrobiyoloji konusunda bilgilerinden yararlanan Prof. Dr. Aynur KARAHAN'a ve Dr. Osman SAĞDIÇ'a, analizlerde yardımlarına başvuru Ögr. Gör. A. Namık GÜNEŞ'e teşekkür ederler.

## KAYNAKLAR

Ahonen, L., and Tuovinen, O.H., 1989. Effect of temperature on the microbiological leaching of sulfide ore material in percolators containing chalcopyrite, pentlandite, sphalerite, pyrrhotite as main minerals. *Biotechnology Letters*, 11, 31-336.

Akçıl, A., 2002. A preliminary research of acid pressure leaching of pyritic copper ore in Küre Copper Mine, Turkey. *Minerals Engineering*, 15(12), 1193-1197.

Akçıl, A., 2003. Sülfürlü cevherlerden *Acidithiobacillus ferrooxidans* ile bakır kazanımı, Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma Projeleri Yönetim Birimi, Proje No: 560.

Akçıl, A., and Çiftçi, H., 2003a. Metals recovery from multimetal sulphide concentrates (CuFeS<sub>2</sub>-PbS-ZnS): Combination of thermal process and pressure leaching. *International Journal of Mineral Processing*, 72(1-4), 327-334.

Akçıl, A., and Çiftçi, H., 2003b. Küre bakır cevherinin bakteriyel liçi. *Madencilik Dergisi* (basımda).

Akçıl, A., and Çiftçi, H., 2003c. Mezofilik bakteriler kullanılarak bakır cevherlerinin biyoliçi: *Acidithiobacillus ferrooxidans* ve *Leptospirillum ferrooxidans*'ın oksidasyon kapasitesi. *Geosund/Yerbilimleri Dergisi* (basımda).

Bailey, A.D., and Hansford, G.S., 1993. Factors affecting the biooxidation of sulphide minerals at high concentrations of solids: a review. *Biotechnology and Bioengineering*, 12(10), 1164-1174.

- Bevilaqua, D., Leite, A.L.L.C., Garcia, O., and Tuovinen, O.H., 2002. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. *Process Biochemistry*, 38, 587-592.
- Bosecker, K., 1987. Microbial leaching. In: *Fundamentals of Biotechnology*, P. Prëve, U. Faust, W. Sittig, D.A. Sukatsch, (eds.), Chapter 17, 661-683.
- Bosecker, K., 1997. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 20, 591-604.
- Brierley, C.L., 1995. Bacterial oxidation. *Engineering Mining Journal*, 196, 42-44.
- Brierley, C.L., 2001. Bacterial succession in bioheap leaching. *Hydrometallurgy*, 59, 249-255.
- Brierley, J.A., and Brierley C.L., 2001. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, 59(2-3), 233-239.
- Çiftçi, H., 2003. Asidofilik bakteriler yardımıyla kalkopirit biyolojinde katı oranının etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 121 s.
- Deveci, H., 2002. Effect of solids on viability of acidophilic bacteria. *Minerals Engineering*, 15, 1181-1189.
- Deveci, H., Akcıl, A., and Alp, I., 2003. Parameters for control and optimization of bioleaching of sulphide minerals. In: *International Symposium Process Control and Optimization in Ferrous and Non Ferrous*, F. Kongoli, B. Thomas, K. Sawamiphakdi, (eds.), November, Chicago, USA, 9-12.
- Dutrizac, J.E., 1981. The dissolution of chalcopyrite in ferric sulfate and ferric chloride media. *Metallurgy Transactions* 12B, 371-378.
- Dutrizac, J.E., 1989. Elemental sulphur formation during the ferric sulphate leaching of chalcopyrite. *Canadian Metallurgical Quarterly*, 28(4), 337-344.
- Dutrizac, J.E., and MacDonald, R.J.C., 1974. Ferric iron as a leaching medium. *Mineral Science Engineering*, 6(2), 59-100.
- Ehrlich, H.L., 1996. *Geomicrobiology*. Dekker, New York.
- Garcia Frutos, F.J., 1998. Bacterial leaching of minerals. In: *Mineral Processing and the Environment*, G.P. Gallios and K.A. Matis, (eds.), Kluwer Academic Publishers, 43-72.
- Hiro Yoshi, N., Hirota, M., Hirajima, T., and Tsunekawa, M., 1999. Inhibitory effect of iron-oxidising bacteria on ferrous-promoted chalcopyrite leaching. *Biotechnology and Bioengineering*, 64, 478-483.
- Hiskey, J.B., and Wadsworth, M.E., 1975. Galvanic conversion of chalcopyrite. *Metallurgy Transaction*, 6B, 183-190.
- Kawatra S.K., and Natarajan K. A., 2001. *Mineral Biotechnology*. Society for Mining, Metallurgy and Exploration, 263 pp.
- Markosyan, G.E., 1972. Ein neues eisenoxidierendes bacterium – *Leptospirillum ferrooxidans* nov. gen. nov. spec. Translated from: *Akad. Nauk Armj. SSR Biol. Z. Armen. Bol.* XXV, 26-29.
- Nemati, M., and Harrison, S.T.L., 2000. Effect of solid loading on thermophilic bioleaching of sulfide minerals. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 75, 526-532.
- Pooley, F.D., 1987. Mineral leaching with bacteria. In: *Environmental Biotechnology*, F.F. Christopher and D.A. John, (eds.), Ellis Horwood Ltd. Publishers, John Wiley and Sons, 114-134.
- Pooley, F.D., 1998. The role of biohydrometallurgy in mineral processing. In: *Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Mineral Processing Symposium, Innovations in Mineral and Coal Processing*, Istanbul, Turkey, 435-446.
- Rossi, G., 1990. *Biohydrometallurgy*. New York, McGraw-Hill.
- Seifelnassr, A.A.S. ve Abouzeid, A.Z.M., 2000. Cevher hazırlamada yeni eğilimler: bakteriyel aktivitelerin kullanımı. *Ore Dressing/Cevher Hazırlama*, 4, 17-41.
- Suzuki, I., 2001. Microbial leaching of metals from sulfide minerals. *Biotechnology Advances*, 19, 119-132.
- Third, K.A., Cord-Ruwisch, R., and Watling, H.R., 2000. The role of iron-oxidizing bacteria in stimulation or inhibition of chalcopyrite bioleaching. *Hydrometallurgy*, 57, 225-233.
- Tipre, D.R., Vora, S.B., and Dave, S.R., 1999. Comparative copper and zinc bioextraction at various stages of scale up using *T. ferrooxidans* consortium. In: *Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21<sup>st</sup> Century*, R. Amils and A. Ballester (eds.), Part A (Bioleaching, Microbiology), 159-166.
- Torma, A.E., 1977. The role of *Thiobacillus ferrooxidans* in hydrometallurgical processes. *Advances in Biochemical Engineering*, 6, 1-37.
- Tshilombo, A.F., Petersen, J., and Dixon, D.G., 2002. The influence of applied potentials and temperature on the electrochemical response of chalcopyrite during bacterial leaching. *Minerals Engineering*, 15, 809-813.
- Waksman, S.A., and Joffe, I.S., 1922. Microorganisms concerned with the oxidation of sulphur in soil. II. *Thiobacillus thiooxidans*, a new sulphur oxidising organism isolated from the soil. *Journal of Bacteriology*, 7, 239-256.