

Přednáška

ÚPRAVA BAUXITU A KERAMICKÝCH SUROVIN BAKTERIEMI A MIKROSKOPICKÝMI HOUBAMI

ZDENĚK BOROVEC

Katedra petrologie, přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Albertov 6, 128 43 Praha 2

ÚVOD

Mikrobiologická destrukce silikátů a alumosilikátů je známa mnoho let. V současné době se výzkum zaměřuje na studium

- a) selektivní extrakce křemíku s cílem obohatit reziduum hliníkem,
- b) selektivní extrakce hliníku,
- c) odstranění nežádoucích barvicích komponent, především sloučenin železa a titanu a

- d) zlepšení technologických vlastností některých nerudných surovin.

Cílem je ekonomické zhodnocení nekvalitních, chudých nebo odpadních surovin a zavedení nových netradičních postupů úpravy pro metalurgický a keramický průmysl.

Pro řešení uvedených problémů je snahou nalézt specifické mikroorganismy schopné v krátké době destruovat silikáty a alumosilikáty. Proto je věnována pozornost výběru a pěstování ušlechtilých kultur mikroorganismů s vyšší produktivitou, než mají přírodní („divoké“) mikroorganismy. Přizpůsobováním bakterií a mikroskopických hub silikátům se podařilo získat kultury, které úspěšně rostou v prostředí, ve kterém přírodní mikroorganismy jsou málo aktivní nebo zcela neaktivní. Vypěstovanými kulturami je možno dosáhnout rychlejšího průběhu loužení a vyšší výtěžnosti.

BAKTERIE

Při úpravě nerudných surovin jsou neúčinnějšími mikroorganismy „silikátové“ bakterie (obr. 1). Systematické zařazení těchto mikroorganismů je stále problematické. Zpočátku byly považovány za specifickou skupinu mikroorganismů se schopností biodegradace silikátů a alumosilikátů [1]. Výzkumy však ukázaly, že „silikátové“ bakterie jsou velkou skupinou „slizových fází“ náležející patrně určitým druhům rodu *Bacillus* [2], zejména dobře známých půdních bakterií druhu *Bacillus circulans* [3], které byly popsány již v roce 1890 Jordanem. Jiní autoři je zařazují spíše ke druhu *Bacillus mucilaginosus*. „Silikátové“ bakterie však netvoří samostatnou skupinu z hlediska mikrobiologické systematiky.

Druh *Bacillus circulans* je značně heterogenní skupinou. Je doposud málo známo o rozdílech mezi jednotlivými kmeny z hlediska jejich schopnosti destruovat silikáty a o podmínkách jejich růstu. Účinek těchto bakterií na silikáty a alumosilikáty je enzymatické i neenzymatické povahy. Na rozdíl od jiných mikroorganismů je požadavek křemíku pro jejich růst tak výrazný, že jsou běžně označovány jako „silikátové“ bakterie.

Tabulka I

Charakteristika některých bakterií používaných při biodegradaci silikátů a alumosilikátů [40—42]

Čeleď	Rod	Charakteristika
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	gramnegativní; aerobní; chemoorganotrofní; užívají CO nebo H ₂ jako zdroj energie; tvoří přímé nebo zakřivené tyčinky
Holobacteriaceae	<i>Acetobacter</i>	gramnegativní; aerobní; chemoorganotrofní; energii získávají pochody aerobní respirace; buňky elipsoidní až tyčinkovité, přímé nebo slabě zakřivené rozměru 0,6—0,8 μm × 1,0 až 3,0 μm, jednotlivě, v párech nebo řetězcích; neurčité zařazení
	<i>Alcaligenes</i>	gramnegativní; obligátně aerobní; chemoorganotrofní; tvoří tyčinky nebo koky velikosti 0,5—1,2 μm × 0,5—2,6 μm; neurčité zařazení
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>	má jediný druh <i>Escherichia coli</i> ; gramnegativní; aerobní a fakultativně aerobní; chemoorganotrofní; energii získává pochody aerobní respirace; <i>E. coli</i> roste dobře na jednoduchých syntetických půdách
	<i>Enterobacter</i>	gramnegativní; aerobní; fakultativně anaerobní; chemoorganotrofní; tvoří tyčinky
Vibrionaceae	<i>Aeromonas</i>	gramnegativní; chemoorganotrofní; fakultativně anaerobní; energii získávají pochody aerobní respirace nebo kvašením; tvoří tyčinky přímé nebo zakřivené, většinou pohyblivé
Micrococcaceae	<i>Micrococcus</i>	gramnegativní koky; obligátně aerobní; energii získává pochody aerobní respirace; velikost 0,5—3,5 μm; vyskytují se jednotlivě nebo ve shlucích; chemoorganotrofní
Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	grampozitivní sporulující; obligátně aerobní; fakultativně nebo obligátně aerobní; chemoorganotrofní; tvoří endospóry; buňky pohyblivé pomocí peritrichálních bičků; tvar tyčinek
Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	grampozitivní koky; chemoorganotrofní; fakultativně anaerobní; tvoří páry, tetrakoky nebo řetězky; nepohyblivé; energii získávají kvašením např. sacharidů na kys. mléčnou, octovou, mravenčí, CO ₂
Rhizobiaceae	<i>Agrobacterium</i>	gramnegativní; obligátně aerobní; chemoorganotrofní; energii získávají pochody aerobní respirace; tvoří tyčinky dlouhé až 3 μm značně pleomorfní, mají 2 až 6 peritrichálních bičků

Tabulka I — pokračování

Čeleď	Rod	Charakteristika
Nitrobacteraceae	Thiobacillus	gramnegativní; obligátně aerobní, s výjimkou <i>T. denitrificans</i> , který roste anaerobně a využívá jako akceptoru elektronů kyslík z nitrátů; mezofilní; acidofilní; chemolitotrofní; CO ₂ je zdrojem C pro stavbu biomasy; <i>T. ferrooxidans</i> oxiduje Fe (II) a sloučeniny S; je tyčinkovitého tvaru 1,5—2 μm × 0,5 μm; nesporulující; 1 polární bičík; jako jedinci, v párech nebo krátkých řetězcích; <i>T. thiooxidans</i> oxiduje S a její sloučeniny; <i>T. thiooxidans</i> a <i>T. ferrooxidans</i> se morfologicky neliší

„Silikátové“ bakterie druhu *Bacillus circulans* jsou jednobuněčné mikroorganismy tyčinkovitého tvaru o rozměrech 2—5 × 0,7—1,5 μm (obr. 1). Nemají ohraničené jádro a až na malé výjimky jim dodávají pevné nebo téměř pevné buněčné stěny konstantní tvar. Tvar a velikost kolonií rostoucích na silikátech závisí na složení živného roztoku [4].

Jedna nebo několik buněk je pokryto slizovým pouzdrém obsahujícím křemík. Jejich velikost se pohybuje v rozmezí 5—10 × 7—20 μm. Neobsahuje-li živná půda dusík, vznikají v silikátovém prostředí kolonie připomínající lesklé skleněné knoflíky.

„Silikátové“ bakterie jsou heterotrofní mikroorganismy. To znamená, že ke stavbě těla potřebují organickou hmotu jako zdroj uhlíku a energie.

Byla izolována řada těchto bakterií, které k optimálnímu růstu potřebují křemík a pravděpodobně i hliník [5, 6]. Nejvhodnějšími organickými substráty jsou glukóza a sacharóza. Z těchto cukrů vznikají metabolicky během růstu bakterií různé organické kyseliny, zejména kyselina šavelová, citrónová, u některých kmenů též mravenčí, jablečná, fumarová, jantarová a aminokyseliny [7], které jsou vyměšovány do okolního prostředí. Jsou však známy i kmeny „silikátových“ bakterií, které produkují kyseliny i v anaerobním prostředí (tj. nepotřebují k životu vzdušný kyslík). Pro výživu vyžadují některé minerální látky (dusík, fosfor, draslík aj.), které získávají jednak ze živného roztoku, mnohdy však zcela postačuje množství získané biodegradací minerálů.

Tyto bakterie optimálně rostou v neutrálním (pH 7) nebo slabě kyselém prostředí. Některé kmeny jsou však aktivní i v prostředí pod pH 4,5.

Stručná charakteristika ostatních bakterií, o nichž pojednává článek, je uvedena v tab. I.

MIKROSKOPICKÉ VLÁKNITÉ HOUBY

Druhou skupinou mikroorganismů, která intenzívně narušuje strukturu silikátů a aluminosilikátů extrakcí křemíku, hliníku a ostatních prvků do roztoku nebo do koloidního stavu jsou některé druhy mikroskopických hub (obr. 2) různých rodů, např. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Scopulariopsis*, *Fusarium*, *Cladosporium*.

Tyto houby jsou též heterotrofními mikroorganismy, ale mají na rozdíl od bakterií relativně složitější růstový cyklus. Jejich vegetativní stélka (thallus) je tvořena velkým počtem značně rozvětvených vláken (hyf), které vrůstají do živného substrátu nebo zůstávají na povrchu, odkud čerpají výživu.

Aktivita mikroskopických hub z hlediska produkovaných organických kyselin závisí na složení prostředí. Na rozklad silikátů a alumosilikátů působí neaktivněji takové druhy hub, u nichž hlavními metabolickými produkty jsou kyselina citrónová a šťavelová.

ÚPRAVA BAUXITU

Hlavní nečistotou bauxitů je křemen a alumosilikáty. Bakterie druhu *Bacillus circulans* uvolňují z alumosilikátů v prostředí glukózy křemík. Je to způsobeno produkcí různých metabolitů, hlavně organických kyselin. Přitom kolem buněk bakterií vzniká slizové pouzdro.

Úprava bauxitu se provádí ve vodné suspenzi o koncentraci 10–15 % pevné fáze obsahující $5 \cdot 10^8$ buněk „silikátových“ bakterií v 1 ml při teplotě 30–35 °C a pH 5,5–6,0 [8]. Do extrakčního roztoku přechází hlavně křemík a malé množství hliníku, čímž se zvýší křemíkový modul bauxitu ($M_s = \text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$). Účinek bakterií *Bacillus circulans* na křemen-kaolinit-gibbsitový bauxit o složení 43,4 % Al_2O_3 , 25,9 % SiO_2 a 2,3 % Fe_2O_3 je uveden v tab. II. Bauxit byl loužen kontinuálně v několika nádobách zvláštním postupem (podrobněji viz [8]), tak, aby bylo zamezeno inhibici bakterií produkty jejich metabolismu a produkty biodegradace alumosilikátů. Po desetidenní kultivaci se obsah SiO_2 v tomto bauxitu snížil na 10,4 %, tedy o 60 % z původního obsahu, a množství hliníku v pevném reziduu vzrostlo na 62,8 %, tedy o více než 69 % Al_2O_3 . V roztoku bylo pak zjištěno 47,4 % vylouženého SiO_2 a 16,5 % Al_2O_3 . To znamená, že po biodegradaci bauxitu zůstala v pevném reziduu téměř čtvrtina z původního obsahu SiO_2 (tj. 23,3 %) a tři čtvrtiny (tj. 76,7 %) SiO_2 přešly do roztoku. Tím došlo k výraznému obohacení rezidua o hliník.

Protože tyto bakterie jsou typicky heterotrofními mikroorganismy, nemohou růst pouze v anorganickém prostředí. Při extrakci křemíku je přidáváno kolem 5–15 mg/l glukózy nebo sacharózy a také nezbytné minerální soli. Vliv uvedených

Tabulka II

Účinek bakterií *Bacillus circulans* na bauxit 10–15 % suspenze bauxitu v roztoku o pH 5,5–6,0, teplota při extrakci byla 30 °C, $5 \cdot 10^8$ buněk „silikátových“ bakterií v 1 ml, doba extrakce byla 10 dnů, Ashbyho živné médium s 1% glukózy, 100 ml suspenze buněk/10 g bauxitu [8]

Materiál	Složka, %		Relativní podíl složek, %		M_s
	SiO_2	Al_2O_3	SiO_2	Al_2O_3	
Původní bauxit	25,9	43,4	100	100	1,7
Pevné reziduum	10,4	62,8	23,3	84,1	6,0
Roztok	47,4	16,5	76,7	15,9	—

Tabulka III

Vliv prostředí na extrakci křemíku a hliníku z bauxitu.

Podmínky extrakce jsou obdobné jako u tab. I s tím, že loužení bylo provedeno bez kontinuálního odstraňování produktů metabolismu [8]

Složení suspenze	Extrakce, %	
	SiO ₂	Al ₂ O ₃
Živná půda bez bakterií	0,23	0,48
„Silikátové“ bakterie bez glukózy a minerálních solí	1,22	0,06
„Silikátové“ bakterie + 1 % glukózy	55,40	14,94
„Silikátové“ bakterie + 1 % glukózy + minerální soli	63,14	17,02

složek na růst bakterií, a tím na intenzitu biodegradace je patrný z jiného experimentu, jehož výsledky jsou uvedeny v tab. III.

Bakteriálním odstraněním nežádoucích složek z bauxitu se zvýšil křemíkový modul více než 3,5krát, kdežto nejčastěji používanou flotací pouze 1,3krát.

Na intenzitu bakteriální degradace má značný vliv složení bauxitu. V počáteční fázi loužení koalinit-gibbsitových bauxitů a ostatních allitů se rozkládá kaolinit. Uvolněný hliník přechází do roztoku a pouze z malé části vzniká novotvořený gibbsit. Až teprve po dlouhodobém působení bakterií je veškerý hliník vysrážen.

Z boehmit-chamositových bauxitů je nejprve bakteriemi extrahován hliník z chamositu za vzniku gibbsitu. Po dvaceti dnech přechází téměř veškerý hliník do roztoku [9].

Z dostupných literárních údajů vyplývá, že nejintenzivněji jsou bakteriemi narušovány strukturně složitější alumosilikáty (např. chamosit). Teprve po jejich úplném, nebo téměř úplném rozkladu dochází k biodegradaci kaolinitu. Obsahuje-li hornina převážně kaolinit, je degradován současně s chamositem, ale celý proces je velmi pomalý.

Vliv minerálního složení bauxitů na intenzitu extrakce je dobře patrný z tab. IV.

Mikrobiální extrakcí uvolněný hliník může být získán ve formě Al(OH)₃ nebo AlCl₃ · 6 H₂O a pak jako oxid hlinitý kalcinací těchto sraženin. Vedlejším pro-

Tabulka IV

Extrakce hliníku „silikátovými“ bakteriemi z různých druhů bauxitů [9]

Bauxit	Množství vylouženého hliníku (jako % Al ₂ O ₃)	Rozdělení hliníku mezi roztok a pevnou fázi		Doba extrakce, dny
		% Al ₂ O ₃ v roztoku	% Al ₂ O ₃ v gibbsitu	
kaolinit-gibbsitový	40,5	43,0	57,0	25
boehmit-chamositový	84,0	56,8	43,2	21

duktem jsou organické kyseliny [3] vhodné pro další průmyslové zpracování. K tomuto účelu se zvláště hodí produkty mikroskopické vláknité houby *Aspergillus niger*, kdy po biodegradaci zůstává v roztoku dostatečné množství kyseliny citrónové.

Z provozního hlediska se zdají být nejperspektivnějšími pro úpravu bauxitu bakterie druhu *Bacillus circulans*.

BIODEGRADACE JÍLOVÝCH MINERÁLŮ

Heterotrofní bakterie (např. *Pseudomonas* sp., některé kmeny *Bacillus circulans*) a mikroskopické vláknité houby (např. některé kmeny *Aspergillus niger*, *Penicillium simplicissimum*) metabolicky produkující hlavně kyselinu šťavelovou a citrónovou jsou důležitými degradačními mikroorganismy jílových minerálů. Množství extrahovaného hliníku závisí na koncentraci produkovaných organických kyselin. Dioktaedrické minerály kaolinit, halloysit, illit a montmorillonit jsou stabilnější vůči účinkům mikroorganismů než trioktaedrické minerály, jako vermikulit a nejilové minerály skupiny serpentinu.

Podle Berthelina [10] klesá stabilita jílových minerálů působením mikroorganismů v pořadí:



Velmi aktivními extrakčními roztoky při biodegradaci jílu a kaolínů jsou metabolické produkty houby druhu *Aspergillus niger*, kultivované v živném roztoku o složení 3 g NH_4NO_3 , 1 g KH_2PO_4 , 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ v 1 litru a kolem 10 g/l hydrolyzátu melasy jako zdroje uhlíku a energie pro produkci loužičího roztoku [11]. Kultivace při 30 °C a pH 7 byl získán za 5—14 dnů (doba závisí na způsobu kultivace a koncentraci melasy) produkt o pH nižším než 2, který obsahoval více než 35 g/l organických kyselin, z nichž z 95 % převažovaly kyselina šťavelová a citrónová. Po oddělení biomasy membránovou filtrací byl získán loužičí roztok o pH 1,7, který po tříhodinové extrakci při 90 °C vyloužil z termicky aktivovaných jílu a kaolínů (tj. žháných při 650 °C po dobu 2 h a rychle zchlazených) 28—37 % Al_2O_3 . Účinek tohoto roztoku se ještě zvýšil jeho okyselením na pH 0,5 minerálními kyselinami (kyselinou sírovou, chlorovodíkovou a fosforečnou, každá o koncentraci 1—2 %) a přidáním 0,5—2 % KNO_3 . Takto upravený roztok byl schopen vyloužit za 3 hodiny z jílu a kaolínů 53—72 % Al_2O_3 .

Jak je patrné z dat v tab. V, není loužičí účinek extrakčního roztoku způsoben pouze hlavními složkami metabolických produktů a ostatními přidávanými látkami, neboť synteticky připravené roztoky o stejném složení a koncentraci vylouží pouze 35—49 % Al_2O_3 . To znamená, že v roztocích produkovaných mikroorganismem jsou ještě další, doposud neidentifikované sloučeniny, které značně zvyšují extrakční účinnost metabolitů.

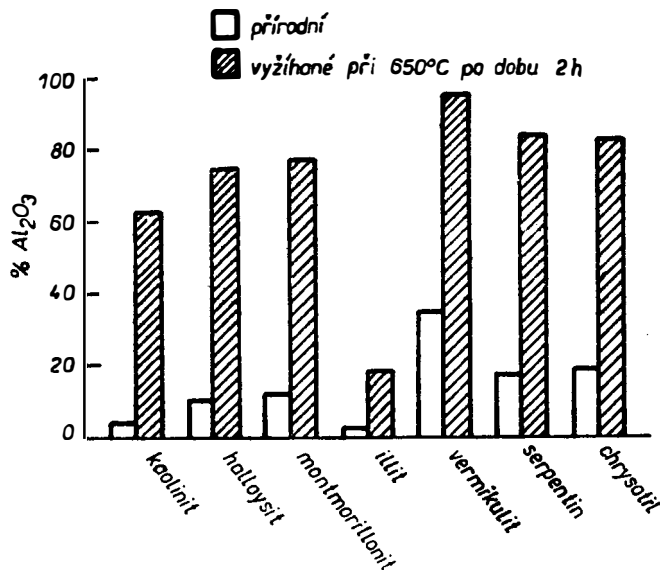
Rozdíly ve stabilitě minerálů a jílu v přírodním stavu a po jejich termické aktivaci jsou značné (obr. 3). Množství vylouženého hliníku metabolickými produkty houby *A. niger* po přísavku H_2SO_4 v prostředí o pH 0,5 za 4 hodiny extrakce při 90 °C je více než 15krát nižší u přírodního kaolinitu než u termicky aktivovaného (62,8 % vylouženého Al_2O_3 proti 4,1 % Al_2O_3), u halloysitu a montmorillonitu 7krát, u illitu 6krát a u vermikulitu téměř 3krát nižší. Stabilita jílových minerálů

Tabulka V

Množství extrahovaného hliníku (jako % Al_2O_3) za 3 hodiny z vyžíhaných jííl a kaolínů různými roztoky při 90 °C [11]

Extrakční roztok	Kaolín	Jíl (kaolinit a halloysit)	Jíl (kaolinit a illit)
10 % HCl	27,2	35,0	30,5
Minerální kyseliny + 1 % KNO_3 pH 0,5	22,2	30,2	23,5
Kyselina citrónová*) + kyselina šťavelová*) + 1 % KNO_3 , okyseleno minerálními kyselinami na pH 0,5	35,0	49,1	42,5
Produkt metabolismu houby <i>A. niger</i> *) pH 1,7	28,4	37,4	34,1
Produkt metabolismu <i>A. niger</i> + 1 % KNO_3 , okyseleno minerál. kyselinami na pH 0,5	55,4	72,1	64,4

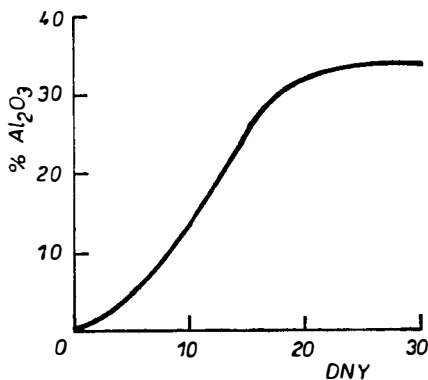
*) Celková koncentrace kyseliny citrónové, šťavelové a koncentrace organických kyselin v metabolitech *A. niger* byla 35 g/l.



Obr. 3. Extrakce hliníku (jako Al_2O_3) houbou druhu *Aspergillus niger* z minerálů v přírodním stavu a po jejich vyžíhání při 650 °C po dobu 2 hodin. Doba extrakce byla 4 hodiny, pH prostředí 0,5 a teplota 30 °C (z dat [11]).

v přírodním stavu a po jejich vyžhání při 650 °C po dobu 2 hodin klesá v řadě [11]: illit > kaolinit ≫ halloysit > montmorillonit ≫ vermikulit.

Rozdíly ve stabilitě minerálů se projeví i u hornin. Po účinku produktů metabolismu mikroskopické vláknité houby *A. niger* [12] na termicky aktivovaný jíl, obsahující převážně kaolinit a malé množství halloysitu, bylo za 90 minut extrahováno 65,3 % Al_2O_3 . K extrakci stejného množství hliníku z tétož jilu v přírodním stavu bylo třeba 51 hodin.



Obr. 4. Průběh extrakce hliníku (jako % uvolněného Al_2O_3) z jilu, obsahujícího z jílových minerálů převážně kaolinit a malé množství illitu houbou druhu *Aspergillus niger* při pH 4 a laboratorní teplotě (podle [13]).

Extrakce železa z přírodního materiálu probíhá rychleji než hliníku, u termicky aktivovaných jílu je tomu naopak. Železo uvolněné biodegradací do extrakčního roztoku má však negativní vliv na loužení hliníku. Tomu lze zabránit pravidelnou výměnou suspenzí bakterií za čerstvé [12].

Z celé řady mikroskopických vláknitých hub, s nimiž byly prováděny experimenty při extrakci jílu, kaolínů i samotných jílových minerálů [13], se zdá být nejaktivnější druh *Aspergillus niger*, produkující při biodegradaci ve vhodném živném prostředí kyselinu galovou, fumarovou, glukonovou, hlavně však kyselinu citrónovou a šťavelovou (tab. VI). Z provozního hlediska je rovněž velmi příznivá kinetika extrakce (obr. 4). Pokles rychlosti loužení jílu tímto druhem houby po 17 až 20 hodinách je patrně způsoben spotřebováním cukrů v živném prostředí.

Na rozdíl od mikroskopických vláknitých hub, heterotrofní bakterie rodů *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Micrococcus* a *Pseudomonas* produkují různé aminokyseliny. Při rozkladu alumosilikátů vznikají kolem bakterií *Acetobacter xylinum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Streptococcus salivarius* slizová pouzdra obsahující polysacharidy. Nejaktivnějšími extrakčními roztoky jsou metabolity bakterie druhu *Pseudomonas aeruginosa*, jejíž buňky tvoří v silikátovém a alumosilikátovém prostředí jak kyseliny, tak i slizová pouzdra při růstu v Pope a Skermanově živném médiu.

Účinek metabolických produktů těchto mikroorganismů, rostoucích ve stejném živném prostředí, na extrakci hliníku a křemíku z bauxitu se značně liší. Tomu nasvědčují výsledky získané extrakcí bauxitu roztoky oddělenými od biomasy [8]. Uvedené mikroorganismy nejprve rostly 5 dnů při 30 °C v Pope a Skermanově živném prostředí, k němuž bylo přidáno 1 % glukózy jako zdroj energie a 0,01 %

Tabulka VI

Extrakce hliníku (jako % Al_2O_3) z jílu, obsahujícího převážně kaolinit a malé množství illitu, různými mikroskopickými houbami. Acidita prostředí byla pH 7,0 teplota extrakce 32 °C, doba extrakce 30 dnů, stacionární podmínky, živné médium Czapka (450 ml/10 g jílu) [13]

Mikroorganismus	% Al_2O_3
Cladosporium cucumerinum	16,0
Mucor mucedo	17,9
Aspergillus niger	32,8
Aspergillus fumaricus	23,2
Aspergillus wentii	22,9
Aspergillus oryzae	20,7
Penicillium chrysogenum	28,1
Penicillium citrinum	27,5
Penicillium expansum	19,4
Penicillium simplicissimum	29,4
Penicillium notatum	22,1
Penicillium luteum	17,9
Trichoderma viride	24,0
Scopulariopsis brevicaulis	28,1
Fusarium moniliforme	25,8
Rhizopus nigricans	20,0
Alternaria sp.	22,9

Tabulka VII

Extrakce křemíku a hliníku z křemen-koalinit-gibbsitového bauxitu jinými mikroorganismy, než jsou „silikátové“ bakterie [8]

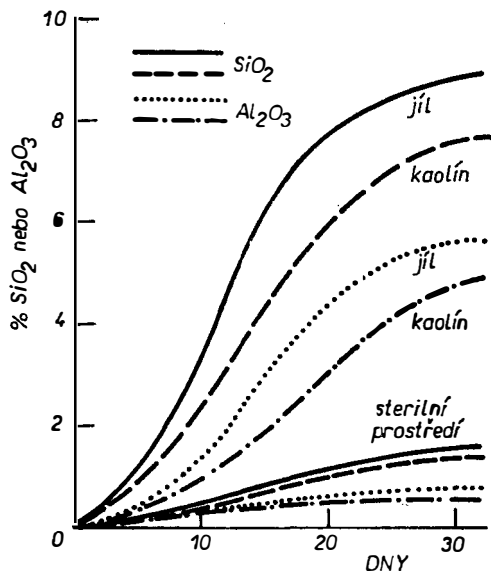
Bakterie	Podíl extrahovaných složek	
	% SiO_2	% Al_2O_3
Alcaligenes paradoxus	0,08	0,12
Bacillus circulans	0,28	1,05
Bacillus macerans	0,08	0,23
Brevibacterium liquefaciens	0,05	0,09
Escherichia coli	0,08	0,12
Micrococcus sp.	0,03	0,09
Pseudomonas sp.	0,10	0,21
Acetobacter xylinum	0,08	0,16
Agrobacterium tumefaciens	0,06	0,15
Bacillus megaterium	0,03	0,07
Bacillus subtilis	0,10	0,28
Pseudomonas aeruginosa	0,41	1,87
Streptococcus salivarius	0,14	0,32

kvasničného extraktu. Po inkubaci byl roztok oddělen od biomasy a použit k extrakci bauxitu v poměru 100 ml roztoku na 10 g bauxitu. Extrakce byla provedena při 30 °C po dobu 5 dnů. Výsledky jsou uvedeny v tab. VII. Loužení bauxitu v prostředí s rostoucími buňkami je však mnohem účinnější než loužení roztokem, který neobsahoval zdroj organického uhlíku a příslušné bakterie.

Biodegradace jílu „silikátovými“ bakteriemi je za stacionárních podmínek rychlejší než houbami. Groudev a Genchev [13] zjistili, že neaktivnějšími jsou bakterie izolované přímo z ložiska jílu určeného k extrakci. Loužícími složkami jsou různé metabolické produkty bakterií, v nichž nikdy nepřevažuje kyselina citrónová jako u mikroskopických hub. Jsou to hlavně různé aminokyseliny, jejichž složení a množství se mění během loužení. Přitom však nebyl zjištěn vztah mezi druhem a množstvím kyselin produkovaných bakteriemi a rychlostí loužení. Rychlost extrakce jílových minerálů je však přímo úměrná rychlosti růstu bakterií a jejich množství v louženém systému.

Groudev a Genchev [13] zjistili, že z jílu obsahujícího převážně kaolinit a malé množství illitu o chemickém složení 35,18 % Al_2O_3 , 50,12 % SiO_2 , 2,93 % Fe_2O_3 , 0,29 % CaO , 0,44 % MgO , 0,93 % K_2O a 0,01 % Na_2O bylo bakteriemi druhu *Bacillus circulans*, izolovaných přímo z ložiska tohoto jílu, extrahováno za 30 dnů při 32 °C a pH 7,0 za stacionárních podmínek 43,7 % Al_2O_3 . Bakteriemi téhož druhu, které byly izolovány z jiného přírodního prostředí, bylo ze stejného jílu extrahováno pouze od 17 do 34 % Al_2O_3 .

Část hliníku, který byl uvolněn ze struktury minerálů biodegradací, přechází na amorfni $\text{Al}(\text{OH})_3$, z něhož vzniká po relativně krátké době gibbsit nebo boehmit.



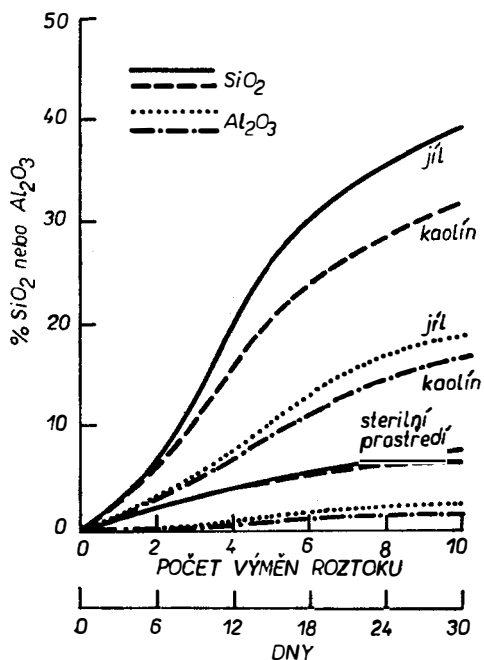
Obr. 5. Loužení křemíku a hliníku „silikátovými“ bakteriemi z kaolínu a jílu. Teplota extrakce byla 28 °C, suspenze byla provzdušňována objemem 1,8–2,0 · 10⁻³ m³ vzduchu za hodinu. Vodná suspenze bakterií o koncentraci 3 % vzhledem k hmotnosti suchého jílu a kaolínu. Sterilním prostředím se rozumí extrakce v prostředí o stejném složení, ale bez bakterií [14].

Tabulka VIII

Změna chemického složení jílu a kaolínu (v hmotn. %) po účinku „silikátových“ bakterií.

Doba extrakce byla 30 dnů, teplota 28 °C, vodná suspenze bakterií o koncentraci 3 % v přepočtu na hmotnost suchého jílu nebo kaolínu. Každý třetí den byla suspenze bakterií nahrazena novou (upraveno podle [14])

Hornina	SiO ₂	Al ₂ O ₃	TiO ₂	Fe ₂ O ₃	FeO	CaO	MgO	K ₂ O	Na ₂ O	Ztráta žíháním
Kaolín původní	46,08	37,83	0,70	0,56	0,46	0,48	0,12	0,31	0,02	13,42
po účinku bakterií	34,20	47,39	0,34	0,21	0,30	0,46	0,21	0,20	—	16,63
Jíl původní	57,43	14,49	0,64	3,37	3,11	5,90	3,26	2,17	1,09	8,24
po účinku bakterií	43,85	28,47	0,33	2,04	1,26	4,10	4,47	1,53	0,98	12,27



Obr. 6. Loužení křemíku a hliníku z kaolínu a jílu „silikátovými“ bakteriemi. Loučící roztok a bakterie byly vždy po 3 dnech nahrazeny novými. Teplota extrakce byla 28 °C, systém byl provzdušňován objemem 1,8—2,0 · 10⁻³ m³ vzduchu za hodinu. Vodná suspenze bakterií o koncentraci 3 % vzhledem k hmotnosti jílu a kaolínu (podle [14]).

Biodegradace jílu a kaolínů probíhá v několika fázích [14]. V prvních dvou dnech po přidavku bakterií dochází k jejich adaptaci. Bakterie se nerozmnožují, a tudíž ani nedochází k alteraci nerostů. Po tomto období dochází k intenzivnímu růstu bakterií, hromadí se produkty metabolismu a po určité době se růst bakterií zpomalí (obr. 5). Po odstranění produktů metabolismu a přidavku nových aktivních suspenzí bakterií (obr. 6) pokračuje destrukce minerálů v původní intenzitě. Po 5 až 6 výměnách poklesne extrakce prvků na minimum. V tab. VIII jsou pro porovnání uvedeny analýzy kaolínu a jílu před a po účinku „silikátových“ bakterií.

Účinkem bakterií na minerály vznikají hydrofilní povrchově aktivní látky, které snižují pevnost kontaktů v agregátech mezi minerály jílové hmoty. Vliv těchto látek je dobře patrný z granulometrické analýzy (tab. IX). Kaolinitový jíl obsahující z jílových minerálů vedle kaolinitu těž trojsíťové minerály je snadněji dispergován ve vodném prostředí než kaolín, protože trojvrstevné minerály mají několikanásobně větší měrný povrch než kaolinit. Proto je na jejich částicích vázáno větší množství povrchově aktivních látek [15].

Naskýtá se možnost získat surovinu o neobvykle vysoké bělosti biodegradací alunitu, $KAl_3(OH)_6(SO_4)_2$, z některých kaolínů hydrotermálního původu, které se vyznačují mimořádně nízkým obsahem barvicích oxidů.

Tabulka IX

Změna velikosti částic kaolinitového jílu [38] a kaolínu [39] po účinku „silikátových“ bakterií. Složení extrakčního roztoku neuvedeno

Hornina	Hmotn. % částic o uvedené velikosti (v mm)				
	0,25—0,05	0,05—0,01	0,01—0,005	0,005—0,001	<0,001
Jíl původní	2,30	1,31	9,33	19,64	67,42
po účinku bakterií	0,56	1,00	1,58	8,96	87,90
Kaolín původní	0,89	27,90	12,53	28,78	29,90
po účinku bakterií	0,45	22,53	10,40	30,14	36,48

ODSTRANĚNÍ ŽELEZA A MANGANU Z JÍLU

Amorfní sloučeniny železa a železo izomorfne zastupující jiné prvky v silikátech a alumosilikátech jsou mikroorganismy snadněji extrahovány do roztoku než jeho krystalové formy. Některé mikroorganismy, jako *Bacillus* sp., *Bacillus circulans*, *Pseudomonas* sp. a *Aspergillus niger* redukuji v oblasti neutrálního pH Fe(III) z nerozpustných sloučenin na Fe(II) ve vodě rozpustné [16].

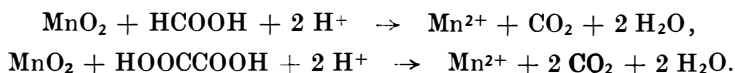
Rozpouštění oxidů železitých různými aerobními bakteriemi a houbami v neutrálním prostředí (pH 7) je dáno účinkem zvláštních chelatačních látek produkovaných organismy, nazývaných siderofory [18]. Jsou to sloučeniny hydro-

xamátové a pyrokatechinové povahy. Schopnost sideroforů rozpouštět oxidy Fe(III) je dána jejich vyšší afinitou pro Fe⁺³ než pro Fe²⁺. Tato schopnost je velmi důležitá pro život těch aerobních mikroorganismů, u nichž je železo esenciálním prvkem. V buněčném obalu mají tyto bakterie zvláštní receptory a transportní systémy, které umožňují přenos chelatovaného Fe(III) do buňky, kde pak redukcí vzniká Fe(II).

Biodegradaci může být z kaolínů odstraněno 8—70 % železa za 30 dnů [17]. Pro převedení železa do roztoku jsou nejvhodnější mikroorganismy produkující v dostatečném množství kyselinu šťavelovou a citrónovou. Účinek těchto kyselin se ještě zintenzivní přidávkem malého množství glukonové kyseliny a některých minerálních kyselin. Optimální acidita prostředí při rozpouštění železa mikrobiální cestou je mezi pH 1,5 až 2,0. Takto lze zbavit křemenného písku až 98 % železa, čímž získá čistotu vhodnou pro jeho použití ve sklářství [19].

V jílech a kaolínech upravených bakteriemi se po vyžhání zvýší obsah mullitu a skelné fáze a značně se sníží obsah cristobalitu. V horninách se sideritem vylučují chemolitotrofní železité bakterie sliz koloidního Fe(OH)₃ jako produkt oxidace FeCO₃ → Fe(OH)₃, během níž se uvolňuje energie nutná pro biosyntetické procesy mikroorganismů.

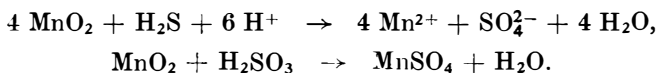
Extrakce manganu z pevné fáze do roztoku je možná bakteriemi druhu *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* a *Aeromonas punctata*, které produkují kyselinu mravenčí, nebo houbami druhu *Aspergillus niger* a *Penicillium* spp. produkující kyselinu šťavelovou. Přitom dochází k neenzymatické redukcí ve vodě nerozpustných sloučenin Mn(IV) na rozpustný Mn²⁺ [16]:



V poslední době je věnována značná pozornost heterotrofní kultuře *Achromobacter delicatulus* [20] redukující velmi intenzivně oxidy Mn(IV). Praktické využití je zatím ve stadiu laboratorního výzkumu.

Oxid mangančitý může být bakteriemi rozpouštěn též enzymaticky [21].

Kultury bakterie *Thiobacillus ferrooxidans* mohou stimulovat rozpouštění MnO₂ při růstu na elementární síře, která vzniká jako produkt oxidace sulfidických minerálů síranem železitým. Přitom vznikají H₂S a H₂SO₃ jako meziproducty metabolismu, které reagují s MnO₂ za vzniku MnSO₄:



BIODEGRADACE OSTATNÍCH MINERÁLŮ

Nejintenzivněji je degradován chamosit a glaukonit, jejichž krystalová struktura se vyznačuje nepravidelnostmi s variabilním chemickým složením. Nejstabilnějším minerálem vůči účinku bakterií je mastek. U vrstevních silikátů stoupá jejich stabilita vůči účinkům produktů metabolismu v řadě:

chamosit ≪ glaukonit < muskovit = kaolinit < montmorillonit < mastek.

Podle studií Boyleho et al. [22, 23] jsou z biotitu extrahovány snáze polyvalentní kationty mikroorganismy, které produkují kyselinu šťavelovou, než mikroorganismy produkující kyselinu citrónovou, malonovou, jablečnou, mléčnou nebo pro-

pionovou. Interakcí nekomplexotvorných metabolitů se slídkami vzniká vermikulit, nebo po účinku na minerál se smíšenou strukturou illit-vermikulit vzniká montmorillonit [24]. Illit a mikroklin se rozkládají obtížněji než glaukonit nebo albit.

Biodegradace minerálů probíhá tím snáze, čím více hliníku je v tetraedrické koordinaci. Kaolinit s pravidelněji uspořádanou strukturou je bakteriemi alterován snáze než kaolinit s nedokonale uspořádanou strukturou.

U sodno-vápenatých živců (plagioklasů) klesá jejich stabilita při biodegradaci se zvyšujícím se obsahem anortitové složky, čili se zvyšujícím se obsahem tetraedrického hliníku. Čím je plagioklas kyselější, tím se snadněji rozkládá. Stabilita plagioklasů proto klesá v řadě [25]:

albit > oligoklas > andesin > labradorit > bytownit > anortit.

Určitý, i když ne tak výrazný vliv na stabilitu plagioklasů má stupeň uspořádání struktury, zjistitelný z rozdílu hodnot rentgenografických difrakcí $\Delta 2\theta_{131-131}$ [26].

■ Produktem bakteriálního rozkladu plagioklasů jsou koagulované gely alfofanové povahy.

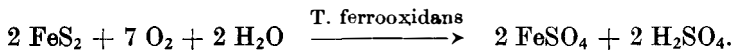
■ Alterace andalusitu, sillimanitu a distenu je při stejném obsahu křemíku přímo úměrná obsahu tetraedrického Al a stoupá v řadě:

disten < andalusit < sillimanit.

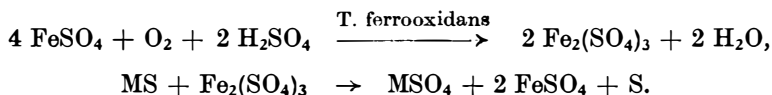
■ U minerálů SiO_2 klesá stabilita s obsahem Al a stupněm krystalinity minerálů, kterou lze zjistit z intenzity dubletu absorpčních páسů metodou infračervené spektroskopie v oblasti $800-780 \text{ cm}^{-1}$ [27]. Amorfni formy SiO_2 (např. opál) nejsou bakteriemi téměř narušovány. Intenzita rozkladu minerálů SiO_2 klesá v pořadí:

křemen > chalcedon > křišťál > amorfni formy SiO_2 .

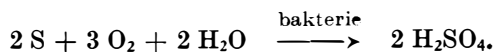
Sulfidické minerály (např. pyrit) je možno ze suroviny též odstranit enzymatickou oxidací thiobakteriemi *Thiobacillus ferrooxidans*, kdy produktem je ve vodě rozpustný síran železnatý [28—29]:



Vzniklý síran železnatý je enzymaticky oxidován bakteriemi *T. ferrooxidans* na síran železitý, který pak oxiduje i v nepřítomnosti kyslíku a živých bakterií většinu sulfidických minerálů [30], včetně pyritu:



Vzniklá elementární síra je dále oxidována biokatalyticky bakteriemi *T. ferrooxidans* a *T. thiooxidans* (obr. 7) nebo jinými bakteriemi tolerantními ke kyselému prostředí na kyselinu sírovou:

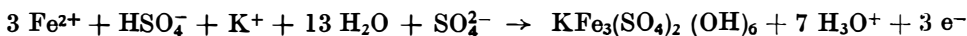


Kyselina sírová vytváří vhodné prostředí pro růst a množení bakterií oxidujících železo a rozpouští v surovinách některé oxidy a karbonáty. Klíčovými enzymy při oxidaci železnatých iontů bakteriemi *T. ferrooxidans* jsou Fe^{2+} -cytochrom-c-

-oxidoreduktáza, cytochrom *a* a koenzym *Q*. Počátečním příjemcem elektronů je protein rustyceyanin, obsahující měď.

Enzymatická oxidace FeSO_4 vzdušným kyslíkem za přítomnosti bakterií *T. ferrooxidans* jako biokatalyzátorů je přibližně 10⁶krát rychlejší než tatáž oxidace ve sterilním prostředí (bez bakterií).

Při této biodegradaci vznikají bazické sírany jarosit, natrojarosit nebo amonium-jarosit snižující bělost finálního produktu [31—33]:



VZNIK MEZIVRSTEVNÍCH KOMPLEXŮ

Proniknutí metabolických produktů mikroorganismů mezi základní dvojvrství kaolinitu nebylo experimentálně potvrzeno. Mezivrstevní komplexy kaolinitu vznikají pouze přímou reakcí se silně polárními organickými sloučeninami, které vytvářejí vodíkové vazby s bazálními hydroxidovými skupinami a s povrchovými kyslíky minerálu [34]. Solvatační energie těchto molekul musí být tak vysoká, aby překonala pevnost vodíkových vazeb mezi vrstvami kaolinitu. Proto mohou vznikat komplexy kaolinitu s močovinou, projevující se posunem RTG linií $d(001)$ z 0,71—0,72 nm na 1,072 nm, nebo s hydrazinem za vzniku $d(001) = 1,042$ nm a formamidem s $d(001)$ při 1,003 nm. Organické látky s mezomerní strukturou, např. dimetylsulfid, vytvářejí komplex s $d(001) = 1,118$ nm. Posledně uvedená reakce je též s úspěchem používána pro identifikaci malých množství kaolinitu vedle chloritu. Schopnost tvořit komplexy mají též některé sole mastných kyselin s krátkým řetězcem, alkalické a amonné sole kyseliny octové [35]. Tyto sloučeniny dávají komplexy s kaolinitem, u nichž $d(001)$ je v rozsahu 1,15—1,30 nm nebo v případě jejich hexahydrátů je $d(001) = 1,40$ až 1,45 nm [36].

Proniknutí organických sloučenin mezi dvojvrství kaolinitu a vznik organo-jílových komplexů lze označit jako mezistadium možné „delaminace“ krystalů. Vznik organo-jílových komplexů podporuje hypotézu o výrobě jemného porcelánu ve středověké Číně [37].

Kaolín těžený v té době z vysokého horského hřebenu Kao-ling, nedaleko Jeuchau Fe v provincii Kiangsi, po smíchání s lidskou močí reagoval po dlouhou dobu s močovinou za aktivního působení „silikátových“ bakterií. To umožnilo penetraci močoviny a příbuzných sloučenin do mezivrstevních prostor kaolinitu. Oslabením vodíkových vazeb ve struktuře minerálu klouzaly při hnětení plastické hmoty po sobě silikátové vrstvy kaolinitu. Výsledná hmota pak obsahovala krystaly kaolinitu o velmi malé tloušťce s dobrými reologickými vlastnostmi.

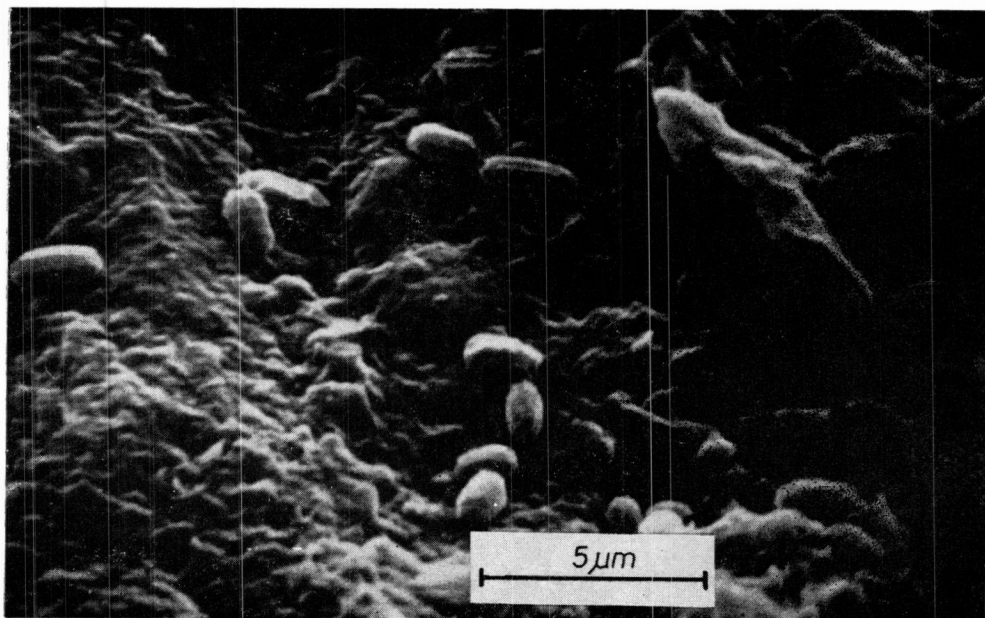
ZÁVĚR

Řízená biodegradace silikátů a alumosilikátů je vhodnou cestou umožňující uspokojit poptávku po stále ubývajících zdrojích kvalitních surovin hliníku a vhodných keramických a sklářských surovinách. Před zavedením tohoto způsobu úpravy ve větším měřítku je nutno dořešit řadu důležitých problémů z oblasti mikrobiologie. Týká se to jednak izolace nových kmenů, výběru a pěstování ušlechtilých kultur mikroorganismů s vysokou produktivitou, které by byly vhodné pro biodegradaci silikátů a alumosilikátů v provozním měřítku.

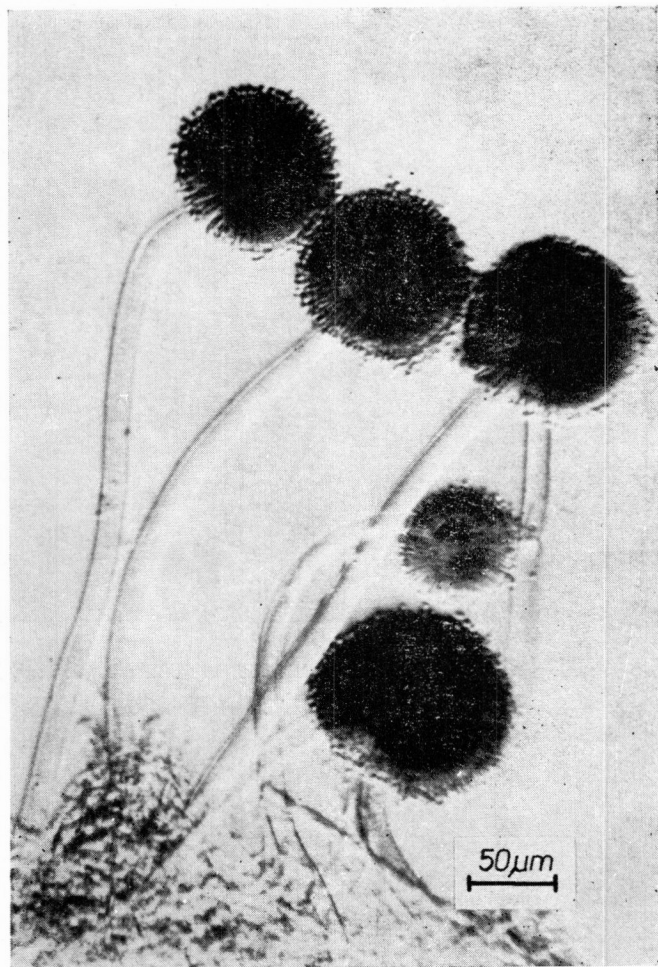
Roztoky oddělené od pevné fáze po biodegradaci bakteriemi *B. circullans* mohou být s úspěchem použity pro stimulaci růstu a vývoje rostlin a živočišných druhů. Stimulační účinek těchto roztoků není dán pouze přítomností vhodných iontů extrahovaných z minerálů, ale hlavně různými metabolity, jako heteroauxin a gibberellin.

Literatura

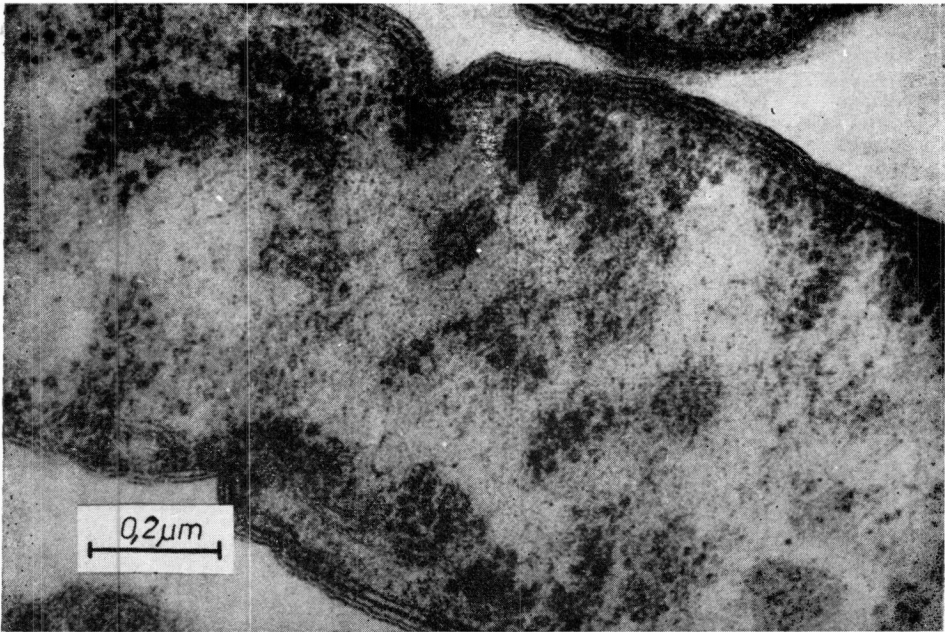
- [1] Aleksandrov V. G., Zak G. A.: *Mikrobiologija* 19, 97 (1950).
- [2] Howell S. F.: *J. Biol. Chem.* 186, 863 (1950).
- [3] Smith N. R., Gordon R. E., Clark F. E.: *US Dept. Agr., Misc. Publ. No. 559* (1946).
- [4] Tešić Z., Todorović M.: *Atti Congr. Int. Microbiol., Romu 1953*, 6, 356 (1955).
- [5] Novorossova L., Remezov N., Suskina N.: *Dokl. AN SSSR* 58, 655 (1947).
- [6] Kleczkowska J., Norman A., Sniesko S.: *Soil Sci.* 49, 185 (1940).
- [7] Groudev S. N., Genchev F. N., Groudeva V. I.: *ICSOBA Symposium "Alumina Production Until 2000", Tihany 1981, Travaux ICSOBA* 12, 203 (1982).
- [8] Groudeva V. I., Groudev S. N.: *Proc. 5th Internat. Congress of ICSOBA, Zagreb 1983, Travaux ICSOBA* 13, 257 (1983).
- [9] Andrejev P. I., Polkin S. I.: *Cvetnaja Metallurgija* 5, 14 (1981).
- [10] Berthelin J.: *Science du Sol* 1, 13 (1977).
- [11] Groudev S. N., Groudeva V. I., Petrov E. C.: *Proc. 5th Internat. Congress of ICSOBA, Zagreb 1983*, 13, 249 (1983).
- [12] Berthelin J., Koglevi A.: *Rev. Ecol. Biol. Sol* 11, 499 (1974).
- [13] Groudev S. N., Genchev F. N.: *Proc. 13th Internat. Mineral. Processing Congress, Warszawa 1979, Seminar 3: Beneficiation of Clay Raw Materials*, 87 (1979).
- [14] Vajnberg S. N., Vlasov A. S., Skripnik V. P.: *Trudy MCHTI* 116, 34 (1980).
- [15] Borovec Z.: *Chemical Geology* 32, 45 (1981).
- [16] Ehrlich H. L.: *Colloques Internat. du CNRS „Migrations organo-minérales dans les sols tempérés“*, Nancy 1981, 209 (1981).
- [17] Orłowska B., Golab Z., Starosta J.: *Rudy Met. Niežel.* 25, 2 (1980).
- [18] Lankford C. E.: *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 2, 273 (1973).
- [19] Starosta J., Orłowska B., Jagello V.: *Proc. 12th Meet. Min. Metal., Bor 1980*, 2, 385 (1980).
- [20] Babenko Ju. S., Dolgich L. M., Serebrjanaja M. Z.: *Mikrobiologija* 52, 42 (1983).
- [21] Ehrlich H. L. v knize: *Microbiological Chemocutotrophy* (red. W. R. Strohl, O. H. Tuovinen) str. 47—56. Ohio State University Press, Columbus 1984.
- [22] Boyle J. R., Voigt G. K., Sawhney B. L.: *Soil Sci.* 117, 42 (1974).
- [23] Boyle J. R., Voigt G. K., Sawhney B. L.: *Science* 155, 193 (1967).
- [24] Berthelin J., Boymond D. v knize: *Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology* (red. W. E. Krumbein), II. díl. str. 659—673. Ann Arbor Science, Ann Arbor 1978.
- [25] Huang W. H., Kiang W.: *Amer. Mineral* 57, 1849 (1972).
- [26] Slemmons D. B.: *Norsk. Geol. Tidsskrift*. 42, 533 (1962).
- [27] Pljusnina I. I.: *Dokl. AN SSSR* 24, 839 (1978).
- [28] Bosecker K. v knize: *Studies in Inorganic Chemistry* (red. A. Müller, B. Krebs), V. díl, str. 331—348. Elsevier, Amsterdam 1984.
- [29] Borovec Z.: *Acta Univ. Carol., Geologica* 3, 365 (1988).
- [30] Maršálek J.: *Thiobacillus ferrooxidans a jeho kultivace v procesu biologického loužení rud*. Knižnice technika rudného hornictví a úpravnictví. ÚVR, Praha 1979.
- [31] Golab Z., Orłowska B.: *Acta Microbiol. Pol.* 37, 83 (1988).
- [32] Borovec Z.: *Čas. Mineral. Geol.* 34 (1990) (v tisku).
- [33] Murr L. E.: *Minerals Sci. Engn* 12, 121 (1980).
- [34] Borovec Z.: *Silikáty* 25, 75 (1981).
- [35] Olejnik S., Posner A. M., Quirk J. P.: *Clay Minerals* 8, 421 (1970).
- [36] Borovec Z.: *Proc. 6th Confer. Clay Mineral. Petrol., Praha—Kutná Hora 1973*, 67 (1975).
- [37] Theng B. K. G.: *J. Royal Soc. New Zealand* 2, 437 (1972).
- [38] Vajnberg S. N., Vlasov A. S., Komskij G. Z., Skripnik V. P.: *Stěklo i keramika* 9, 17 (1981).
- [39] Vajnberg S. N., Vlasov A. S., Skripnik V. P.: *Stěklo i keramika* 8, 14 (1980).
- [40] Brierley C. L.: *The World Biotech. Report 1984, Proc. Biotech '84—Europe*, Vol. 1, 599 (1984).
- [41] Kaprálek F.: *Fyziologie bakterií*. SPN Praha 1986.
- [42] Groudev S. N., Groudeva V. I.: *Biotech. Bioeng. Symp.* 16, 91 (1986).



Obr. 1. „Silikátové“ bakterie na bentonitu ze Střimic (SEM). Foto RNDr. B. Shrbená, CSc. a RNDr. J. Vaněk, CSc.



Obr. 2. Mikroskopická houba *Aspergillus niger*. Konidiofory zakončené konidiálními hlavicemi se spórami. Foto RNDr. A. Kubátová.



Obr. 7. Ultrastruktura buňky *Thiobacillus thiooxidans* (TEM). Foto RNDr. J. Maršálek, CSc.