



## Veredelung von Quarzsand durch mikrobielle Laugung von Eisenoxid-Verunreinigungen

Von HERMANN STRASSER, THOMAS PÜMPEL, HERBERT BRUNNER & FRANZ SCHINNER\*)

Mit 2 Abbildungen und 4 Tabellen

*Heterotrophe Laugung*  
*Aspergillus niger*  
*Quarzsand*  
*Hämatit*  
*Eisen*  
*Oxalsäure*  
*Bioreaktor*

### Inhalt

Zusammenfassung .....	103
Abstract .....	103
1. Einleitung .....	104
2. Material und Methoden .....	104
2.1. Materialcharakterisierung .....	104
2.2. Organismus .....	104
2.3. Oxalsäurefermentation im 2-l-Bioreaktor .....	104
2.4. Analytik .....	104
2.5. Laugungstechnik .....	105
2.6. Laugungsexperimente .....	105
3. Ergebnis und Diskussion .....	105
3.1. Oxalsäurefermentation .....	105
3.2. Abiotische Laugung von Eisenoxid .....	105
4. Ausblick .....	106
Dank .....	106
Literatur .....	106

### Zusammenfassung

Über 300 heterotrophe Bakterienisolate und Pilze wurden auf die Fähigkeit, dreiwertiges Eisen aus Quarzsand in Lösung zu bringen, gescreent. Der Pilz *Aspergillus niger* wurde als laugungsaktivster Stamm identifiziert. *A. niger* brachte Eisen durch Ausscheidung von Oxalsäure in Lösung. Optimierte Kultivierungsbedingungen führten zu einer 427 mM Na<sub>2</sub>-Oxalatlösung. Diese konnte nach Ansäuerung auf pH 1.0 mehr als 90 % des kontaminierenden Eisenoxids („Limonit-Häutchen“) nach 4 Tagen Inkubation entfernen. Eine mikrobielle Eliminierung des eisenhaltigen Schwermineralanteils konnte nicht festgestellt werden.

### Improvement of the Quality of Quartz Sand by Means of Microbial Leaching of Iron Oxide

#### Abstract

More than three hundred strains of heterotrophic bacteria and fungi were tested in submerged culture for their capacity to leach ferric iron from quartz sand. The fungus *Aspergillus niger* was identified as the most active strain. *A. niger* produced oxalic acid as the leaching agent. After optimization of the cultur conditions a 427 mM Na<sub>2</sub>-oxalate solution could be obtained. With this solution (after acidifying it to pH 1.0) it was possible to solubilize more than 90 % of the iron-oxide contamination („limonite-film“) after 4 days of incubation. A biotic elimination of iron contained in the heavy mineral portion could not be noticed.

\*) Anschrift der Verfasser: Mag. HERMANN STRASSER, THOMAS PÜMPEL, HERBERT BRUNNER & FRANZ SCHINNER, Institut für Mikrobiologie (N.F.), Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck.

## 1. Einleitung

Mikroorganismen beeinflussen durch direkte (enzymatische und Redoxprozesse) und indirekte (Ausscheidung von Metaboliten und Enzymen) Laugung geologische Verwitterungsprozesse. Trotz der in geringem Ausmaß zur Verfügung stehenden organischen Kohlenstoffkomponenten, beschleunigen diese „Pionierorganismen“ nicht nur die atmosphärische Verwitterung der Gesteine, sondern können auch Metalle aus den Substraten herauslösen. Diese Art der Metallmobilisierung wird als Biolaugung bezeichnet und erlangt immer größere wirtschaftliche Bedeutung.

Autotrophe Bakterien (*Thiobacillus* spp.) werden seit über 30 Jahren zur Metallgewinnung aus sulfidischen Erzen herangezogen. Diese bereits großtechnisch eingesetzten Laugungsverfahren zeichnen sich durch geringe Emissionsbelastungen, geringen Energieverbrauch, hohe Effizienz und Selektivität aus.

Österreich verfügt über zahlreiche Quarzsandlagerstätten, welche zum Teil schon gefördert werden, bzw. für abbauwürdig befunden wurden. Durch Eisenoxidverunreinigungen wird die Qualität von Quarzsanden beträchtlich vermindert und die Verwendungsmöglichkeit der Sande eingeschränkt.

Quarzsand ( $\text{SiO}_2 > 98\%$ ), welcher als Rohstoff in der Glasindustrie verarbeitet wird, darf je nach Glasart einen definierten Eisengehalt nicht überschreiten (für Grün- und Braunglas  $< 0,2\%$ , für Weißglas  $< 0,03\%$ , für Kristallglas  $< 0,005\%$ ). Da die meisten Rohsande diesen Qualitätsanforderungen nicht entsprechen, müssen diese mittels mechanischer (Läuterung, Siebklassierung, Magnetabscheider, Flotation, etc.), sowie chemischer Methoden (Säurelaugung) gereinigt werden. Aufgrund der Kostenintensität dieser Verfahren versuchten wir, mit Hilfe mikrobieller Laugungsverfahren die störenden Eisenoxidkontaminationen zu entfernen.

Aus einer Vielzahl heterotropher Bakterien- und Pilzisolat, welche im Schüttelkolben auf Eisenextraktion gescreent wurden, wurde der laugungsaktivste Stamm ermittelt und im Bioreaktor optimiert. Auch wurde der Versuch unternommen, den Reaktionsmechanismus dieser Eisenlaugung aufzuklären (SCHINNER et al., 1990; SCHINNER et al., 1991).

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Materialcharakterisierung

Der Quarzsand stammte aus dem Quarzsandwerk Zelking bei Melk (NÖ). Hinsichtlich seines mineralogischen Aufbaus (oligozäner Melker Sand) wird der Quarzsand dem Quarzsandlagerstättentyp 3 zugeordnet. Diese Lagerstätten enthalten neben dem Mineral Quarz (60 %) als zweites wirtschaftlich nutzbares Mineral Feldspat (ca. 20 %), sowie Tonminerale (20 %). Weiters weist dieser Quarzsand einen Schwermineralgehalt zwischen 0,1 und 0,5 % auf (WEISS, 1976).

Für die Laugungsversuche und Mineralanalysen wurde ein gewaschener, mittels Probenteiler homogener, gesiebter Quarzsand (Korngröße  $63 < x < 200 \mu\text{m}$ ) verwendet. Der Metallgehalt des Quarzsandes wurde mittels Atomabsorptionsspektrophotometer nach durchgeführtem Druckaufschluß (40 % HF, 2,0 h, 200°C; Tab. 1) ermittelt.

**Tabelle 1.**  
Maximale Metallgehalte in Quarzsand, angegeben in % bzw. in  $\mu\text{g/g}$  TS (Trockensubstanz).

$\text{SiO}_2$ Schwermineralanteil	90 % 10 %
	$\mu\text{g/g TS}$
Cu	6
As	90
Fe	4165
Zn	14
Sn	12
Ag	10
Pb	15

### 2.2. Organismus

Über 300 Bakterien- und Pilzisolat wurden auf ihre Fähigkeit, dreiwertiges Eisen aus Quarzsand in Lösung zu bringen, gescreent. Das laugungsaktivste Isolat wurde als *Aspergillus niger* identifiziert. *A. niger* brachte Eisen durch die Ausscheidung von Oxalsäure in Lösung.

### 2.3. Oxalsäurefermentation im 2-l-Bioreaktor

Es wurde ein von unten gerührter Bioreaktor der Marke Bioengineering F 2000 KLF verwendet, der mit zwei Scheibenrührern und mit Schikanen ausgerüstet war. Der pH-Wert der Kulturlösung wurde geregelt.

#### Nährlösung

Für die Fermentation wurde eine modifizierte Saccharose-Nährlösung nach Xu et al. (1989) eingesetzt (Angaben in w/v %): 10 % Saccharose, 0,15 %  $\text{NaNO}_3$ , 0,05 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,0025 %  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,0025 % KCl, 0,16 % Hefeextrakt,  $\text{pH}_{(\text{start})}$  4,8, 1,85 l aqua bidest.; ein Antischaummittel (Siliconöl) wurde bei Bedarf zudosiert. Die Sterilisation der Nährlösung erfolgte, mit Ausnahme des  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Salzes, direkt im Fermenter (121°C, 20 min).

#### Prozeßparameter

Arbeitsvolumen:	2 Liter
Drehzahl:	300–800 Upm (Umdrehungen pro Minute)
Temperatur:	30°C
Belüftungsrate:	1 vvm (Volumen Luft pro Volumen Lösung und Minute)
Inokulum:	$1 \cdot 10^9$ Sporen
Probennahme:	alle 24 Stunden
pH-Regulation:	ab 46 h wurde der pH-Wert durch Zudosierung von 5 M NaOH auf pH 6,0 gehalten
Fermentationsdauer:	10 Tage

### 2.4. Analytik

Die Metallgehalte der Aufschluß- und/oder der Laugungslösungen wurden mit Hilfe eines Atomabsorptionsspektrophotometers (Perkin-Elmer 2380) bestimmt. Die Probenlösung wurde auf den Gehalt an Zuckern (HPLC) und auf die Produktion von organischen Säuren, vor allem Oxalsäure (HPLC), überprüft. Sofern Präzipitate in der

Laugungslösung festgestellt werden konnten, wurden diese filtriert, gravimetrisch bestimmt und für die Oxalsäurebestimmung mit HPLC (SCHINNER & BURGSTALLER, 1989) in 97 %iger  $H_2SO_4$  resolubilisiert.

## 2.5. Laugungstechnik

Nachdem die gewonnene Kulturlösung über ein Faltenfilter filtriert worden war, wurde die Lösung mit 5 mM NaCN versetzt, um jegliche mikrobielle Aktivität zu stoppen. Gewaschener, klassierter Quarzsand (2 bzw. 20 % Materialdichte; Korngröße  $63 < x < 200 \mu m$ ) bzw. Hämatit (in entsprechender Konzentration) wurde in säuregewaschenen 100 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 20 ml der jeweiligen Laugungslösung in Verbindung gebracht. Nach einer viertägigen Inkubation bei 25°C auf dem Schüttler (200 Upm), unter Einwirkung von Tageslicht, wurde der Überstand durch Zentrifugation (15 min./15.000 g) und/oder Faltenfiltration gewonnen. Zur Beurteilung der Laugungseffizienz von Oxalsäure wurden entweder HCl oder  $H_2SO_4$  in der entsprechenden Protonenstärke, oder technische Oxalsäure (äquimolarer Konzentration) als Kontrollsäuren mit ausgetestet. Die Versuche wurden mit mindestens 3 Parallelansätzen durchgeführt.

## 2.6. Laugungsexperimente

Die natriumoxalathaltigen Kulturlösungen (pH 6.0) von *A. niger* wurden in abiotischen Laugungsversuchen zur Aufklärung des Laugungsmechanismus verwendet. Dazu wurde die biotisch produzierte Oxalsäurelösung (0.4 M  $Na_2$ -Oxalat) mit HCl (37 %) bei verschiedenen pH-Stufen (pH 6.0, 4.5, 1.5) auf Eisenextraktion von Hämatit (0.37 %) getestet.

## 3. Ergebnis und Diskussion

### 3.1. Oxalsäurefermentation

Um mit *A. niger* Oxalsäure in ausreichender Konzentration zu produzieren, war es notwendig, verschiedene Optimierungen durchzuführen. *A. niger* konnte, nachdem bei pH 2.0 ausreichend Biomasse produziert worden war, durch Anhebung des pH-Wertes auf pH 6.0 zur Produktion von Oxalsäure stimuliert werden. Neben einer konstanten Protonenkonzentration in der Nährlösung (pH 6.0;

5 M NaOH) waren folgende Fermentationsbedingungen für eine kontinuierliche Oxalsäureproduktion essentiell: eine dem Zuckerverbrauch angepaßte Zudosierung von Saccharose (50 mM; täglich ab 6. Tag), sowie eine gute Sauerstoffversorgung (erreicht durch hohe Rührerdrehzahlen und Belüftungsraten). Nach 10 Tagen konnte eine Oxalsäurekonzentration von 427 mM nachgewiesen werden (Abb. 1). Der Prozeß wurde wegen Erreichen der Löslichkeitsgrenze von  $Na_2$ -Oxalat abgebrochen (Tab. 2). *A. niger* konvertierte bis zu 50 % des eingesetzten Zuckers zu Oxal- und Gluconsäure.

Stickstoff und Phosphor, welche von MÜLLER (1966) und KUBICEK et al. (1987) als limitierend erkannt wurden, übten keinen Einfluß auf die Säureproduktion aus. Aus diesem Grund wurde auf eine Nachdosierung verzichtet. Das Einbringen zusätzlicher Nährbestandteile wirkte sich negativ auf die Oxalatproduktion aus, da die Pilzbiomasse zunahm und der Pilz die Säureproduktion stark reduzierte.

Tabelle 2.  
Löslichkeit (L) von mono- und di-Na-Oxalatsalzen und die gemessene Oxalatkonzentration in der 2-l-Fermenterlösung von *A. niger*.

	$L_{kalt}$	in M	$L_{heiß}$
$Na_2(C_2O_4)$	0.28		0.47
$Na(C_2O_4)^-$	0.13		1.6
$Na_n(C_2O_4)^{m-}$ ( <i>A. niger</i> )		0.40	

### 3.2. Abiotische Laugung von Eisenoxid

Von 11 ausgetesteten organischen Säuren und vier Mineralsäuren konnte die Oxalsäure als der geeignetste Extraktant von Eisen identifiziert werden. 0.5 M Oxalsäure konnte im stark sauren Milieu (pH 1.0) 70 % des Eisens aus Quarzsand (2 % Materialdichte) laugen. Die Mineralsäuren gleicher Protonenstärke konnten nur 18 % des verfügbaren Eisens bei pH 1.0 mobilisieren (Abb. 2).

Vergleicht man die Laugungsraten von Oxalsäure (pH 1.0) und  $Na_2$ -Oxalat (pH 6.0), so konnte festgestellt werden, daß das Eisen weder durch Komplexolyse noch durch Redoxolyse im neutralen bis schwach sauren pH-Bereich gelaugt werden konnte. Erst im stark sauren Milieu (pH 1.0) konnte eine deutliche Eisensolubilisierung festgestellt werden (Tab. 3). Somit kann festgehalten werden, daß das dreiwertige Eisen durch die Protonenstärke der Oxalsäurelösung (Acidolyse) solubilisiert wurde. Durch die komplexierende Wirkung des Oxalatanions konnte wesentlich mehr gelaugtes Eisen in Lösung gehalten werden als mit Mineralsäuren.

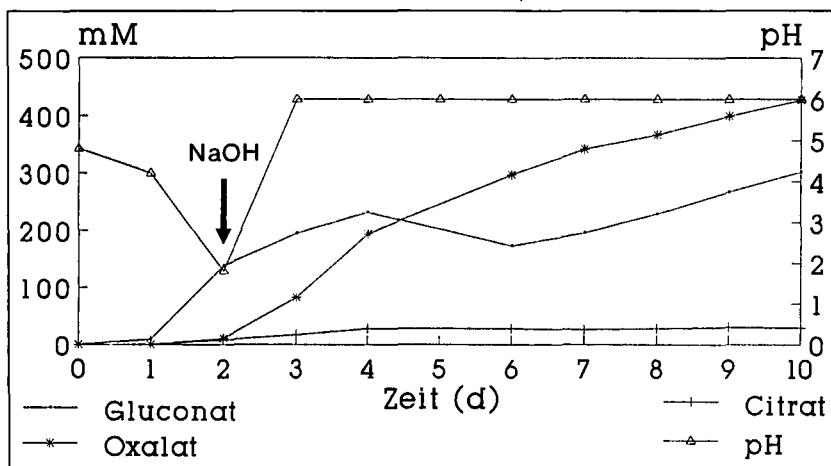


Abb. 1.  
Oxalsäure-, Gluconsäure- und Zitronensäureproduktion durch den Pilz *Aspergillus niger* unter optimierten Bedingungen im 2-l-Bioreaktor.

**Tabelle 3.**  
Laugung von Eisen aus Quarzsand (2 % Materialdichte).

Laugungsagens	pH	% Eisenextraktion
1.1 M Oxalsäure	1.0	70
0.43 M Na <sub>2</sub> -Oxalat	6.0	7
HCl	1.0	18

Angeregt durch die Arbeit von SIGG & STUMM (1990) konnte die photokatalysierte Reduktionswirkung von Oxalsäure im sauren Milieu nachgewiesen werden. Jene Laugungslösung, welche dem Tageslicht ausgesetzt war, konnte um 60 % höhere Eisenextraktionswerte erzielen als die abgedunkelte Kontrolle. Die Redoxlaugung im sauren Milieu konnte jedoch nur einen geringen Anteil zur Gesamtausbeute beitragen.

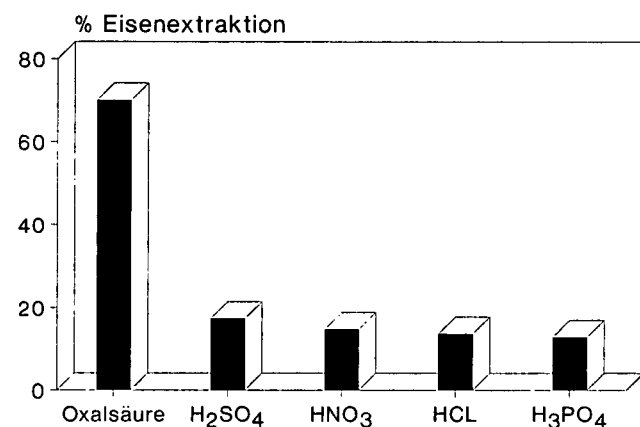


Abb. 2.  
Eisensolubilisierung aus Quarzsand mit Oxalsäure und anorganischen Säuren bei pH 1.0.

Um erfolgreich Eisen mit biotisch fermentierten Kulturlösungen zu laugen, muß ein Zweistufenlaugungsverfahren zur Anwendung gelangen. Die biotisch produzierte Na<sub>2</sub>-Oxalatlösung (0.4 M; pH 6.0) muß zur Steigerung der Laugungseffizienz mit Hilfe von Säure auf pH 1.0 angesäuert werden. Aufgrund des Löslichkeitsprodukts der Natriumoxalat-Salze muß die Kulturlösung auf eine günstige Endkonzentration (ca. 0.1 M Oxalsäure) verdünnt werden, da ansonst durch die Ansäuerung der Laugungslösung das Na<sub>2</sub>-Oxalat präzipitiert (Tab. 4). Mit Zunahme der Protonenstärke der Kulturlösung verändert sich der Dissoziationsgrad und somit das Löslichkeitsprodukt des Na-Oxalats.

**Tabelle 4.**  
Prozentuelle Verteilung von mono- und di-Natriumoxalat bei verschiedenen pH-Werten und deren Einfluß auf die Löslichkeit von Oxalsäure (Ausgangskonzentration 427 mM Na<sub>2</sub>-Oxalat).

pH	(% )			(mM)
	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> NaO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>m</sub> (Na <sub>n</sub> )O <sub>4</sub> <sup>1</sup>
6.2	0.00 %	1.53 %	98.47 %	400
4.5	0.02 %	32.87 %	67.11 %	383
1.5	34.89 %	64.97 %	0.13 %	100

1 ... gemessenes Oxalat in Lösung

## 4. Ausblick

Die Laugungstests bestätigten, daß die produzierte Säure (0.4 M Oxalsäure) nach Ansäuerung auf pH 1.0 zur Solubilisierung von mehr als 90 % der kontaminierenden Eisenoxide („Limonit-Häutchen“) ausreicht (20 % Materialdichte). Eine mikrobielle Eliminierung des Schwermineralanteils konnte nicht festgestellt werden. Deshalb müssen die Schwerminerale vor Laugung des Quarzsandes durch Flotation (Hydrosizer) vom Quarzsand abgetrennt werden. Ob sich die Verfärbung des Quarzsandes, verursacht durch die biotische Laugungslösung, störend auf die Vermarktung auswirkt, muß noch abgeklärt werden. Es wird jedoch darauf hingewiesen, daß durch eine thermische Weiterverarbeitung des Rohstoffes diese optische Verunreinigung wieder beseitigt werden kann (GROUDEV, 1988).

Wirtschaftliche Überlegungen wurden bis jetzt nicht angestellt, jedoch muß man für die Zukunft auf zwei Bereiche besonderes Augenmerk legen: auf billige Kohlenstoffquellen und auf eine kostengünstige Bioreaktortechnik. In situ-Verfahren (Haldenlaugung), wie sie bei *Thiobacillus* spp. eingesetzt werden, kommen bei der Laugung mit einem Pilz aus folgenden Gründen nicht in Frage: nur ein Bioreaktor kann den notwendigen Sauerstoffbedarf und die erforderliche Nährstoffversorgung des Pilzes garantieren. Weiters ist die Bildung von Pilzpellets für die Produktion von Oxalsäure unumgänglich. Die Frage der Kohlenstoffquellen wurde bisher nur am Rande bearbeitet, da es wichtiger erschien, grundlegende Vorgänge unter Verwendung einer definierten Kohlenstoffquelle aufzuklären. Die Wirtschaftlichkeit dieses Verfahrens hängt jedoch stark von der Verfügbarkeit einer billigen Kohlenstoffquelle ab.

Abschließend kann festgestellt werden, daß biohydrometallurgische Verfahrenstechniken zur Aufreinigung von eisenkontaminierten Mineralien in naher Zukunft zur Anwendung gelangen werden. Dies wurde von bedeutenden Biohydrometallurgen im Rahmen des „5th European Congress on Biotechnology in Kopenhagen“, Juli 1990 bestätigt (GROUDEV, 1990).

## Dank

Dieses Projekt wurde vom Bundesministerium für Wissenschaft und Forschung und vom Bundesministerium für wirtschaftliche Angelegenheiten in Zusammenarbeit mit der Geologischen Bundesanstalt durchgeführt. Wir bedanken uns beim Initiator des Projektes, Herrn OR Dr. L. WEBER.

## Literatur

- GROUDEV, S.N. & GROUDEVA, V.I.: Improvement of the quality of kaolins by means of microbial treatment. – 3. Internationales Seminar zur Erkundungsforschung – Biostrategien für das Bauen, Bauhaus Dessau, Dessau, 26.–30. September, 1–5, 1988.
- GROUDEV, S.N.: Workshop on the aluminosilicate minerals biodegradation: a synopsis. – 5th European Congress on Biotechnology, Kopenhagen, 8.–13. Juli, 1–7, 1990.
- KUBICEK, C.P., SCHREFELR-KUNAR, G., WÖHRER, W. & RÖHR, M.: Evidence for a cytoplasmatic pathway of oxalat biosynthesis in *Aspergillus niger*. – Appl. Environ. Microbiol., **54**, 633–637, 1988.
- MÜLLER, H.M.: Untersuchungen zum Stoffwechsel von *Aspergillus niger*. II Mitteilung. – Archiv f. Mikrobiol., **53**, 77–91, 1966.

- SCHINNER, F. & BURGSTALLER, W.: Extraction of zinc from industrial waste by a *Penicillium* sp. – Appl. Environ. Microbiol., **55**, 1153–1156, 1989.
- SCHINNER, F., STRASSER, H. & PÜMPEL, T.: Veredelung von Industriemineralien. – Endbericht ÜLG 29/90, 1–56, 1990.
- SCHINNER, F., STRASSER, H. & BRUNNER, H.: Veredelung von Industriemineralien. – Endbericht ÜLG 29F/91, 1–68, 1991.
- SIGG, L., und STUMM, W.: Aquatische Chemie, eine Einführung in die Chemie wässriger Lösungen und in die Chemie natürlicher Gewässer. – 388 S., Zürich (Verlag der Fachvereine Zürich), 1990.
- WEISS, R.: Quarzrohstoffe für die Glasindustrie. – Glastechnische Berichte, **49**, 12–45, 1976.
- XU, D.B., MADRID, C.P., RÖHR, M. & KUBICEK, C.P.: The influence of type and concentration of the carbon source on the production of citric acid by *Aspergillus niger*. – Appl. Microbiol. Biotech., **30**, 553–559, 1989.

Manuskript bei der Schriftleitung eingelangt am 20. August 1991

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Lagerstättenforschung der Geologischen Bundesanstalt](#)

Jahr/Year: 1993

Band/Volume: [16](#)

Autor(en)/Author(s): Strasser Hermann, Pümpel T., Brunner Herbert, Schinner Franz

Artikel/Article: [Veredelung von Quarzsand durch mikrobielle Laugung von Eisenoxid-Verunreinigungen 103-107](#)