

## پیش‌فرآوری زیستی کانه‌ی مقاوم طلا با استفاده از قارچ فانروکیت کرایسوسپوریوم

علی عبدالله نجف آبادی، محمود عبدالهی\*، احمد خدادادی دربان

تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده فنی و مهندسی، گروه فرآوری مواد معدنی، صندوق پستی ۱۴۱۵-۱۱۱۱

سید محمد موسوی بفرویی

تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده مهندسی شیمی، گروه بیوتکنولوژی

**چکیده:** وجود ماده‌ی کربنی و کانی گوگردی از ویژگی‌های کانه‌ی مقاوم طلا است که باعث کاهش بازیابی طلا از این نوع کانه می‌شود. از دو نوع زغال (زغال معمولی و آنتراسیت) به عنوان جانشین ماده‌ی کربنی موجود در کانه‌ی مقاوم طلا به منظور بررسی قابلیت فانروکیت کرایسوسپوریوم برای کاهش توانایی ماده‌ی کربنی در جذب طلا استفاده شد. نتیجه‌ها نشان داد که ماده‌ی آنتراسیتی حدود ۵ برابر بیشتر از زغال معمولی طلا جذب کرده است. فانروکیت کرایسوسپوریوم توانایی آنتراسیت در جذب طلا را در دوره‌ی کشت ۲۱ روزه و محیط کشت PDB (براث دکستروز سیب‌زمینی) تا حدود ۸۵٪ و در محیط کشت MWB (ارزن و گندم) تا بیش از ۹۵٪ کاهش داد. فانروکیت کرایسوسپوریوم همچنین توانایی اکسید کردن گوگرد موجود در کانه‌ی مقاوم طلا را داراست. برای بررسی تأثیر قارچ روی مواد گوگردی موجود در کانه‌ی مقاوم، از پیریت به عنوان نماینده‌ی آن‌ها استفاده شد. در مجموع، کانی پیریت در دوره‌ی کشت ۲۱ روزه، در pH برابر ۷، ۳۵٪ وزنی و در pH برابر ۴، ۳۰٪ وزنی، اکسید شد. پیش‌فرآوری قارچی دوباره برای کانه‌ی مقاوم طلای زرشوران با درصد‌های گوناگون اورپیمت و طلا انجام گرفت. پس از دوره‌ی ۱۴ روزه‌ی کشت، میزان استخراج طلا با فرایند سیانوراسیون برای نمونه‌های (۱) ( $2210\mu\text{m}$  - حاوی اورپیمت کمتر نسبت به نمونه‌ی کانه مقاوم طلای زرشوران)، (۲) (همانند نمونه‌ی کانه مقاوم طلای زرشوران از نظر میزان اورپیمت) و (۳) (بخش  $2210\mu\text{m} +$  که تا بیش از ۸۵٪ از اورپیمت غنی است) به ترتیب ۳۰٪، ۲۵٪ و ۱٪ افزایش یافت و کانی گوگردی موجود نیز در نمونه‌های (۱) و (۲) بیش از ۵۰٪ اکسید شد. نتیجه‌های آزمایش‌ها نشان داد که فانروکیت کرایسوسپوریوم ریز موجودی موثر برای اکسید کردن کانی‌های گوگردی و خنثی کردن مواد کربنی موجود در کانه‌ی مقاوم طلا به شکل همزمان بوده و در مجموع پتانسیل بالایی برای افزایش بازیابی طلا در عملیات سیانوراسیون آن کانسنگ دارد.

**واژه‌های کلیدی:** پیش‌فرآوری زیستی؛ آنتراسیت؛ پیریت؛ کانه‌ی مقاوم طلا؛ سیانوراسیون؛ فانروکیت کرایسوسپوریوم.

**KEY WORDS:** Biological pretreatment; Anthracite; Pyrite; Refractory gold ores; Cyanidation; Phanerochaete chrysosporium.

## مقدمه

کانی در اصل ماده‌ای طبیعی به شکل جامد است که ترکیب شیمیایی و ساختار خاصی داشته و از تراکم چنین موادی یک سنگ تشکیل می‌شود. کانه گونه‌ای از تمرکز ارزشمند کانی در ال سنگ است که همانند طلا ارزش بازاری اقتصادی با فناوری در دسترس را داراست [۱، ۲]. کانه‌های طلا به طور کلی به انواع ساده یا غیر مقاوم (رسوبی یا آبرفتی) و نوع مقاوم که از نظر متالورژیکی ساختار کانی‌شناسی پیچیده‌ای دارد تقسیم می‌شود. در کانه‌ی آبرفتی، طلا در ذراتی وجود دارد که به شکل طبیعی به دلیل هوازگی به طور کامل آزاد هستند. طلا در کانه‌ی آبرفتی به آسانی طی فرایند شست و شو و تغلیظ، به دلیل وزن مخصوص بسیار بالای فلز نسبت به سایر مواد استخراج می‌شود. طلا از کانه‌ی آبرفتی که غلظت طلا در آن بیش از ۹۵٪ است، با تغلیظ وزنی و یا سیانوراسیون بسیار ساده (انحلال با  $\text{Au(CN)}_2^-$ ) پس از خردایش (و سرنده‌کنی) مواد تا رسیدن به  $d_{80}$  برابر  $75\mu\text{m}$ ، تغلیظ می‌شود [۳].

در مورد کانه‌های مقاوم طلا، این عملیات مشکل‌تر بوده و بسته به میزان مقاومت کانی، بازاریابی طلا از آن می‌تواند حتی تا ۵۰٪ کاهش یابد [۴، ۵]. با توجه به این‌که کانه‌های طلا منابع مشخصی دارند، روش‌های نوین معدن‌کاری ابداع شده‌اند و کانه‌های طلای غیر مقاوم رو به پایان هستند، مطالعه‌های گسترده‌ای در مورد بازاریابی طلا از کانه‌ی مقاوم طلا انجام شده است. کانه‌هایی که دارای مقاومت بالایی هستند، در بسیاری از نقاط جهان، بدون استفاده وجود دارند [۶، ۷]. تولید سالیانه‌ی از  $1677t$  در سال  $1989$  میلادی به بیش از  $2982t$  در سال  $2014$  میلادی رسیده است. در این دوره، تولید طلا از کانه‌های مقاوم طلا با رشد  $165\%$  از  $94t$  به  $249t$  رسیده که به تقریب  $10\%$  تولید جهانی این فلز ارزشمند را شامل می‌شود [۸، ۹].

در کانه‌ی مقاوم، طلا به طور معمول به صورت ذرات بسیار ریز ( $<1\mu\text{m}$ ) به صورت درگیر با کانی باطله وجود دارد [۱] و بزرگ‌ترین مشکل در مورد مقاومت این کانه‌ها، درگیری طلا با ماده‌ی گوگردی و ماده‌ی کربنی است. در کانه‌های طلای مقاوم گوگردی، ذرات بسیار ریز طلا به صورت بسیار پراکنده و قفل شده در مرزها و شکستگی‌های کانی‌های گوگردی مانند پیریت و آرسنوپیریت

قرار گرفته‌اند. برای رفع این مشکل و آزادسازی طلا، نیاز به تجزیه‌ی سولفیدها احساس می‌شود [۳ - ۱]. حضور ماده‌ی کربنی (CM) نیز در کانه‌ی طلا منجر به ۲ تأثیر زیان‌آور می‌شود: (۱) بازداشت طلا به دلیل مشکلات ناشی از آزادسازی از

ماتریکس کربنی

(۲) از دست رفتن طلا به دلیل توانایی ماده‌ی کربنی در جذب طلا از محلول دارای طلا

جذب طلا توسط کربن که منجر به کاهش بازاریابی طلا می‌شود به دلیل کربن بسیار ریز موجود ( $2-20\mu\text{m}$ ) است که اجازه‌ی عملیات جدایش دلخواه را به فرایند نمی‌دهند و این پدیده با عنوان طلا ربایی<sup>(۱)</sup> شناخته می‌شود [۱۴ - ۱۲]. با توجه به تشابه بین ماده‌ی کربنی و زغال‌های با درجه‌های گوناگون بلوغ، از انواع زغال به شکل عمده برای توصیف ماده‌ی کربنی موجود استفاده می‌شود [۷].

اگر در یک کانه‌ی مقاوم، کانی‌های گوگردی و ماده‌ی کربنی همراه شود، این کانه با عنوان کانه‌ی بسیار مقاوم<sup>(۲)</sup> (DRGO) شناخته می‌شود [۸]. بازاریابی طلا از کانه‌ی طلای بسیار مقاوم در عملیات معمول سیانوراسیون کمتر از  $50\%$  است [۹ - ۴] که دلیل‌های عمده‌ی آن عبارتند از:

(۱) نفوذ نکردن سیانید به سولفیدها و در نتیجه واکنش ندادن با طلا و حل کردن آن

(۲) جذب طلای حل شده توسط ماده‌ی کربنی

برای طلای گرفتار شده در اجزای مقاوم به ویژه سولفیدها و همچنین برای به‌دست آوردن راندمان مناسب عملیات سیانوراسیون، پیش‌فرآوری به منظور تجزیه‌ی کانی مزاحم دربرگیرنده و آزادسازی طلا مورد نیاز است. فرایندهایی که امروزه به شکل تجاری برای پیش‌فرآوری کانه‌ی مقاوم طلا استفاده می‌شود شامل تشویه، اکسیداسیون تحت فشار و اکسیداسیون باکتریایی است [۳ - ۶]. به کارگیری اکسیدکننده‌های زیستی کمولیتوتروف<sup>(۳)</sup> مصرف‌کننده‌ی آهن و گوگرد همانند باکتری‌های *اسیدیتئوباسیلوس فرواکسیدانس*<sup>(۴)</sup>، *اسیدیتئوباسیلوس تیواکسیدانس*<sup>(۵)</sup> و *لیتوسپریلوم فرواکسیدانس*<sup>(۶)</sup> برای سرعت بخشیدن به اکسیدشدن فلز سولفیدی و در ادامه آزادسازی طلا برای فرایند سیانوراسیون بعدی معمول است [۱۰]. به دلیل اورگانوتروف<sup>(۷)</sup> بودن این باکتری‌ها (نداشتن توانایی استفاده

(۱) Preg-rub

(۲) Double Refractory Gold Ores (DRGO)

(۳) Chemolithoautotrophic

(۴) Acidithiobacillus ferrooxidans

(۵) Acidithiobacillus thiooxidans

(۶) Leptospirillum ferrooxidans

(۷) Organotroph

طبیعت اکسیدکننده‌ی قدرتمندی که توسط آنزیم‌های تولیدی *فانروکیت کرایسوسپوریوم* ایجاد می‌شود، پیش از این برای اهدافی از جمله حذف اکسیدی گوگرد از زغال به کار گرفته شده است [۱۶]. به خاطر این توانایی‌های *فانروکیت کرایسوسپوریوم* است که پیش‌بینی می‌شود این قارچ بتواند در تسریع فرایند همزمان خنثی‌سازی ماده‌ی کربنی و اکسیدکردن کانی گوگردی موثر باشد و به این شکل موجب افزایش استخراج طلا در مراحل سیانوراسیون شود.

### بخش تجربی

در این بخش متغیرهای مورد بررسی به شکل تابعی از متغیرهای مستقل با روش‌هایی که در جدول ۱ آمده در نظر گرفته شدند.

#### مواد و نمونه‌های مورد استفاده

در مجموع ۳ دوره‌ی آزمایشی در نظر گرفته شد که طی این دوره‌ها، افزون بر بررسی تأثیر *فانروکیت کرایسوسپوریوم* بر مواد گوناگون موجود در کانه‌ی مقاوم طلا، تطبیق این قارچ با هر کدام از مواد نیز به شکل جداگانه مد نظر قرار داده شد.

در مجموعه اول آزمایش‌ها تأثیر قارچ بر ماده‌ی کربنی بررسی شد. زغال با کمک جهاد دانشگاهی واحد تربیت مدرس از معادن شاهرود و آنتراسیت نیز از طریق دانشکده‌ی مهندسی شیمی از تصفیه‌خانه‌ی آب و فاضلاب شهرستان چابهار تهیه شدند. اندازه اولیه نمونه‌ها  $850 \mu\text{m}$  بود و برای آزمایش‌ها، اندازه به  $d_{80}$  برابر  $250 \mu\text{m}$  رسید.

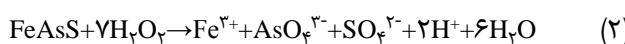
مجموعه دوم آزمایش‌ها پیرامون تأثیر قارچ بر کانی گوگردی انجام شد. پیریت به عنوان نماینده‌ی این نوع کانی‌ها انتخاب شد. نمونه‌ی پیریت از معدن مس مزرعه‌ی اهر به همت دانشکده‌ی زمین‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. نمونه دارای بلورهای درشت پیریت بود که پس از خردایش مقدماتی، با روش سنگجوری به راحتی قابل جدایش بودند. پس از جدا کردن میزان کافی از کانی پیریت، نمونه تا  $d_{80}$  برابر  $100 \mu\text{m}$  مورد خردایش قرار گرفت.

سرانجام برای آزمایش‌های مرحله سوم از نمونه‌ی طلای مقاوم زرشوران استفاده شد. کانه‌ی مقاوم طلا، از فاز ۲

از منابع کربن آلی)، کربن آلی موجود در کانه بدون تغییر وارد چرخه‌ی سیانوراسیون شده و باعث طلا ربایی خواهد شد [۱۱]. بیشتر پژوهش‌های اخیر با تأکید بر تخریب ساختار و کاهش ویژگی‌های ماده‌ی کربنی بیتومینه انجام گرفته و موفقیت بسیار کمی در کاهش طلا ربایی بخش آنتراسیت داشته‌اند که تشکیل دهنده‌ی بیش از ۵۰٪ ماده‌ی کربنی همراه کانه‌ی مقاوم طلا است [۴]. همچنین، ماده‌ی کربنی آنتراسیتی ظرفیت بسیار بالاتری برای جذب طلا نسبت به بیتومین و لیگنیت دارد که به خاطر میزان بالای زغال‌شدگی و در نتیجه آن، صفحه‌های گرافیتی تولید شده به کامل‌ترین شکل در آن، می‌باشد [۱۲ - ۷]. در نتیجه استفاده از ریزموجودی که بتواند ماده‌ی سولفیدی را تجزیه کرده و همزمان پتانسیل ماده‌ی کربنی برای جذب طلا را به شکل معنی‌داری کاهش دهد، برتری‌های زیادی در افزایش بازبایی طلا از کانه‌های مقاوم طلا خواهد داشت.

قارچ سفید رشته‌ای فسادآور با نام علمی *فانروکیت کرایسوسپوریوم*<sup>(۱)</sup>، توانایی بسیار بالایی در تولید آنزیم‌های گوناگون دارد. نخستین بار ترشح آنزیم مخرب (لیگنین پروکسیداز (LiP)<sup>(۲)</sup>)، توسط تین<sup>(۳)</sup> و کرک<sup>(۴)</sup> [۱۴، ۱۳] مورد مطالعه قرار گرفته و ساختاربندی شده است. از آن پس این قارچ به عنوان مدلی زیستی که رشد سریع داشته و آنزیم‌های مخرب لیگنین را در مقیاس بسیار بزرگی آزاد می‌کند در آزمایشگاه‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. *فانروکیت کرایسوسپوریوم* هم‌چنین آنزیم منگنز پروکسیداز (MnP)<sup>(۵)</sup> ترشح می‌کند که می‌تواند روند اکسید شدن و زیست تخریب لیگنین را در مواد کربنی آروماتیک مثل زغال‌ها و آلاینده‌های محیط زیست تسریع کند [۱۵]. تا هنگامی که مواد کربنی کانه‌ی مقاوم طلا ویژگی‌هایی مانند زغال از خود نشان دهند، انتظار می‌رود که آنزیم‌های اکسید کننده بتوانند ماده‌ی کربنی موجود را به روش زیستی خنثی کنند.

*فانروکیت کرایسوسپوریوم* هم‌چنین آنزیم مولد  $\text{H}_2\text{O}_2$  (گلی‌اکسال‌اکسیداز)<sup>(۶)</sup> و پرکسید هیدروژن ترشح می‌کند [۱۶] که این آنزیم‌ها برای انحلال کانی گوگردی مانند پیریت و آرسنوپیریت شناخته شده‌اند (واکنش‌های (۱) و (۲)).



(۱) *Phanerochaete chrysosporium*

(۲) Lignin peroxidase

(۳) Tien

(۴) Kirk

(۵) Manganese peroxidase

(۶) Glyoxal oxidase

محلول هاگ‌دار کشت شدند. نمونه‌های زغال پس از ۱ هفته از آغاز کشت در میزان جامد ۴۰٪ به محیط افزوده شدند.

در مراحل دوم و سوم آزمایش‌ها تنها از محیط MWB استفاده شد. محیط کشت با همان شیوه آماده شد. برای مجموعه دوم، در نصف نمونه‌ها، pH آب قبل از تر کردن محیط کشت با استفاده از سوکسینیک اسید و سدیم هیدروکسید در ۴ تنظیم شد. بقیه‌ی مرحله کشت شبیه مجموعه اول آزمایش‌ها انجام شد.

در هر مجموعه آزمایش، نمونه‌ها پس از پایان دوره‌ی کشت برای رهایی از محیط کشت و قارچ، با مقدار کافی آب شست و شو داده شده و پس از آبیگری، به مدت ۱ هفته در معرض هوا قرار گرفتند. در هر دوره‌ی آزمایشی، تعدادی آزمایش با عنوان کنترلی با شرایط دقیقاً همانند به شرایط اصلی انجام گرفت؛ با این تفاوت که هاگ قارچ در محیط تلقیح نشد. همه‌ی آزمایش‌ها ۲ بار تکرار شدند.

### آزمایش‌های جذب طلا با زغال

محلول استاندارد طلای تهیه شده (۱۰۰۰ ppm طلا در HCl) با استفاده از آب دو بار تقطیر و میزان کافی سدیم هیدروکسید، به غلظت ۷ ppm طلا با pH برابر ۱۲ رسید. از هر نمونه زغال (پیش فرآوری شده، کنترلی (آزمایش‌هایی با استفاده از روش اصلی بدون تلقیح قارچی) و پیش فرآوری نشده)، ۱ گرم در تماس با ۲۵ mL محلول استاندارد آماده شده قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور با دور ۱۵۰ rpm و دمای ۲۵°C قرار داده شدند. در پایان، محلول صاف شده و طلای باقیمانده در هر نمونه با استفاده از دستگاه جذب اتمی مورد ارزیابی قرار گرفت. اختلاف بین غلظت طلا در محلول‌ها، پیش و پس از تماس با قارچ و محیط کشت، با توجه به میزان ماده کربنی مورد استفاده (۱ گرم) در جریان جذب، طبق رابطه‌ی (۱) محاسبه شد تا اثر طلا ربایی در مقیاس  $\mu\text{mol/g}$  به دست آید:

$$\text{PEC}(\mu\text{mol Gold/g Carbon}) = \quad (1)$$

$$\frac{V(\text{mL}) \times (C_1 - C_2)(\text{ppm})}{G(\text{g/mol}) \times W_c(\text{g})}$$

در معادله‌ی (۱)،  $C_1$  و  $C_2$  به ترتیب غلظت اولیه و نهایی طلا در محلول بر حسب ppm  $W_c$  وزن ماده‌ی کربنی مورد استفاده در آزمایش‌های جذب بر حسب g (در اینجا ۱g)،  $V$  حجم محلول طلای مورد استفاده بر حسب mL (در اینجا ۲۵ mL) و  $G$  وزن مولار طلا

معدن طلای زرشوران تهیه شد. طی این دوره‌ی آزمایش‌ها، از ۳ نوع ماده‌ی آماده شده ((۱)  $2210 \mu\text{m}$  - دارای اورپیمنت کمتر نسبت به نمونه‌ی کانه مقاوم طلای زرشوران)، (۲) (مشابه نمونه‌ی کانه مقاوم طلای زرشوران از نظر میزان اورپیمنت) و (۳) (بخش  $2210 \mu\text{m} +$  که تا بیش از ۸۵٪ از اورپیمنت غنی است)) استفاده شد. همه‌ی نمونه‌ها تا رسیدن به ابعاد  $d_8$  برابر  $100 \mu\text{m}$  مورد خردایش قرار گرفتند. هاگ قارچ فانروکیت کرایوسوپوریوم (PTCC 5270)<sup>(۱)</sup> از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شد. سایر مواد همگی از شرکت افشار تهیه شدند.

### آماده‌سازی محیط کشت و تلقیح

پیش فرآوری با کشت هاگ قارچ فانروکیت کرایوسوپوریوم در ۳ مجموعه آزمایشی بر نمونه‌های گوناگون انجام گرفت. در مواردی که نیاز به تغییر pH بود از سوکسینیک اسید به عنوان اسید آلی تطبیق یافته با قارچ استفاده شد. از محیط کشت ژلاتینی (PDA) برای کشت اولیه استفاده شد و محیط‌های کشت جامد (WMB) و مایع (PDB) برای کشت‌های اصلی آماده سازی شدند.

پیش از هر دوره آزمایش، قارچ در محیط ژلاتینی آگار دکستروز سیب‌زمینی (PDA) به شکل مرکزی کشت شد و فرآورده فاقد آلودگی پس از ۱ هفته، از سطح محیط با مقدار کافی آب دوبار تقطیر شست و شو داده شد تا برای هر میلی‌لیتر، ۱۰<sup>۷</sup> هاگ در محلول موجود باشد. تعداد هاگ با استفاده از لام ویژه، زیرمیکروسکوپ شمارش شد. محیط‌های ثانویه با استفاده از این محلول کشت شد.

در مجموعه اول آزمایش‌ها، پیش فرآوری با کشت هاگ قارچ فانروکیت کرایوسوپوریوم بر نمونه‌های زغال انجام گرفت. کشت در دمای ۳۷°C در دوره‌های تا سه هفته انجام شد و حین آزمایش، در pH طبیعی آب دوبار تقطیر مورد استفاده که حدود ۶/۵ تا ۷ بود، تغییری به وجود نیامد (تغییر pH به دست آمده از محیط کشت قابل چشم‌پوشی بود).

برای این مجموعه آزمایش‌ها از هر دو نوع محیط کشت ثانویه مایع برات دکستروز سیب‌زمینی مایع (PDB) و ارزن و گندم (MWB) استفاده شد. برای تهیه‌ی MWB از ارزن و گندم به نسبت ۴ به ۱ به ترتیب استفاده شد و مواد با نسبت برابر، با آب ۲ بار تقطیر تر شده و تا حالت پختگی در اتوکلاو قرار گرفتند. سپس با ۱۰ mL

(۱) ATCC 24725

جداگانه آنالیز شدند. FDC با استفاده از معادله‌ی (۲)، برای هر نمونه محاسبه شد. برای اندازه‌گیری میزان آزادسازی طلا با استفاده از روش پیش‌فرآوری کانه‌ی مقاوم، آزمایش‌های سیانوراسیون انجام گرفت. برای محاسبه‌ی درصد بازیابی طلا از فرایند سیانوراسیون از معادله‌ی (۳) استفاده می‌شود:

$$\text{PGR (\% wt)} = \frac{1}{W} (\text{g}^{-1}) \times \left( \frac{V(\text{mL}) \times C(\text{ppm})}{H_G \left( \frac{\text{g}}{\text{t}} \right)} \right) \times 100 (\%) \quad (4)$$

در معادله (۳)،  $W$  و  $H_G$  وزن و عیار طلای موجود در نمونه است که با استفاده از آنالیز نمونه با روش جذب اتمی بر حسب  $\text{g/t}$  و به‌دست آمد،  $V$  حجم آب مورد استفاده در آزمایش‌های سیانوراسیون بر حسب  $\text{mL}$  و  $C$  غلظت طلای به‌دست آمده از فرایند سیانوراسیون بر حسب  $\text{ppm}$  است. تمام آزمایش‌ها با دو بار تکرار انجام گرفتند و نمودارها با استفاده از میانگین داده‌ها رسم شد.

## داده‌ها و بحث

### تأثیر پیش‌فرآوری زیستی بر انواع زغال

شکل‌های ۱ و ۲ جذب طلا نسبت به زمان را برای زغال‌های گوناگون پیش‌فرآوری شده و نشده در محیط کشت PDB و MWB نشان می‌دهد. توانایی جذب طلا برای همه‌ی نمونه‌ها (پیش و پس از فرایند) بسیار کم و زیر  $0.5 \mu\text{mol/g}$  بود و تنها آنتراسیت پیش‌فرآوری نشده جذب بالا و حدود  $4/5 \mu\text{mol/g}$  را نشان می‌داد.

همانگونه که در شکل‌های ۱ و ۲ دیده شود، با گذشت ۲۱ روز از آغاز فرایند قارچی برای هر دو نوع محیط کشت، ظرفیت جذب طلا توسط زغال پیش‌فرآوری شده با میزان جذب طلا توسط نوع پیش‌فرآوری نشده (در زمان صفر) برابر است (در مجموع پایین و کم‌تر از  $0.5 \mu\text{mol/g}$  بوده)، در حالی که ظرفیت جذب آنتراسیت به میزان زیادی کاهش یافته است (از حدود  $4/5 \mu\text{mol/g}$  به  $0.5 \mu\text{mol/g}$ ). کم شدن اثر طلا ربایی شاید به دلیل کاهش فعالیت گروه‌های سطحی زغال و در نتیجه واکنش ندادن آن‌ها با کمپلکس سیانوری طلای موجود و کور شدن خلل و فرج سطحی زغال است.

شکل‌های ۳ و ۴، نشان دهنده‌ی تأثیر یک هفته‌ای مواد موجود در هر محیط کشت است که تغییرات میزان اثر طلا ربایی بر انواع زغال را نشان می‌دهد. این نمودارها در حالی که مقدارهای

(در اینجا  $197 \text{g/mol}$ ) است. اختلاف بین مقدارهای  $PEC$  در غلظت نمونه‌های پیش‌فرآوری نشده و پیش‌فرآوری شده، نشان دهنده‌ی تأثیر زیست‌فرآوری قارچی در تغییر توانایی طلا ربایی مواد کربنی در جذب طلا است.

### محاسبه‌ی بخش حل شده‌ی پیریت زیست‌فرآوری شده

به منظور محاسبه‌ی میزان پیریت اولیه و پیریت باقیمانده پس از فرآوری زیستی، از آنالیز جذب اتمی برای تعیین میزان آهن استفاده شد.

میزان فرآوری زیستی سولفیدها با استفاده از قارچ فانروکیت کرایسوسپوریوم با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد:

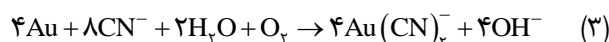
$$\text{PDC (\% wt)} = \frac{V(\text{mL}) \times C(\text{ppm})}{P_m (\%) \times W(\text{g})} \times 100 \quad (2)$$

در معادله (۲)،  $V$  حجم محلول مورد استفاده در آزمایش بر حسب  $\text{mL}$ ،  $C$  غلظت آهن به دست آمده از آنالیز جذب اتمی برای ماده‌ی پیش‌فرآوری شده بر حسب  $\text{ppm}$   $P_m$  درصد پیریت موجود و  $W$  جرم پیریت مورد استفاده بر حسب  $\text{g}$  است.

### آزمایش با کانه‌ی مقاوم طلا

#### سیانوراسیون

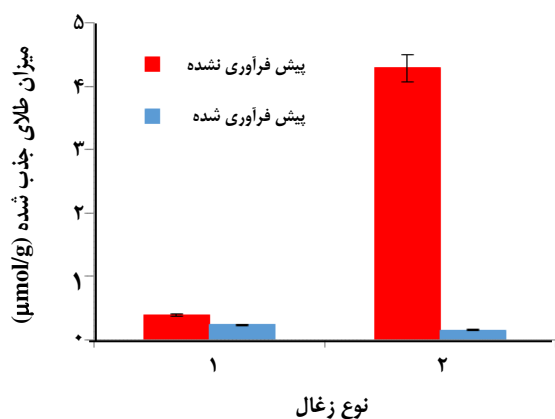
سیانوراسیون در شیکر انکوباتور با دمای  $25^\circ\text{C}$  و دور  $150 \text{rpm}$  بر ماده‌ی پیش‌فرآوری شده و نشده با جامد  $30\%$  و غلظت سیانید  $10 \text{g/L}$  برای ۲۴ ساعت انجام گرفت.  $\text{pH}$  نمونه‌ها با استفاده از سدیم هیدروکسید در ۱۱ تا ۱۲ تنظیم شد. به منظور هواده‌ی به نمونه‌ها و پیشرفت واکنش (۳)، درب نمونه‌ها بسته نشد.



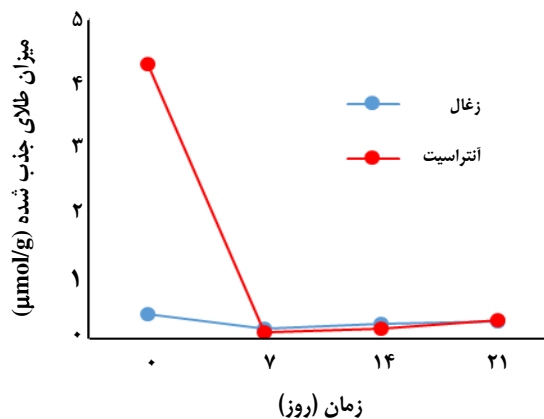
در پایان دوره‌ی انحلال، نمونه‌ها صاف شده و محلول به دست آمده، برای آنالیز میزان طلای محلول توسط جذب اتمی استفاده شد. همچنین، با این فرض که عمده‌ی میزان آهن موجود در نمونه مربوط به کانی‌های سولفیدی به ویژه پیریت است، آهن موجود در محلول با استفاده از معادله (۲) به‌دست آمد و یا این روش میزان کانی پیریت محاسبه شد.

### محاسبات داده‌ها

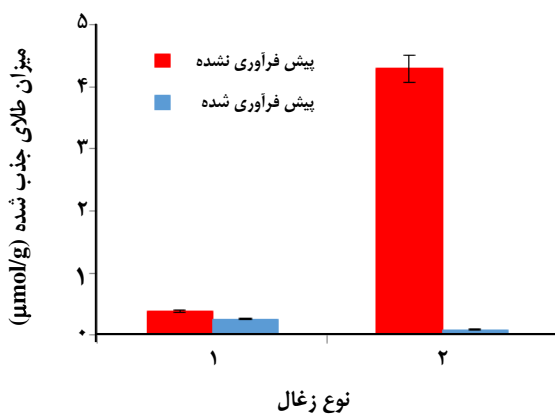
پس از کشت نمونه‌ها در حضور و غیاب زی توده قارچی، محلول‌های آماده شده در هر مرحله برای طلا و آهن به صورت



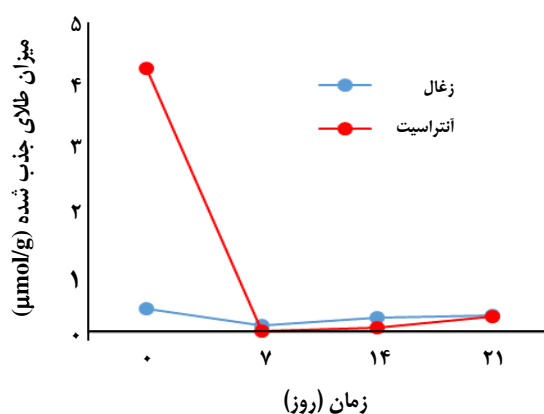
شکل ۳- تأثیر پیش فراوری قارچی یک هفته‌ای بر توانایی طلا ربایی (۱) زغال ۲) آنتراسیت در محیط کشت PDB.



شکل ۱- تأثیر زمان پیش فراوری قارچی بر جذب طلا توسط زغال و آنتراسیت در محیط کشت PDB.



شکل ۴- تأثیر پیش فراوری قارچی یک هفته‌ای بر توانایی طلا ربایی (۱) زغال ۲) آنتراسیت در محیط کشت MWB.



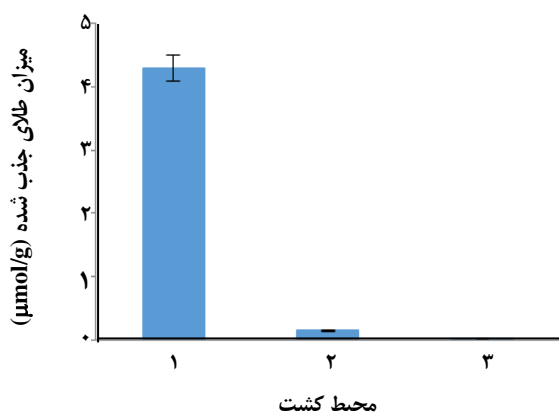
شکل ۲- تأثیر زمان پیش فراوری قارچی بر جذب طلا توسط زغال و آنتراسیت در محیط کشت MWB.

محیط جامد نسبت به محیط مایع می‌شود، زیرا محیط کشت MWB از نظر اقتصادی مقرون به صرفه بوده، اجزای تشکیل دهنده کمی دارد و به دانش فنی چندان پیچیده‌ای برای تولید آن، نیاز نیست. MWB به دلیل دارا بودن مواد مورد نیاز برای رشد دلخواه قارچ، مثل کربوهیدرات‌ها، قند، پروتئین، آهن، کلسیم، منگنز، منیزیم، فسفر، پتاسیم، سلنیم، سدیم، روی، مس، بور، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب و آمینواسیدها محیط کشت کاملی به حساب می‌آیند. محیط کشت تر MWB دارای سطح ویژه‌ی بالایی برای برقراری تماس باکتریایی است و به دلیل به دام افتادن حباب‌های هوا در میان ذرات آن، هوادهی برای ایجاد واکنش شیمیایی را تسریع می‌کند و این برتری موجب بالا رفتن فعالیت فانروکیت کرایسوسپوریوم در ترشح لیگنین می‌شود [۱۷].

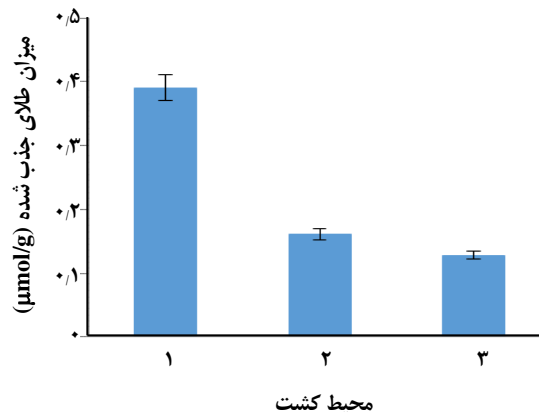
یکسان جذب طلا پیش و پس از کشت قارچی را برای زغال نشان می‌دهند، مقادیرهای گوناگون (به شکل کاهش) برای آنتراسیت نشان داده‌اند. نتیجه‌های این دو شکل، با نتیجه‌های به دست آمده از شکل‌های ۱ و ۲ مطابقت دارد که در آنها تنها در بخش پیش‌فراوری نشده آنتراسیت جذب طلای زیادی دیده شده است و هر چهار شکل تأیید کننده‌ی کاهش بیش از ۹۰٪ جذب طلا توسط آنتراسیت هستند.

#### تأثیر محیط کشت

رشد ظاهری بهتر قارچ در محیط MWB بر این موضوع دلالت داشت که قارچ برای رشد، این محیط را به محیط PDB ترجیح می‌دهد. این امر موجب به وجود آمدن برتری فنی برای



شکل ۶ - تأثیر محیط کشت‌های مختلف استفاده شده بر آنتراسیت در (۱) نمونه‌ی فرآوری نشده (۲) PDB (۳) MWB.



شکل ۵ - تأثیر محیط کشت‌های مختلف استفاده شده بر زغال در (۱) نمونه‌ی فرآوری نشده (۲) PDB (۳) MWB.

به صورت نمایی افزایش یافته و پس از مدتی به دلیل فرسودگی محیط کشت و تولید متابولیسیم‌های اضافی، شتاب منفی به خود می‌گیرد. این متابولیسیم‌ها شامل کاهش فعالیت موجود زنده و بالا رفتن میزان مواد اکسیدی می‌شود [۱۴].

با استفاده از نمودارها و بعضی محاسبات، میزان پیریت در نمونه‌ی پیش‌فرآوری نشده ۸۲٪ به دست آمد که طی دوره‌ی کشت ۲۱ روزه به ۴۷/۶٪ در pH برابر ۷ (کاهش ۳۴/۴٪) و ۵۲/۳٪ در pH برابر ۴ رسید (کاهش ۲۹/۷٪).

#### بررسی میزان کانی‌های گوگردی در نمونه‌ها

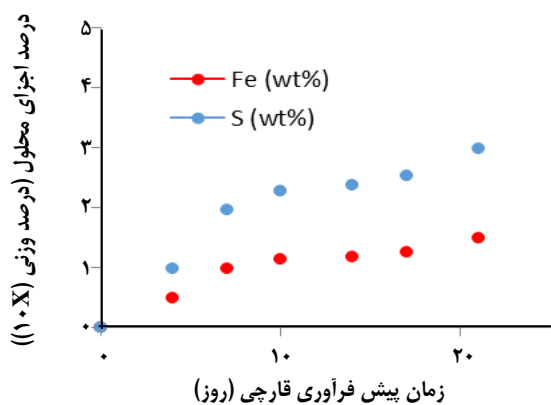
غلظت آهن حل شده در نمونه‌ها و به تبع آن میزان کانی‌های گوگردی در نمونه‌ها قبل و پس از پیش‌فرآوری قارچی با استفاده از معادله (۲) محاسبه شد. تأثیر قارچ *فانروکیت کرایسوسپوریوم* در فرآوری زیستی ۱۴ روزه‌ی نمونه‌های (۱) و (۲)، در مقایسه با آزمایش‌های کنترلی با محیط کشت تلقیح نشده در شرایط یکسان آزمایشی در شکل‌های ۱۱ و ۱۲ دیده می‌شود. شکل‌ها به روشنی نشان دهنده‌ی افزایش آشکار حدود ۱۰ برابری انحلال مواد سولفیدی در حضور قارچ است. محاسبه و بررسی کیفی آنالیز جامد به دست آمده از پیش‌فرآوری قارچی نشان می‌دهد بیش از نیمی از سولفیدهای موجود طی حدود ۱۴ روز پیش‌فرآوری قارچی اکسید شده‌اند. همچنین نتیجه‌های به دست آمده نشان دهنده‌ی توانایی بالقوه‌ی *فانروکیت کرایسوسپوریوم* در اکسیدکردن کانی‌های گوگردی موجود در کانه‌ی مقاوم طلا و آزادسازی طلا در سیانوراسیون است. باید خاطر نشان کرد که میزان اکسیدشدن در نمونه‌ی (۱) به مراتب از نمونه‌ی (۲) بیشتر بود.

به شکل دقیق‌تر، محیط کشت PDB به دلیل حالت مایع، در اکسیژن رسانی دلخواه برای انجام واکنش‌های سطحی ناتوان است. شکل‌های ۵ و ۶ به مقایسه‌ی محیط کشت‌های گوناگون برای پیش‌فرآوری یک هفته‌ای زغال و آنتراسیت می‌پردازد که در آن‌ها جذب طلا کم شده است.

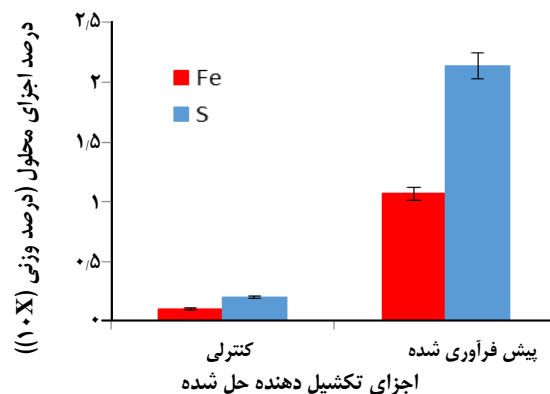
#### تأثیر بر پیریت

برای تعیین تأثیر *فانروکیت کرایسوسپوریوم* در فرآوری زیستی سولفیدها، لازم است که تأثیر محیط کشت بر ماده بررسی شود که بدین منظور آزمایش‌های کنترلی انجام گرفت. از معادله‌ی (۲) به منظور به دست آوردن مقدار مواد سولفیدی و تغییرات میزان آن استفاده شده است. نتیجه‌ها برای نمونه‌های پیریت که برای سه هفته کشت شده بودند در شکل‌های ۷ و ۸ دیده می‌شود. این شکل‌ها نشان می‌دهد که در نبود زی توده قارچی، مقدار بسیار ناچیزی پیریت حل شده است و این میزان حل شدن در حضور قارچ تا حدود ۵ برابر افزایش یافته است.

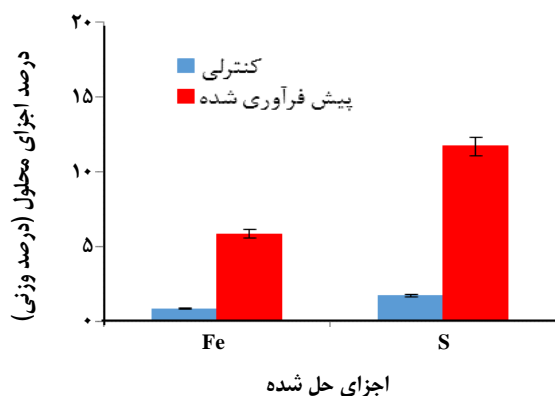
انحلال قارچی پیریت به عنوان تابعی از زمان در شکل‌های ۹ و ۱۰ نشان داده شده است. پس از گذشت ۲۱ روز از ایجاد تماس بین زی توده قارچی و پیریت، حدود ۱/۵٪ وزنی آهن و به تبع آن ۳٪ وزنی گوگرد حل شده است. در شکل‌های ۹ و ۱۰ دیده می‌شود که نسبت انحلال پیریت در مراحل اولیه (تا ۷ روز) در هر دو میزان pH استفاده شده برابر بوده و به تدریج افزایش یافته است. در یک محیط ناپیوسته شبیه آنچه در این آزمایش استفاده شده است، در مرحله‌های اولیه رشد ریزموجود و در نتیجه آن فعالیت شیمیایی



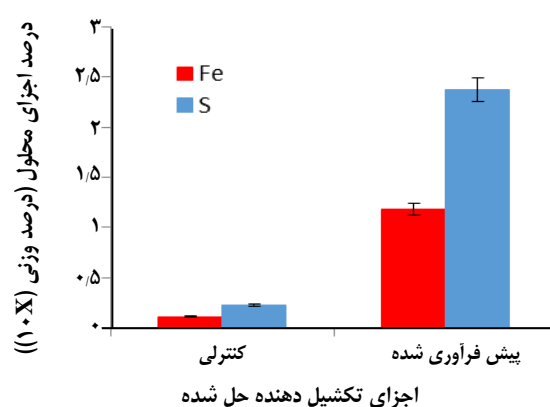
شکل ۶ - میزان آهن و گوگرد حل شده حین تلقیح پیریت با فائروکیت کرایسوسپوریوم. آزمایش‌ها در  $37^{\circ}\text{C}$ ، pH برابر ۴ و جامد ۴۰٪ انجام گرفت.



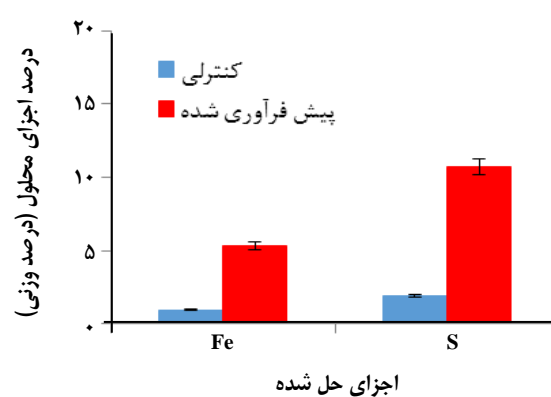
شکل ۷ - پیش فرآوری زیستی دو هفته‌ای پیریت در غیاب و حضور بیومس فائروکیت کرایسوسپوریوم. آزمایش‌ها در  $37^{\circ}\text{C}$ ، pH برابر ۷ و جامد ۴۰٪ انجام گرفت.



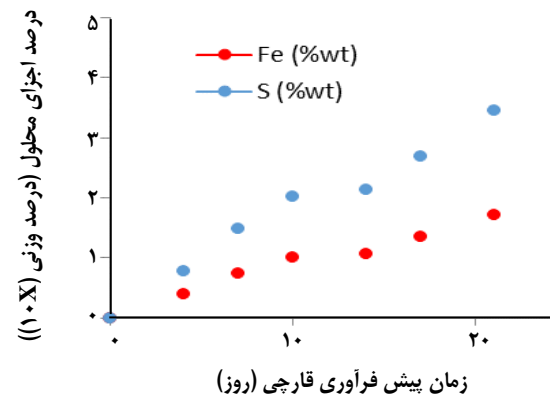
شکل ۸ - پیش فرآوری دو هفته‌ای نمونه‌ی (۱) در غیاب و حضور بیومس قارچی. آزمایش‌ها در  $37^{\circ}\text{C}$  برای ۱۴ روز در pH برابر ۷ و جامد ۴۰٪ انجام گرفت.



شکل ۹ - پیش فرآوری زیستی دو هفته‌ای پیریت در غیاب و حضور بیومس فائروکیت کرایسوسپوریوم. آزمایش‌ها در  $37^{\circ}\text{C}$ ، pH برابر ۴ و جامد ۴۰٪ انجام گرفت.

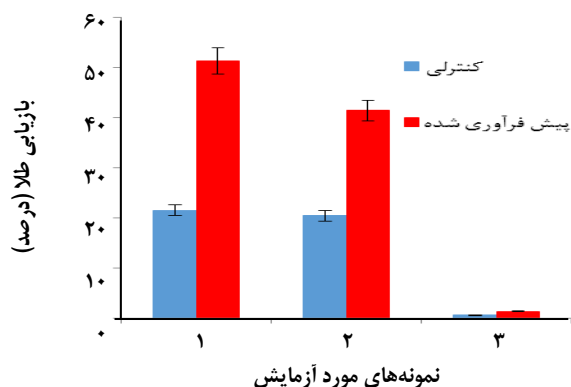


شکل ۱۰ - پیش فرآوری دو هفته‌ای نمونه‌ی (۲) در غیاب و حضور بیومس قارچی. آزمایش‌ها در  $37^{\circ}\text{C}$  برای ۱۴ روز در pH برابر ۷ و جامد ۴۰٪ انجام گرفت.

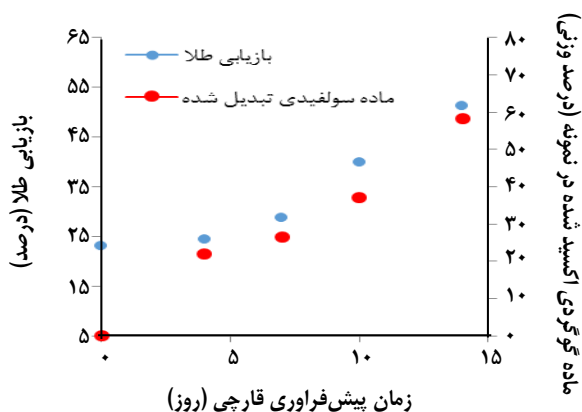


شکل ۱۱ - میزان آهن و گوگرد حل شده حین تلقیح پیریت با فائروکیت کرایسوسپوریوم. آزمایش‌ها در  $37^{\circ}\text{C}$ ، pH برابر ۷ و جامد ۴۰٪ انجام گرفت.

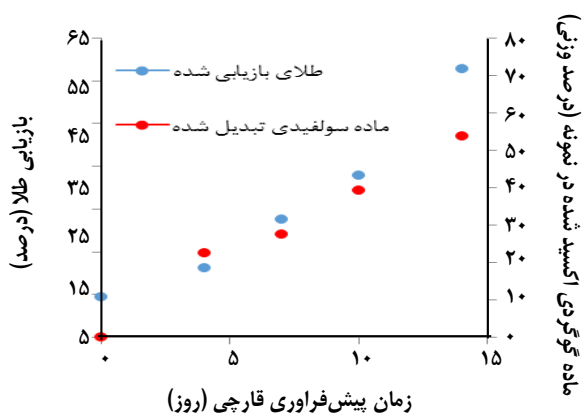




شکل ۱۳ - بازیابی طلا برای نمونه‌های (۱)، (۲) و (۳) در آزمایش‌های کنترلی و پیش‌فرآوری. سیانوراسیون در جامد +۳٪ و pH برابر با غلظت سیانید ۱۰g/l و دمای ۲۵°C انجام شد.



شکل ۱۴ - تغییر میزان ماده‌ی سولفیدی تبدیل شده و طلای استخراجی به عنوان تابعی از زمان در نمونه‌ی (۱). سیانوراسیون در جامد +۳٪ و pH برابر ۱۱ با غلظت سیانید ۱۰g/l و دمای ۲۵°C انجام شد.



شکل ۱۵ - تغییر میزان ماده‌ی سولفیدی تبدیل شده و طلای استخراجی به عنوان تابعی از زمان در نمونه‌ی (۲). سیانوراسیون در جامد +۳٪ و pH برابر ۱۱ با غلظت سیانید ۱۰g/l و دمای ۲۵°C انجام شد.

### تأثیر پیش‌فرآوری قارچی بر سیانوراسیون کان‌های مقاوم طلا

بازیابی طلا از نمونه‌های (۱)، (۲) و (۳) با روش سیانوراسیون برای ۱۴ روز در حالت کنترلی و پیش‌فرآوری شده در شکل ۱۳ به نمایش درآمده که نشان دهنده‌ی افزایش بازیابی طلا به عنوان نتیجه‌ی پیش‌فرآوری قارچی است. بازیابی طلا به ترتیب برای نمونه‌های (۱)، (۲) و (۳) در آزمایش‌های کنترلی ۲۱/۴۵٪، ۲۰/۳۹٪ و ۰/۵۶٪ بود در حالی که پس از پیش‌فرآوری قارچی، بازیابی طلا با همان ترتیب تا ۵۱/۲۵٪، ۴۱/۳۷٪ و ۱/۳۱٪ افزایش یافت. تغییرها در پاسخ‌گویی عملیات سیانوراسیون برای نمونه‌های (۱) و (۲) به عنوان تابعی از زمان در شکل‌های ۱۴ و ۱۵ دیده می‌شود.

پس از عملیات سیانوراسیون و در نبود محیط کشت، طلای استخراج شده از بخش پیش‌فرآوری نشده نمونه‌ی (۱) ۲۳/۱۲٪، از نمونه‌ی (۲) ۱۴/۷۳٪ و از نمونه‌ی (۳) ۰/۱۷٪ است. این مقادیر در پایان دوره‌ی کشت ۱۴ روزه در حضور قارچ، به ۵۱/۲۵٪، ۴۱/۳۷٪ و ۱/۳۱٪ رسید. شکل‌های (۱۴) و (۱۵) نشان دهنده‌ی آن است که شیب نمودار همچنان افزایشی است و با افزایش زمان تماس، می‌توان میزان استخراج طلا را افزایش داد. این ادعا با مقایسه‌ی بین میزان ماده‌ی سولفیدی تبدیل شده و میزان استخراج طلا طی سیانوراسیون برای نمونه‌های (۱) و (۲) که به ترتیب در همان شکل‌ها آمده است، قابل دیدن است. گفتنی است که میزان استخراج طلا از نمونه‌ی (۳) هیچ‌گاه به میزان چشمگیری طی عملیات سیانوراسیون، چه به شکل پیش‌فرآوری شده و چه به شکل اولیه نرسید که به دلیل واکنش ندادن اورپیمنت با محلول سیانوری بوده است.

### نتیجه‌گیری

(۱) توانایی فانروکیت کرایسوسپوریوم در واکنش با مواد کربنی و کاهش ظرفیت جذب طلا توسط آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. از ۲ نوع زغال گوناگون به عنوان ماده‌ی جانشین ماده کربنی موجود در کان‌های مقاوم طلا برای به‌دست آوردن تأثیر پیش‌فرآوری با فانروکیت کرایسوسپوریوم استفاده شد. کاهش ظرفیت جذب طلا در این مواد به ویژه در آنتراسیت، ناشی از توانایی قارچ در کاهش پدیده‌ی طلاربایی ارزیابی شد. از محیط کشت‌های گوناگون برای هر ۲ نوع زغال استفاده شد. نتیجه‌ها نشان‌گر آن بود که از بین مواد گوناگون مورد آزمایش که پیش‌فرآوری شده و یا نشده بودند، تنها آنتراسیت پیش‌فرآوری نشده توانایی جذب مؤثر

نتیجه‌ها بر وجود پتانسیل قارچ *فانروکیت کرایسوسپوریوم* برای اکسید کردن کانی‌های گوگردی موجود در کانه‌ی مقاوم طلا تأکید دارد.

(۴) با توجه به نتیجه‌های به دست آمده، توانایی *فانروکیت کرایسوسپوریوم* برای اکسید کردن سولفیدها و خنثی‌سازی ماده‌ی کربنی به شکل همزمان در کانه‌ی مقاوم طلا سنجیده شد. نتیجه‌ها نشان داد که در pH برابر ۷، در حضور قارچ، از میزان کانی‌های گوگردی موجود در نمونه‌های (۱) و (۲)، بیش از ۵۰٪ کاهش یافت و از ۷٪ وزنی به ۳٪ وزنی رسید. در همین دوره، استخراج طلا از نمونه‌ی (۱) از ۲۵٪ تا بیش از ۵۰٪، از نمونه‌ی (۲) از ۱۵٪ تا بیش از ۴۰٪ و از نمونه‌ی (۳) از ۰/۲٪ تا حدود ۲٪ افزایش یافت. با توجه به روند افزایشی استخراج نسبت به زمان، پیش‌بینی می‌شود با افزایش زمان تماس، استخراج افزایش یافته و مواد سولفیدی بیشتر اکسید شوند. بازیابی‌های به دست آمده در فرایند سیانوراسیون طی این دوره با مقدار اقتصادی فاصله دارند. نتیجه‌های به دست آمده نشان‌گر پتانسیل مناسب قارچ *فانروکیت کرایسوسپوریوم* برای پیش‌فرآوری کانه‌ی مقاوم طلا است.

کمپلکس‌های طلای سیانیدی را داراست و به عنوان مرجع برای بررسی میزان کاهش جذب طلا در سایر نمونه‌ها انتخاب شد. پس از تماس با قارچ، توانایی طلا ربایی آتراسیت بسته به محیط کشت تا حدود ۹۵٪ کاهش یافت.

(۲) از مقایسه‌ی کشت غوطه‌ور با استفاده از PDB و کشت جامد با استفاده از MWB، این نتیجه به دست آمد که MWB محیط کشت بهتری است که در نتیجه‌ی استفاده از آن، کاهش حدود ۹۵٪ طلا ربایی را به دنبال دارد. این یافته‌ها اثبات می‌کند که فرایند پیش‌فرآوری با استفاده از قارچ *فانروکیت کرایسوسپوریوم*، پتانسیل مؤثری برای کاهش طلاربایی دارد و به پژوهش‌های گسترده برای استفاده در مقیاس صنعتی نیازمند است.

(۳) همچنین از *فانروکیت کرایسوسپوریوم* برای بررسی توانایی اکسید کردن کانی‌های سولفیدی و امکان به‌کارگیری آن در پیش‌فرآوری کانه‌ی مقاوم استفاده شد. نتیجه‌ها نشان‌دهنده توانایی این قارچ در اکسید کردن کانی‌های گوگردی است. برای دوره‌ی کشت ۲۱ روزه، در pH برابر ۷، ۳۵٪ وزنی و در pH برابر ۴، ۳۰٪ وزنی پیریت مورد استفاده در کشت، کاهش یافت. مقدار اولیه‌ی پیریت در نمونه‌ی پیش‌فرآوری نشده ۸۲٪ اندازه‌گیری شد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۹

## مراجع

- [1] Marsden J.O., House C.I., *The Chemistry of Gold Extraction*, 2nd ed. Society for Mining, Metall. Explor. (SME), Littleton, Co, USA, (2006).
- [2] Boyle R. W., "The Geochemistry of Gold and its Deposits: Together with a Chapter on Geochemical Prospecting for the Element", *Geological Survey of Canada Ottawa*, (1979).
- [3] Arriagada F. J., Osseo-Asare K., Gold Extraction from Refractory Ores: Roasting Behavior of Pyrite and Arsenopyrite. In: Kudryk, V., Corrigan, D. and Liang, W. W. (Eds.), "Precious Met. Mining, Extr. Process.", The Metallurgical Society of AIME, Warrendale, PA: 367-385 (1984).
- [4] Osseo-Asare K., Afenya P.M., Abotsi G.M.K., Carbonaceous Matter in Gold Ores: Isolation, Characterization and Adsorption Behavior in Aurocyanide Solutions. In: Kudryk V., Corrigan D., Liang, W. W. (Eds.), *Precious Met. Mining, Extr. Process.*, Los Angeles: 125-144 (1984).
- [5] Hausen D.M., Bucknam C.H., Study of Preg Robbing in the Cyanidation of Carbonaceous Gold Ores from Carlin, Nevada. In: Park, W. C., Hausen, D. M. and Hagni, R. D. (Eds.), "Appl. Mineral.", Proceedings of the Second International Congress on Applied Mineralogy, AIME, Warrendale, PA: 833-856 (1984).

- [6] Afenya P.M., Treatment of Carbonaceous Refractory Gold Ores, *Miner. Eng.*, **4**(7): 1043-1055 (1991).
- [7] Ibrado A.S., Fuerstenau D.W., Effect of the Structure of Carbon Adsorbents on the Adsorption of Gold Cyanide, *Hydrometallurgy*, **30**(1): 243-256 (1992).
- [8] Amankwah R.K., Yen W.T., Ramsay J.A., A Two-Stage Bacterial Pretreatment Process for Double Refractory Gold Ores, *Miner. Eng.*, **18**(1): 103-108 (2005).
- [9] Abotsi G.M.K., Osseo-Asare K., Surface Chemistry of Carbonaceous Gold Ores I. Characterization of the Carbonaceous Matter and Adsorption Behavior in Aurocyanide Solution, *Int. J. Miner. Process.*, **18**(3): 217-236 (1986).
- [10] Brierley C.L., Bacterial Oxidation, *Eng. Min. journal. New York NY*, **196**(5): 42-44 (1995).
- [11] Martinko J.M., Madigan M.T., "Brock Biology of Microorganisms, Englewood Cliffs", NJ: Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1, (2005).
- [12] Amankwah R.K., Yen W.T., Effect of Carbonaceous Characteristics on Biodegradation and Preg-Robbing Behavior, in: "Proceedings of 23rd Annual Meeting of International Mineral Processing Conference", Istanbul, Turkey, **2**: 1298-1302 (2006).
- [13] Ofori-Sarpong G., Tien M., and Osseo-Asare K., Myco-Hydrometallurgy: Coal Model for Potential Reduction of Preg-Robbing Capacity of Carbonaceous Gold Pres Using the Fungus, *Phanerochaete Chrysosporium*, *Hydrometallurgy*, **102**(1): 66-72 (2010).
- [14] Mousavi S.M., Yaghmaei S., Salimi F., Jafari A., Influence of Process Variables on Biooxidation of Ferrous Sulfate by an Indigenous Acidithiobacillus Ferrooxidans. Part I: Flask Experiments, *Fuel*, **85**(17-18): 2555-2560 (2006).
- [15] Ofori-Sarpong G., Osseo-Asare K., Tien M., Fungal Pretreatment of Sulfides in Refractory Gold Ores, *Miner. Eng.*, **24**(6): 499-504 (2011).
- [16] Kersten P.J., Kirk T.K., Involvement of a New Enzyme, Glyoxal Oxidase, in Extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Production by *Phanerochaete chrysosporium*, *J. Bacteriol.*, **169**(5): 2195-2201 (1987).
- [17] Ofori-Sarpong G., Osseo-Asare K., Tien M., Mycohydrometallurgy: Biotransformation of Double Refractory Gold Ores by the Fungus, *Phanerochaete chrysosporium*, *Hydrometallurgy*, **137**: 38-44 (2013).