



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

document public

**étude diagnostique et stratégique de
nouvelles cibles et voies de recherches
publiques et privées relatives aux
industries minérales
étude prospective de quelques limites de
la biolixiviation des sulfures**

**Compte rendu de fin d'étude
d'une recherche financée par
le ministère de l'enseignement
supérieur et de la recherche
Décision d'aide n° 91 R 0984**

D. Morin

10/10/94
13. 1994
10/10/94

**octobre 1994
R 38134**

**BRGM
DIRECTION DE LA RECHERCHE
Département Géomatériaux et Géoprocédés
B.P. 6009 - 45060 ORLEANS CEDEX 2 - Tél. : (33) 38.64.34.34**

Fiche signalétique administrative

Numéro de décision d'aide : 91 R 0984

Objet de la décision :

Etude diagnostique et stratégique de nouvelles cibles et voies de recherches publiques et privées relatives aux industries minérales.

Nom du responsable scientifique :

MORIN Dominique
Tél. : 38.64.32.00
BRGM
Direction de la Recherche
Département Géomatériaux et Géoprocédés
Avenue de Concyr
BP 6009
45060 Orléans cedex 2

Objectifs visés à l'origine :

Recueil de données sur les programmes engagés.
Organisation d'échanges entre les opérateurs de recherches publics et privés.
Animation d'un club "Biotechnologies Minérales".
Etudes exploratoires de laboratoire en biotechnologies des minéraux.

Ces objectifs ont-ils atteints ? sinon, pourquoi ?

L'ensembles des activités prévues ont pu être entreprises et les objectifs visés atteints.

D'autres objectifs que ceux visés à l'origine ont-ils été atteints ?

Les résultats obtenus au cours des études laboratoires que ce programme a permis de réaliser n'étaient pas prévus et constituent un apport original dans le domaine des biotechnologies appliquées au traitement des ressources en métaux sulfurés.

Le compte rendu a-t-il un caractère confidentiel ?

Non.

Des brevets ont-ils été pris à l'occasion de la recherche ?

Non.

Conclusion générale de la recherche :

Dans un contexte pour le moins difficile l'effort de soutien à la recherche et à la communication entre les intervenants du secteur des industries minérales fait ressortir résultats techniques de valeur et ouvre de nouveaux horizons.

Les biotechnologies minérales offrent des perspectives à exploiter et les applications sont accessibles à des échéances courtes ou moyennes. Le travail de laboratoire prospectif mené dans le cadre de l'étude a permis de stigmatiser les limites de la biolixiviation des sulfures en matière de concentration solide, montrer la souplesse d'adaptation de cultures à la température de traitement et jeter les bases de l'analyse de l'influence des gaz et de leur disponibilité dans les milieux de cultures.

Fiche Bibliographique

N° de la décision d'aide : 91 R 0984

Objet de la décision :

Etude diagnostique et stratégique de nouvelles cibles et voies de recherches publiques et privées relatives aux industries minérales.

Auteur :

Dominique MORIN

Titre :

Etude diagnostique et stratégique de nouvelles cibles et voies de recherches publiques et privées relatives aux industries minérales. Etude prospective de quelques limites de la biolixiviation des sulfures.

Organisme bénéficiaire :

Bureau de Recherches Géologiques et Minières

Résumé signalétique

Les moyens accordés à travers ce projet ont permis de faire le point sur l'effort de soutien sur l'action valorisation des Ressources Minérales du Ministère de la Recherche et la Technologie ainsi que de l'Agence Française de maîtrise de l'Energie au cours des années 1986 à 1991 et d'en tirer les orientations souhaitables pour l'avenir.

L'organisation d'un colloque sur ce thème et d'une journée consacrée aux biotechnologies minérales ont rappelé l'importance d'un maintien de l'effort d'adaptation des technologies aux nouveaux contextes économiques en matière de valorisation des ressources minérales. Les interventions aux rencontres scientifiques sont fournies dans le rapport.

La biolixiviation des sulfures qui offre un champs très étendu pour une exploitation industrielle déjà entamée, a des limites qu'il faut étudier et repousser. Les travaux menés dans le cadre de cette étude mettent en relief la limite en concentration solide, qui conditionne la taille des équipements des unités industrielles, l'effet de la température sur la croissance du milieu de culture et l'importance des apports gazeux (O₂ et CO₂).

Un état de l'art dans le domaine des biotechnologies minérales est intégré dans ce rapport.

Mots-clefs :

Stratégie de recherche - matières minérales - valorisation - ressources - biotechnologies - biolixiviation.

TABLE DES MATIERES

CHAPITRE 1

CONTRIBUTION A L'EVALUATION DE LA RECHERCHE NATIONALE..... 4

I. BILAN DES JOURNEES "VALORISATION DES RESSOURCES MINERALES"

TENUES LES 3 ET 4 DECEMBRE 1991 4

- I.1. Présentation de la thématique 4
- I.2. Les opérateurs de la recherche 5
 - I.2.1. Le secteur public de recherche 5
 - I.2.2. Caractéristiques et évolution du domaine économique des opérateurs de recherche industrielle..... 7
- I.3. Bilan scientifique des actions Valorisation des Ressources Minérales initiées de 1987 à 1989 9
 - I.3.1. Des résultats scientifiques et techniques directement utilisés par l'industrie 9
 - I.3.2. Des résultats scientifiques et techniques dont la mise en application reste soumise aux évolutions du marché..... 10
 - I.3.3. Des résultats permettant d'initier des programmes scientifiques de plus longue haleine 10
 - I.3.4. Des résultats statuant sur des difficultés technologiques 10
 - I.3.5. Les résultats conduisant à des projets industriels..... 10
- I.4. Perspectives d'actions..... 11

II. TENUE DE LA JOURNEE "BIOTECHNOLOGIES MINERALES" 12

CHAPITRE 2

BIOTECHNOLOGIES DANS L'INDUSTRIE MINERALE 13

PARTIE I - ETAT DE L'ART DES BIOTECHNOLOGIES APPLIQUEES A

L'INDUSTRIE DU TRAITEMENT DES MATIERES MINERALES 14

- I.1. Biolixiviation des sulfures 14
 - I.1.1. Principe général..... 14
 - I.1.2. Les micro-organismes 15
 - I.1.3. Les procédés 15
 - I.1.4. Les procédés statiques 16
 - I.1.5. La biolixiviation en réacteur agité..... 17
 - I.1.6. Impact sur l'environnement des procédés de biolixiviation des sulfures 21
 - I.1.7. Economie des procédés de biolixiviation des matières sulfurées 21
 - I.1.8. Désulfuration du charbon 22
- I.2. Biolixiviation des matières non sulfurées 23
 - I.2.1. Sulfato-réduction 23
 - I.2.2. Traitement des minerais à faible teneur en MnO₂ 23
 - I.2.3. Dissolution des oxydes de fer..... 24
 - I.2.4. Autres traitements étudiés 24
- I.3. Bioextraction des métaux 24
 - I.3.1. Principes de concentration des métaux par voie microbiologique..... 24
 - I.3.2. Les applications..... 25
- I.4. Biodégradation de réactif organique : le cyanure [3]..... 25

PARTIE II INFLUENCE DU POURCENTAGE DE SOLIDE ET DE LA TAILLE DES

PARTICULES SUR LA BIOLIXIVIATION D'UNE PYRITE COBALTIFERE 30

II.1. Matériel et méthodes.....	30
II.1.1. Origine de l'inoculum.....	30
II.1.2. Le substrat sulfuré.....	31
II.1.3. Composition du milieu nutritif	33
II.1.4. Techniques de culture	33
II.1.5. Méthodes analytiques.....	33
II.2. Résultats - Discussion.....	34
II.2.1. Influence du taux de sulfure.....	34
II.2.2. Influence des frictions entre particules	34
II.2.3. Evolution de la vitesse d'extraction en fonction de la surface de pyrite.....	38
II.2.3.1. Résultats expérimentaux	38
II.2.3.2. Application à l'optimisation de la biolixiviation.....	41
II.3. Conclusion	44
PARTIE III : LA TEMPERATURE DANS LES PROCEDES DE BIOLIXIVIATION	46
III.1. Aperçu de l'importance de la température	46
III.1.1. Nécessité de la régulation de température.....	46
III.1.2. Mise en oeuvre du refroidissement.....	47
III.1.3. Les micro-organismes thermophiles extrêmes	48
III.2. Travail expérimental.....	50
III.2.1. Introduction	50
III.2.2. Matériels et Méthodes	50
III.2.2.1 Origine de l'inoculum	50
III.2.2.2 Le substrat sulfuré.....	50
III.2.2.4 Techniques de culture	51
III.2.5.1 Adaptation progressive à la température	52
III.2.5.2 Chocs de température.....	52
III.2.2.6 Suivi analytique des cultures	52
III.2.3. Résultats et Discussion	53
III.2.3.1 Expériences standards.....	53
III.2.3.2 Adaptation progressive à la température	56
III.2.4. Conclusion sur l'adaptation de la population mixte à la température.....	61
PARTIE IV : ANALYSE DES GAZ.....	63
IV.1. Introduction	63
IV.2. Mise en oeuvre de l'analyse des gaz.....	63
IV.2.1 Appareillage	63
IV.2.2 Traitement de l'échantillon gazeux.....	64
IV.2.3 Installation de l'analyse des gaz sur les 2 unités de biolixiviation en continu	64
IV.3. Objectifs de l'analyse des gaz.....	65

Annexe I : Actes des Journées Valorisation des Ressources Minérales.

Annexe II : Liste des communications à la Journée Biotechnologies Minérales.

Introduction

Le présent rapport expose les bilans et résultats du programme de travail qui avait pour objet :

- d'assister l'évaluation de la recherche et du développement dans le domaine des industries minérales par l'organisation d'un colloque et l'édition des actes correspondants faisant le point des travaux de recherche initié par l'action valorisation des Ressources Minérales du Ministère de la Recherche et la Technologie ainsi que de l'Agence Française de maîtrise de l'Energie au cours des années 1986 à 1991 et d'en tirer les orientations souhaitables pour l'avenir,
- d'éclairer plus spécifiquement l'effort et les travaux de recherches dans le domaine pratique des biotechnologies minérales au travers :
 - de l'organisation de rencontres scientifiques et techniques des principaux opérateurs scientifiques techniques nationaux sur ce thème,
 - de la conduite d'études d'orientations permettant de sélectionner des voies de recherche et développement à privilégier à moyen terme.

CHAPITRE 1

CONTRIBUTION A L'EVALUATION DE LA RECHERCHE NATIONALE

I. BILAN DES JOURNEES "VALORISATION DES RESSOURCES MINERALES" TENUES LES 3 ET 4 DECEMBRE 1991

Tenues dans les locaux de l'Ecole Normale Supérieure de la rue d'Ulm, ces journées avait pour objectif de dresser le bilan et la prospective de la recherche publique et industrielle dans le domaine, notamment au travers de l'action incitative conduite par le Ministère de la Recherche et de l'Espace et complétées par les démarches propres de l'Agence Française de la maîtrise de l'Energie et le programme interdisciplinaire pour l'énergie et les ressources minérales (PIRSEM) du CNRS - 26 communications ont été adressées à environ 90 participants.

Elles sont présentées en annexe I

I.1. Présentation de la thématique

La thématique des Valorisations des Ressources Minérales (VRM) peut s'introduire en déclinant les trois composantes principales de son sigle V - R - M.

La composante "M" de Minérales

Les disciplines scientifiques impliquées sont celles du "génie minéral", c'est-à-dire des géosciences appliquées à l'exploitation et à l'utilisation de la matière minérale naturelle, aux différentes échelles de travail, du gîte minéral pour la métallogénie, du gisement pour l'exploration et l'exploitation minières, du minerai et de la substance minérale ou métallique pour la minéralurgie, la métallurgie extractive et le traitement des minéraux industriels. Les techniques mises en oeuvre, quand elles ne sont pas spécifiques à l'industrie minérale, nécessitent des adaptations particulières : méthodes analytiques, biotechnologies, techniques séparatives, rhéologie des milieux complexes... Compte tenu des caractéristiques de la matière naturelle et de la lourdeur des filières industrielles, l'engagement de cette industrie dans une voie technologique apparemment d'emprunt, se traduit le plus souvent par une redéfinition complète des processus opératoires.

La composante "R" de Ressources

Bien que soumise à la cotation et aux cours du marché international ainsi qu'à un fort environnement réglementaire, l'exploitation des matières premières présente un caractère

stratégique important puisqu'il importe :

- d'une part, que la ressource existante soit disponible selon les meilleures performances de productivité et de qualité pour les utilisateurs industriels,
- d'autre part, que les utilisateurs puissent répondre au mieux à leurs besoins en approvisionnement fiable.

Les réserves n'étant pas renouvelables mais soumises aux contraintes géopolitiques, le paramètre de la maîtrise technologique devient essentiel pour les compétiteurs qui sont intéressés à ce que la ressource minérale soit :

- démontrée en tant que réserve minière,
- exploitée rationnellement et avec performance,
- conditionnée pour répondre à la demande du marché.

La composante "V" de Valorisation

C'est la demande industrielle qui impose les besoins de valorisation de la matière minérale, tant sur la nature des produits à extraire que sur la qualité qu'ils doivent satisfaire.

Ainsi, les activités industrielles concernées par la thématique VRM recouvrent principalement :

- l'industrie minière,
- les activités d'extraction et de transformation des minéraux industriels,
- la métallurgie extractive et la transformation en demi-produits.

Ces différents stades de filières sont exercés au niveau français quand on agrège les différentes spécialités :

- sidérurgie,
- Aluminium,
- Cuivre, Plomb, Zinc, Etain,
- Uranium,
- Nickel,
- métaux précieux
- métaux spéciaux (Gr, Co, Ga, Ge, Mn, Mg, Mo, Nb, Si, Ta, Ti, W...),
minéraux industriels et substances minérales diverses (fluorine, potasse, sel, soufre, silice, chaux, réfractaires, phosphates, amendements, granulats, argiles, kaolins, talc...).

Y sont associées plusieurs sociétés de fourniture d'équipements et de services.

Il importe donc que l'effort national de recherche participe au maintien des avancées technologiques du secteur, notamment sur le plan prospectif de l'émergence d'innovations dans un domaine où les fortes contraintes du marché et la lourdeur des choix contribuent fausement à une perception trop traditionaliste des activités.

I.2. Les opérateurs de la recherche

Les opérateurs de la recherche sur la thématique se partagent entre secteur public et secteur privé.

1.2.1. Le secteur public de recherche

Parmi les principaux opérateurs publics de recherche du secteur, on peut distinguer :

- les organismes sous tutelle du Ministère de l'Industrie (Ecoles des Mines, Bureau de Recherches Géologiques et Minières-BRGM),
- les laboratoires universitaires et le CNRS.

Les Ecoles des Mines maintiennent une activité de recherche sur les thèmes de la prospection, l'exploitation et la transformation des matières premières : les deux premiers thèmes sont principalement traités par l'Ecole des Mines de Paris, notamment grâce à son pôle d'excellence en mathématiques appliquées (géostatistiques, analyses d'image,...) ; l'Ecole des Mines d'Alès est plus spécialisée dans le traitement des minerais.

Le BRGM est un opérateur essentiel de la recherche en matière de valorisation des Ressources Minérales. Ses programmes propres s'articulent essentiellement selon deux domaines :

- l'exploration des ressources minérales, tant au niveau :
 - de la méthodologie et des outils à concevoir ou à optimiser,
 - que de l'approfondissement des connaissances géologiques de bases des provinces métallologéniques et de la compréhension des processus de formation de gisements et de l'établissement des guides s'en déduisent,
- le traitement et la valorisation des minerais et minéraux. Le BRGM dispose sur ce point d'un équipement pilote expérimental qu'il importerait sans doute de mieux valoriser à l'échelle nationale ou internationale.

Le dernier point est d'ailleurs révélateur des difficultés structurelles rencontrées dans le fonctionnement et l'appréciation de cet établissement très diversifié dans ses thèmes et dans ses rôles (service public, recherche scientifique, opérateur minier et industriel) : tantôt accusé de concurrence déloyale et d'accaparement de crédits publics, tantôt encouragé pour son côté opérationnel et pluridisciplinaire, il a été certainement soumis à des règles d'arbitrage internes délicates. Probablement à ses références profondes actuellement en cours, l'une des réponses à ce dilemme a été apportée par la procédure de "Recherches en Partenariat Industriel" qui soumet une partie de son budget de recherche au pilotage aval des sociétés industrielles qui s'associent au financement de ces programmes.

Pour ce qui est des laboratoires universitaires et du CNRS, il importe de distinguer :

- ceux qui ont une vocation quasi-exclusive pour la thématique de la valorisation des ressources minérales dont le principale est le laboratoire "Environnement et Minéralurgie" (CNRS, UA 235) associé à l'école de Géologie de Nancy,
- ceux qui émergent à la thématique par leurs spécialités (matériaux, minéralogie, automatisme, chimie minérale et industrielle, métallurgie, biotechnologie..) et qui, le plus souvent ont participé au Programme Interdisciplinaire de Recherche sur l'Energie et les Matières Premières (PIRSEM) du CNRS.

L'ensemble de ces laboratoires correspond sans nul doute à un réseau de hautes compétences dont la sollicitation et la mobilisation, compte tenu des étroitesse budgétaires des

programmes engagés sur le thème des ressources minérales, sont restées limitées en regard de leurs potentialités et technicités sur le sujet.

Il importe enfin de citer des laboratoires ne relevant qu'indirectement et partiellement du secteur public : ainsi le "Centre de Recherche sur la Géologie des Matières Minérales et Energétiques - CREGU", créé à l'initiative du CEA et de cinq compagnies impliquées dans l'exploration de l'Uranium, constitue en fait une équipe de métallogénistes et géochimistes de renommée internationale.

Il est clair que toutes ces unités de recherche ont dû, pour aborder la thématique des matières premières minérales, s'associer étroitement :

- aux importantes équipes de recherche industrielle des grands groupes concernés (Péchiney, Rhône-Poulenc, Cogema, Metaleurop, Eramet-SLN, DAMREC EMC-Potasse d'Alsace),
- aux courageuses sociétés privées de recherches sous contrat qui relèvent le défi du développement technologique de filières aussi lourdes.

1.2.2. Caractéristiques et évolution du domaine économique des opérateurs de recherche industrielle

Un certain nombre de caractéristiques sont bien spécifiques à ce domaine économique.

Un ensemble diversifié mais significatif

Il représentait un chiffre d'affaires de plus de 60 milliards de francs en 1989 à partir de près de 200 entreprises françaises employant 40 000 salariés. Pour la même année, au niveau européen, le seul secteur des métaux non-ferreux concernait 0,26 % des emplois industriels, à savoir :

33 000 emplois liés à l'extraction des minerais,
366 000 emplois liés à la métallurgie.

Un syndicat professionnel important du domaine est la Fédération des chambres syndicales des Minerais, Minéraux Industriels et Métaux Non-Ferreux (Fédération des Minerais et Métaux) qui a d'ailleurs produit en mai 1991 un fascicule de "Thèmes Prioritaires, pour une collaboration avec la Recherche Publique". Elle ne manque pas d'apporter son soutien et son encouragement à l'action VRM et s'élève rapidement de ses restrictions budgétaires.

Une internationalisation croissante

Avec plus de 35 % de son chiffre d'affaires réalisé à l'exportation, l'industrie des minerais et métaux est très présente sur les marchés internationaux.

Compte tenu du caractère technologique des produits, les courants d'exportation directe sont dirigés vers des pays développés (CEE, USA, Japon, Asie du Sud-Est) et sont assurés non seulement par des produits transformés mais également par des ventes de technologie (électrolyse de l'aluminium de Pechiney par exemple).

Rappelons ici que si les Japonais ont maintenu sur leur territoire une base arrière avec des gisements non compétitifs (les kurokos sont cachés et leur exploitation coûte cher), c'est que pouvant ainsi apprécier les marges de leurs interlocuteurs, ils sont mieux armés pour obtenir les meilleurs prix.

Un secteur très capitalistique

Les seuils d'investissements sont particulièrement élevés : on estime l'investissement nécessaire à la création d'un emploi à 500 000 £ pour une fonderie de zinc, à 1 320 000 \$ pour une raffinerie de nickel, à 1 200 000 \$ pour une usine d'aluminium.

Une activité marquée par le cotation et le cours

La loi du marché est très sensible aux variations même marginales de l'offre et de la demande. Elle est difficile à prévoir et à subir.

De plus, les recettes et les coûts sont très largement dépendants des parités monétaires et notamment de celle du dollar.

Une forte sensibilité à l'environnement réglementaire

Il est essentiel que le sol français ainsi que celui de l'Europe demeure une terre d'investissement pour les opérateurs français et étrangers dans un domaine par essence très capitalistique et exposé aux cycles conjoncturels, de même que les opérateurs français et européens doivent pouvoir avoir accès à la ressource partout dans le monde et y développer leurs activités dans un contexte concurrentiel libéral.

Cela implique l'aménagement d'un "environnement "économique, administratif et réglementaire.

Les contraintes de l'environnement, au sens physique du terme, sont d'ailleurs elles aussi de plus en plus intenses. Si l'on s'intéresse aux pays anglo-saxons de forte tradition minière, il semblerait que dès aujourd'hui, 25 % de la surface de l'Australie sont inéligibles pour l'exploration, et demain, si tous les projets de protection de l'environnement sont approuvés, ce serait 50 % de la totalité du continent. Pour les USA, 350 000 km² sont déjà actuellement gelés. Par ailleurs, les surcoûts engendrés par certaines mesures de "green audit" ont paralysé de nombreux projets. Parallèlement, plusieurs PVD possédant des zones géologiquement favorables, se dotant de législations minières et fiscales libérales, provoquent une tendance certaine à la délocalisation de l'exploration minière si bien que les pays riches de forte tradition minière pourrait en voir leur problématique se rapprocher de celle de la France, apparemment pauvre par son patrimoine naturel, et donc soumise à une nouvelle pression de la compétition internationale.

Un caractère stratégique de matières premières

Une matière est d'importance stratégique si son indisponibilité affecte gravement et irréversiblement l'utilisation et le développement vers l'aval.

Parmi les questions alors posées, on peut ici relever par exemple les suivantes :

Doit-on s'en remettre aux règles du négoce international ? L'Etat doit-il intervenir en économie de marché dans le secteur des matières de base ? Stocks d'entreprises ou stocks stratégiques ?

La complémentarité et donc la solidarité Nord-Sud est-elle compatible avec le libéralisme économique s'appliquant aux courants d'échanges sur les matières premières ?

Le 14 mai 1991, Monsieur FAUROUX, Ministre de l'Industrie et de l'Aménagement du Territoire, rappelait les quatre points faisant l'objet de la politique du gouvernement :

- le soutien de l'effort de recherche des opérateurs industriels, en collaboration avec les établissements public de recherche,
- la promotion de règles stables du commerce international,
- la protection de l'environnement,
- le maintien et l'ajustement d'un stock national de précaution.

Au delà donc de ces grandes caractéristiques du secteur économique, il importe de revenir sur l'évolution du cadre conjoncturel français pour la période considérée.

Conjoncture des matières premières minérales en France

Elle reflète les grandes tendances internationales traduites dans la seconde moitié des années 80 par une dépression des prix en francs français des métaux de base et d'alliage qui a provoqué l'abandon de toute vocation minière de 5 des 12 opérateurs français et induit différentes réorientations du secteur industriel :

- la focalisation des exploitants miniers sur les sujets "or" (BRGM, Elf, Total Compagnie Minière, Cogema...), ce métal plus spéculatif étant sensé pouvoir soutenir l'activité en période de dépression du marché des autres métaux plus techniques,
- la reconversion interne à l'industrie minérale par le redéploiement de l'exploitation des minéraux industriels dont la demande technique est en bonne évolution (IMETAL, BRGM...),
- l'intégration dans les filières plus aval de la métallurgie, notamment au niveau des métaux spéciaux (Metaleurop, Eurotungstène...).

Les événements des pays de l'Est ont enfin instauré un flou sur les marchés dont il est difficile d'évaluer la remise à l'équilibre quand :

- ces pays ne seront plus en mesure d'y mettre, et à des conditions anormales de prix des tonnages susceptibles de porter préjudice aux métallurgistes occidentaux à peine restructures,
- une réduction de capacité d'un bon nombre d'unités de production orientales sera produite par l'ouverture aux règles internationales de compétitivité.

I.3. Bilan scientifique des actions Valorisation des Ressources Minérales initiées de 1987 à 1989

La seconde action fédérative démarrée en 1986, sur le thème de l'information de procédés de traitement des minerais.

1.3.1. Des résultats scientifiques et techniques directement utilisés par l'industrie

A la faveur de contrats de l'action VRM, le fonctionnement d'un certain nombre d'unités industrielles a été optimisé, citons par exemple :

- l'amélioration de la productivité du four à zinc Imperial Smelting par modification du haut du four grâce à un nouveau design issu d'une modélisation théorique (Metaleurop Recherche - Armines),
- les innovations dans la conduite d'une chaîne industrielle d'agglomération des minerais de zinc (Metaleurop Recherche - Ecole des Mines de Nancy),
- l'étude de propriétés fines d'argiles des Charentes qui a permis une conduite paramétrée de plusieurs opérations de traitement industrielles (Argiles et Minéraux - AGS - Institut National Polytechnique de Lorraine),
- la mise au point de techniques analytiques de dosage de métaux en très faibles teneurs disponibles pour les opérateurs industriels d'exploration minière (BRGM - Institut National Polytechnique de Lorraine),
- l'étude minéralogique du comportement de feldspaths et de micas qui a conduit à redéfinir et réinstaller une chaîne industrielle de séparation magnétique à haute intensité (Feldspaths du Midi - BRGM).

1.3.2. Des résultats scientifiques et techniques dont la mise en application reste soumise aux évolutions du marché

Ils représentent alors un élément du portefeuille industriel des sociétés susceptibles d'être exploitées en fonction de la conjoncture économique. Des exemples en sont fournis par une étude qui a conduit à une prise de brevet sur un procédé d'extraction hydrométallurgique du Rhénium (Uranium Pechiney, Institut national polytechnique de Lorraine), ainsi que par les travaux sur la mise en valeur des argiles du Bassin Parisien (BRGM - Université d'Orléans).

1.3.3. Des résultats permettant d'initier des programmes scientifiques de plus longue haleine

Il s'agit là de l'ouverture de voies de recherches scientifiques et technologiques innovantes comme :

- l'application de nouveaux dispositifs supraconducteurs à la séparation magnétique sous très haut champ (BRGM - Institut national polytechnique de Lorraine), étude poursuivie dans le cadre de recherches européennes,
- l'épuration du Titane et d'alliages par plasma thermique inductif (Extramet - ENSCP) dont l'étude est poursuivie en partenariat industriel,
- l'oxydation catalytique des minerais (TCM - ENSCP) qui apparaît comme une voie prometteuse pour diverses applications.

1.3.4. Des résultats statuant sur des difficultés technologiques

Il a ainsi été permis d'explorer quelques voies technologiques dont les difficultés de mise en oeuvre ont été explicitées :

- pour la mise au point d'appareillages de mesures des teneurs et des données optiques par traitement de l'image d'un front de taille (Tecminemet - Armines),
- pour la valorisation par voies physiques et chimiques des métaux précieux des catalyseurs usagés de postcombustion (Metaleurop Recherche - Comptoir Lyon Allemand Louyot - Institut national Polytechnique de Lorraine).

1.3.5. Les résultats conduisant à des projets industriels

Il importe ici de revenir sur les programmes ayant induit des projets en procédure de "sauts technologiques".

L'étude des nouvelles voies d'approvisionnement en concentrés germanifères ainsi que la préparation de dérivés organiques de métaux spéciaux ont permis à la société Metaleurop de structurer un pôle de compétence mis à profit dans le projet "saut technologique" sur "le développement de nouvelles voies d'élaboration de métaux et de composés métalliques de haute pureté à base d'Indium et de Germanium".

La thématique des "coulis sorbeurs à base de ciment et d'argiles" a été initiée à la faveur du programme VRM "Valorisation de matériaux argileux par mélange avec du ciment pour la mise en place de métaux lourds" (Solétanche - Armines - COGEM). Transposé à la problématique de polluants organiques, le sujet a été repris par Solétanche dans le cadre de la procédure "Sauts technologiques" et une labellisation Eureka serait projetée

Enfin, il importe de souligner la signature par le Gouvernement Ougandais de l'accord de développement, au travers d'un joint-venture associant le BRGM et une filiale de la banque anglaise Barclays, du projet de réexploitation d'anciennes haldes cobaltifères de la mine de cuivre de Kilembe par traitement biominéralurgique. Malgré une forte concurrence internationale liée à l'envolée des cours du cobalt, ce marché a été gagné principalement par la proposition technique du biotraitement qui seul permet une limitation et un dimensionnement optimal de l'investissement et présente des souplesses d'exploitation plus compatibles avec les conditions locales. Une phase d'expérimentation pilote est prévue avec le soutien de l'ANVAR préalablement à l'exploitation industrielle qui devrait produire 1 000 t/an de cobalt. Ce succès est à mettre au crédit des avancées biotechnologiques de la filière minérale française que l'action VRM avait soutenue dès l'origine au travers notamment de deux études comparées des conditions d'aération et oxydation des minerais (BRGM-ENSIC d'une part, COGEMA, INPL, CNRS-CPB d'autre part).

Plus généralement, la thématique des "biotechniques minérales" s'est révélée porteuse d'espoirs industriels importants et une journée spécialisée a été programmée spécifiquement pour faire un point précis des avancées scientifiques et techniques.

1.4. Perspectives d'actions

On peut reprendre ici les conclusions des journées qui ont été sur ce point les suivantes.

Il est clair que les thèmes de recherche liés à l'exploration et l'exploitation minières françaises ont souffert du désengagement industriel de ce secteur. On est toutefois en droit de se poser la question du seuil critique à satisfaire en une période où la maîtrise technologique peut se révéler une garantie industrielle prépondérante dans les filières à géopolitique incertaine.

Il est également clair que la métallurgie extractive avec ses quatre composantes, physique et physicochimique, hydrométallurgique, pyrométallurgique et biotechnologique, ainsi que la problématique des minéraux industriels dont on constate l'expansion économique et dont la notion peut mériter d'être étendue à tous les matériaux de carrière, doivent demeurer le noyau dur d'une action à mener pour le développement de la valorisation des ressources minérales.

La prise en considération des contraintes environnementales, tant au niveau des procédés qui se doivent d'être toujours plus propres, qu'en termes de conception des produits finaux ou encore de nouvelles applications pour des matériaux naturels, ouvre un champ important à l'innovation technologique et à la réflexion fondamentale sur la gestion rationnelle de la matière première minérale.

Il est probable que les cycles d'extraction, production, transformation, consommation, traitement des résidus de la matière minérale doivent être éclairés, dans leur stratégie globale, par des données de type, par exemple, géochimiques, écotoxicologique, voire sociologiques, confrontées aux connaissances détenues par les hommes de procédés et d'exploitation et à leurs soucis de performance tant sur les moyens que sur les produits.

II. TENUE DE LA JOURNEE "BIOTECHNOLOGIES MINERALES"

Organisée dans les locaux du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, le 24 novembre 1993, la journée "Biotechnologies Minérales" a permis d'actualiser l'avancée des connaissances et faire le point sur les programmes de recherche en cours et à venir.

Elle a réuni environ quatre vingt chercheurs ou industriels nationaux autour de trois thématiques principales :

- l'oxydation de minéraux sulfurés,
- l'épuration des minéraux industriels,
- les traitement des effluents.

Ces trois domaines d'applications particulièrement prometteuses, impliquent d'associer une démarche de connaissance fondamentale sur les mécanismes et la génétique des organismes en liaison avec les espèces minérales, et un développement d'un genre de procédés spécifiques.

Le premier des thèmes est particulièrement important tant sur le plan environnemental pour la maîtrise du lessivage des espèces sulfurés à l'origine des eaux acides des gisements, que sur celui de la métallurgie extractive par bioprocessus.

Le deuxième thème s'articule autour des problématiques d'élimination des porteurs du fer dans les minéraux industriels et celui de l'évolution et de l'élimination potentielle des matières organiques des argiles.

Le troisième thème ouvre les vastes horizons du traitement biologique des déchets effluents dans lequel le problème du comportement des métaux est bien spécifique.

Le détail du déroulement de la journée est présenté en annexe II.

CHAPITRE 2

BIOTECHNOLOGIES DANS L'INDUSTRIE MINERALE

Le chapitre de ce rapport a deux objectifs :

- présenter un état de l'art succinct dans le domaine des biotechnologies appliquées au traitement des minerais ou des minéraux,
- faire part de résultats de travaux réalisés dans le cadre du projet pour l'amélioration des connaissances et du savoir-faire dans le domaine le plus prometteur, celui la biolixiviation de minerai sulfuré. En l'occurrence il s'agit de la biolixiviation de pyrite porteuse de cobalt.

PARTIE I - ETAT DE L'ART DES BIOTECHNOLOGIES APPLIQUEES A L'INDUSTRIE DU TRAITEMENT DES MATIERES MINERALES

Introduction

La mise en oeuvre de matière vivante pour le traitement de matière minérale est à la croisée de plusieurs chemins; la microbiologie, la pédologie, la géologie, la géochimie et la minéralurgie ou science du traitement des matières minérales.

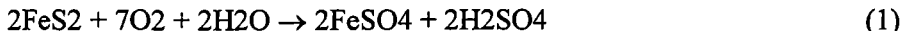
L'hydrométallurgie, domaine relatif à la séparation et à la récupération des métaux par voie aqueuse, est le lieu de rencontre. Milieu de confinement des produits de réactions des minéraux, la solution aqueuse de l'hydrométallurgie rappelle le milieu baignant le monde des micro-organismes.

Il est bien clair que toutes les opérations de concentration des métaux mises au point par l'homme trouvent un écho dans la nature. Le monde biologique y participe en décomposant par action directe ou indirecte la matière minérale, en constituant un milieu favorable à la circulation du métal en phase aqueuse ou en immobilisant ce métal.

1.1. Biolixiviation des sulfures

1.1.1. Principe général

La biolixiviation des sulfures métalliques met en jeu des bactéries dont l'action catalytique consiste à accélérer les étapes limitantes de l'oxydation des sulfures. La pyrite, FeS₂, est le sulfure métallique le plus abondant et le plus concerné par une telle oxydation, les étapes réactionnelles de la transformation sont les suivantes :



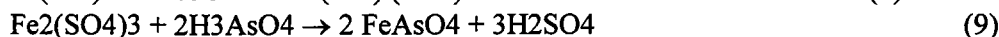
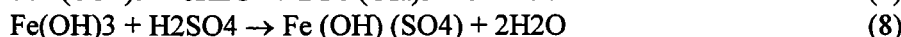
Les réactions (1), (2) et (4) sont activées par les bactéries. La réaction (1) constitue la voie de transformation biologiquement catalysée dite directe. Le couplage des réactions (2) et (3) constitue la voie de transformation dite indirecte.

On notera que globalement il y a production d'acide sulfurique et d'un oxydant puissant, le fer ferrique. Un autre composé sulfuré très proche de constitution et notoirement présent avec la pyrite peut subir le même type de transformation, il s'agit de l'arsénopyrite FeAsS. Les réactions spécifiques d'oxydation de l'arsénopyrite sont les suivantes :



Par ailleurs, dans le milieu aqueux, l'arsénite (AsIII) est susceptible d'être oxydé en arséniate (AsV) par action du fer ferrique généré par la réaction (2).

A ces réactions d'oxydation, il faut ajouter des réactions de précipitation induites par les fortes concentrations de fer ferrique :



Le composé Fe(OH)(SO₄) est de la jarosite. Sa composition véritable est MFe₃(OH)₆(SO₄)₂, M représentant H₃O⁺, K⁺ ou Na⁺.

L'ajout de calcaire ou de chaux pour réguler l'acidité du milieu conduit par ailleurs à la précipitation de gypse, CaSO₄·2H₂O et d'arséniate de calcium.

Les réactions d'oxydation des sulfures sont fortement exothermiques et comme on le verra plus loin l'évacuation de la chaleur est un point critique de la mise en oeuvre des procédés.

Il apparaît ainsi que la biolixiviation des sulfures met en présence un grand nombre de phases

dont aucune est inerte vis-à-vis des autres et dont il faudra tenir compte individuellement et mutuellement tout au long du traitement. Parmi les phases solides il y a donc le ou les composés sulfurés attaqués et leur gangue inerte ainsi que les précipités oxydés. L'ensemble de ces solides devra être maintenu accessible à la phase aqueuse et aux bactéries. La phase aqueuse est très chargée ioniquement, acide (pH de 1 à 2,5) et oxydante (Eh de 700 à 1000 mV/H₂). La phase biologique est peu abondante (quelques g/l), peu fragile mais elle doit tout de même être protégée d'agressions chimiques et physiques. Une phase gazeuse apportant l'oxygène doit être distribuée de façon homogène dans le milieu.

On verra plus loin en détail que suivant la technique, le solide à traiter pourra être broyé finement (particules < 100 µm), concassé (quelques cm), ou seulement fracturé (blocs métriques).

Comme il va être détaillé ci-après, le processus de biolixiviation est appliqué en vue de décomposer un sulfure métallique pour dissoudre un métal de valeur comme le cuivre, l'uranium, le cobalt ou le zinc, qu'il faudra extraire de la phase aqueuse ou pour libérer un métal d'une gangue sulfurée, lequel métal sera récupéré du résidu de biolixiviation ultérieurement, comme les métaux précieux : or et argent.

La phase aqueuse, outre les éléments minéraux dissous, contient les éléments nutritifs nécessaires au métabolisme des bactéries, il s'agit de composés d'azote, phosphore, potassium et magnésium.

1.1.2. Les micro-organismes

Les bactéries employées en biolixiviation des sulfures sont des micro-organismes indigènes des gisements métallifères sulfurés.

Elles sont essentiellement chemolithoautotrophes ; elles se développent en puisant elle-même leur énergie de la transformation des minéraux et le CO₂ de l'air est leur source de carbone plus ou moins exclusivement.

Elles sont acidophiles; pH optimum de croissance 1,5 à 3,5 environ.

Compte tenu du milieu décrit précédemment et de leurs caractéristiques, elles croissent dans des conditions qui sont stérilisantes pour tout autre micro-organisme.

Les bactéries utilisées à l'échelle pilote ou industrielle actuellement sont mésophiles ou thermotolérantes (T de 35 à 45°C thiobacilles et leptospirilles). Des bactéries thermophiles comme les sulfobacilles (optimum de croissance à 50°C) voire thermophiles extrêmes comme *Sulfolobus* (optimum de croissance à 70°C) ont été isolées et ont fait l'objet d'essais de traitement par comparaison avec les bactéries mésophiles.

Les bactéries les mieux étudiées appartiennent au genre thiobacille.

Thiobacillus ferrooxidans et *Thiobacillus thiooxidans* :

- *Thiobacillus ferrooxidans* est morphologiquement un bâtonnet de 0,2 à 2 µm de long et 0,3 à 0,8 µm de large. Elle est gram-négative et aérobie stricte et possède un flagelle unique. Elle tire son énergie de l'oxydation des formes réduites du soufre et du fer ferreux en fer ferrique.

- *Thiobacillus thiooxidans* a virtuellement les mêmes caractéristiques excepté qu'elle ne tire son énergie que de l'oxydation des formes réduites du soufre.

Leptospirillum ferrooxidans :

- Bactérie gram-négative elle aussi, elle a une forme de virgule plus ou moins allongée allant jusqu'à quelques microns et 0,5 micron de large et possède aussi un flagelle lui assurant sa mobilité. Sa propriété est de tirer son énergie de l'oxydation du fer ferreux, elle est aérobie stricte. D'autres micro-organismes sont parfois associés aux trois espèces précitées, en particulier des hétérotrophes.

La biolixiviation met en jeu des cultures mixtes des thiobacilles et de leptospirilles. Ces cultures sont le résultat d'une adaptation de la biomasse au substrat minéral, selon les conditions de la culture ; pH, concentrations des espèces métalliques en solution, température, etc. Pour donner un exemple, on sait que *Leptospirillum* est plus tolérant à l'égard du fer ferrique que T.f. et cette propriété est un moyen de l'isoler d'une culture mixte. La composition du milieu en élément nutritif est aussi une caractéristique du substrat qui peut être une source de magnésium, phosphore et potassium à partir de laquelle il faut déterminer la composition

optimale. Le milieu de référence dit de Silverman et Lundgren a la composition suivante: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3,7 g/l, KOH 0,5 g/l, HPO_4 (80 %) 0,8 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l et 9 g/l de fer ferreux (FeSO_4).

1.1.3. Les procédés

On distingue les procédés statiques et le procédé dynamique. Les procédés statiques consistent à réaliser la biolixiviation en faisant percoler la solution aqueuse à travers la masse du substrat solide que l'on aura fracturé ou concassé. Le procédé dynamique consiste à confiner la réaction dans des réacteurs agités et aérés.

Les traitements statiques de moindre coût de revient s'appliquent aux gisements à faible teneur ou stériles de traitements ultérieurs (minerais de cuivre, uranium). Le traitement en réacteur coûteux mais rapide concerne des minerais plutôt riches, et de métaux de haute valeur ajoutée (Au).

1.1.4. Les procédés statiques

La figure 1 montre les diverses techniques employées pour le traitement de minerai de cuivre.

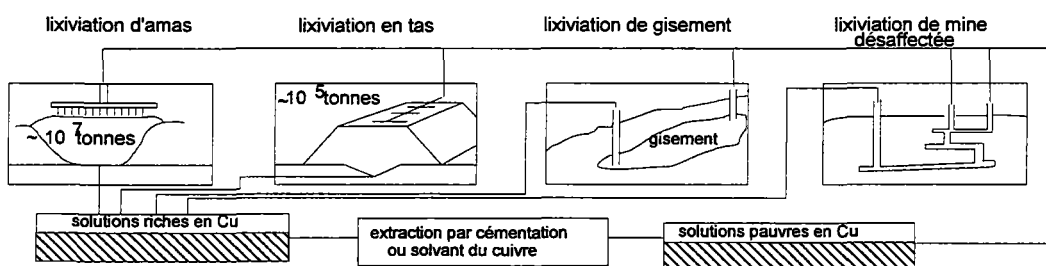


Fig. 1. - Aperçu des diverses techniques de lixiviation statique appliquée aux minerais de cuivre (d'après HUGHES et POOLE référence dans la documentation).

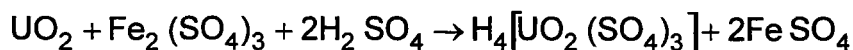
Le traitement in-situ s'applique lorsque l'encaissant, qui environne le dépôt sulfuré, est imperméable et permet la récupération de solution lixiviante. La technique peut consister à traiter le dépôt vierge lui-même ou les galeries de mine après extraction des ressources valorisables par un traitement conventionnel. Dans les deux cas, le gisement et son environnement doivent avoir des caractéristiques évitant tout risque pour l'environnement; confinement, limites spatiales parfaitement connues, porosité du dépôt et imperméabilité de l'encaissant.

Le traitement d'amas concerne des haldes de mine, ou des minerais à faible teneur (< 0,4 % Cu) comme à Bingham Canyon aux Etats-Unis ou des amas de plusieurs millions de tonnes sont constitués. Le minerai déchargé par camion sur un sol étanche est directement issu de la mine et va, en taille, de fines particules à des blocs de plusieurs mètres.

Une précaution importante est prise pour éviter le tassement et le compactage de la matière solide. La solution dont on arrose la surface des amas doit percoler au mieux.

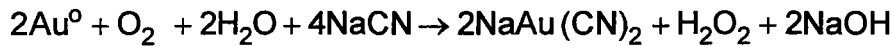
La solution lixiviante est une eau acide (pH 1,5 à 2,0) à laquelle on aura pu ajouter des éléments nutritifs (surtout azote, dans des proportions à établir au laboratoire). Après percolation, la solution riche contient plusieurs grammes par litre de cuivre, qui est récupéré par cémentation sur fer ou extraction par solvant et électrolyse.

La lixiviation en tas utilise du minerai concassé jusqu'à quelques centimètres déposé sur un sol compacté et étanchéifié par un revêtement plastique, sur une hauteur de quelques mètres. L'arrosage et la récupération des solutions lixiviantes sont plus sophistiqués que pour les techniques précédentes. La lixiviation en tas est en France appliquée aux minerais d'uranium à faible teneur. Elle exploite le fer ferrique produit par oxydation biologiquement catalysée du fer ferreux, à travers la réaction suivante :



Les moyens utilisés s'apparentent à ceux de la cyanuration en tas des minerais d'or.

Il est aussi proposé de traiter par voie statique en deux étapes certains gisements aurifères sulfurés (Carlin aux Etats Unis). Dans un premier temps, on applique une biolixiviation pour libérer l'or d'une gangue sulfurée et désactiver de la matière carbonée naturelle qui piège l'or au cours de la cyanuration. Dans un second temps, on procède à la neutralisation de l'acide produit par biolixiviation et puis à la cyanuration sur le même tas pour récupérer sélectivement l'or. La cyanuration de l'or obéit à la réaction suivante :



L'oxydation de l'or est due à la très grande stabilité de son complexe cyanure. Avec moins d'un gramme par litre de cyanure, la réaction peut être très efficace et très sélective vis à vis des autres métaux. Toutefois, le cyanure, extrêmement dangereux parce que réactif très volatile en milieu acide, doit être utilisé à pH alcalin, en général 10-10,5, d'où la neutralisation nécessaire entre biolixiviation et cyanuration. On a par ailleurs cherché à utiliser d'autres réactifs lixivants de l'or, telle que la thiourée, mais sa consommation s'est avérée très élevée et trop coûteuse par rapport à celle du cyanure.

La dernière forme de lixiviation statique est la lixiviation en stalle noyée. Comme son nom l'indique, elle consiste à maintenir le minerai confiné sous eau. C'est, des moyens déjà cités, celui qui permet le contact le plus intime avec la solution mais qui limite aussi considérablement l'accès de l'oxygène nécessaire à l'oxydation des sulfures et du dioxyde de carbone, nécessaire à la croissance des bactéries. Mais, à ce propos, faisons la liste des limites de la lixiviation statique :

- le manque d'accès de la surface des sulfures à l'attaque du fait du fractionnement trop limité des solides ;
- le manque d'accès des gaz O_2 et CO_2 ;
- des effets de surchauffe localisés dus à un emballement de l'oxydation, qui détruisent la biomasse.

En conséquence, les traitements statiques sont lents : quelques semaines à quelques mois par lixiviation en tas, à plusieurs années pour les lixiviations d'amas.

1.1.5. La biolixiviation en réacteur agité

Cette technique confine le traitement dans des réacteurs équipés d'une agitation mécanique qui maintient une suspension homogène du solide et une dispersion efficace de l'air injecté.

Le minerai est concassé, puis broyé en particules inférieures à 40 à 100 μm , tout dépend de la cinétique de biodégradation des sulfures. Plus petite sera la taille des particules, plus grande sera la surface disponible pour l'attaque bactérienne, et par conséquent plus rapide la réaction de dégradation. Une flottation peut permettre de concentrer la phase riche en sulfure porteur du métal à extraire. Le minerai ou le concentré mis en pulpe est dirigé en biolixiviation qui est opérée dans une série de réacteurs généralement en plusieurs séries parallèles.

La concentration de solide est limitée à une valeur proche de 20 % (rapport en pourcentage de la masse de solide sur la masse de pulpe) variable suivant le minerai traité. Il est bien évident que pour un débit donné de minerai et une rétention nécessaire en biolixiviation, la concentration de solide de la pulpe fixe la taille des bioréacteurs. On cherche donc à l'élever le plus haut possible. La limitation observée n'a pas encore été expliquée; excès de substrat sulfuré conduisant à une inhibition de la croissance des micro-organismes, excès de composés extra-cellulaires, diminution des coefficients de transferts gaz-liquide ou pulpe ? Des recherches sont en cours. La température de traitement est généralement de l'ordre de 35°C au cours des études mais en pratique industrielle on essaie de l'élever le plus possible car l'exothermicité des réactions d'oxydation impose un refroidissement spécifique du milieu et parce que les cinétiques de biodégradation sont plus rapides à température élevée.

A Fairview Mine, en Afrique du Sud, le milieu est à une température de 40 à 45°C [1] et la société Bactech en Australie emploie une culture thermophile modérée travaillant à près de 50°C.

Dans la pratique la croissance des micro-organismes qui engendre l'effet catalytique d'oxydation est réalisée suivant le principe du chemostat, c'est-à-dire que le débit de substrat est maintenu à un niveau tel que les bactéries qui s'en nourrissent sont générées dans le premier réacteur de la série en cascade et que leur population se maintient constante et optimale dans chaque réacteur. Il y a équilibre pour maintenir la vitesse d'oxydation la plus élevée possible, avec le taux le plus bas d'inhibition par les produits de réaction mais en évitant l'entraînement de la population hors des réacteurs. Le recyclage d'une partie de la solution après neutralisation partielle de l'acidité permet de recycler de la biomasse et du fer ferrique qui va aider l'oxydation des sulfures suivant le mécanisme indirect.

La population bactérienne en solution est de l'ordre de 10^9 cellules/ml, ce qui correspond à une concentration en pulpe de quelques grammes par litre. L'évaluation de la population se fait essentiellement par comptage sous microscope optique en boîte de Thoma, mais aussi par dosage des protéines et les techniques d'immuno-fluorescence permettent de distinguer les micro-organismes vivants des micro-organismes morts. Les bactéries attachées au solide peuvent être dénombrées après usage d'un surfactant (Tween). En réacteur agité la population bactérienne se répartit en proportions comparables en solution et sur le solide, mais le taux de recouvrement de la surface du solide est très faible, quelques pour-cent seulement.

Le temps de rétention du solide dans une unité continue de biolixiviation est une donnée variable (2 à 5 jours) suivant plusieurs paramètres :

- la biodégradabilité du sulfure,
- la teneur en sulfure du minerai ou du concentré,
- le degré d'attaque nécessaire pour libérer le métal à extraire de sa gangue sulfurée,
- la combinaison de la biolixiviation avec une autre technique d'oxydation des sulfures comme la lixiviation sous pression.

Les bactéries sont assez peu sensibles à la pureté de l'eau, mais trois composés sont connus pour inhiber leur croissance : le nitrate, le cyanure et le thiocyanate, ceci à des concentrations de quelques mg/l. La présence du thiocyanate peut résulter du recyclage de solutions ayant servi à cyanurer le biorésidu pour en extraire de l'or.

Dans les biosolutions, ce sont les ions ferriques et les ions arsénites (As^{III}) qui ont le pouvoir inhibiteur le plus fort. On peut toutefois adapter une culture mixte à des concentrations pouvant atteindre quelques dizaines de g/l de fer et d'arsenic en solution. L'acidité qui peut descendre bien en dessous de pH 1,00 peut être inhibitrice et nécessiter une régulation par ajout de lait de chaux ou de calcaire. Le calcaire est préférable en ce que sa dissolution apporte du CO_2 dans le milieu. La régulation du pH contribue à contrôler la concentration en fer ferrique qui précipite dans le milieu au cours de cette neutralisation de l'acidité.

Les bioréacteurs constituent le noeud technologique et économique d'une unité de biolixiviation dynamique.

A l'échelle laboratoire (quelques litres) et à l'échelle pilote (quelques centaines de litres), on peut utiliser des réacteurs agités mécaniquement par rotation d'un axe supportant des mobiles adéquats ou des réacteurs pneumatiques type air-lift, agités par l'injection d'air à la base du cône constituant le fond du réacteur. A l'échelle industrielle, seuls les réacteurs mécaniquement agités peuvent être utilisés de façon fiable et économiquement acceptable. En effet, les réacteurs "air-lift", d'un volume de plusieurs centaines de mètres cubes imposent l'installation de compresseurs de trop grande capacité pour maintenir le solide en suspension et oxygéner le milieu sur une hauteur supérieure à 10 mètres. Par ailleurs, il est très difficile d'en prévoir les performances à grande échelle et le redémarrage après un arrêt prolongé peut s'avérer très problématique. Les réacteurs agités permettent de travailler avec un rapport hauteur/diamètre de réacteur plus faible, et ajustable pour que l'on ait à utiliser pour injecter l'air qu'un surpresseur de pression nominale de l'ordre de 0,2 MPa (≈ 2 bars) absolus ou un compresseur de pression modérée.

Les systèmes d'agitation mécaniques se répartissent en deux types. Un premier type correspond à l'utilisation d'un mobile à effet mixte, effet radial pour disperser le gaz au mieux avec un minimum de cisaillement et effet axial pour exercer un pompage puissant maintenant le solide

en suspension (exemple : mobile Lightnin A315). Le second type découple les deux effets : la dispersion de gaz est effectuée par une turbine à pales verticales en fond de cuve et le pompage est apporté par une ou deux hélices (exemple : turbine et hélices HPM Robin Industries).

L'air apporte l'oxygène nécessaire aux réactions de transformation minérales et biologiques. Le dioxyde de carbone de l'air peut être suffisant mais il peut être utile d'accroître la biomasse en augmentant sa concentration de 1 à quelques pour-cent. L'ajout de calcaire peut remplir cet office, que ce soit in-situ ou au cours de la neutralisation ultérieure, auquel cas le CO₂ produit sera récupéré pour être injecté en biolixiviation. On calcule le débit d'air en admettant qu'à l'échelle industrielle le taux d'utilisation de l'oxygène sera de l'ordre de 20 à 30 %. En terme de puissance, la consommation pour l'agitation et pour l'injection d'air est de l'ordre de 0,5 à 1 kW par mètre cube de pulpe et par jour de temps de rétention de la pulpe en biolixiviation (volume utile/débit). L'air est injecté en fond de réacteur soit au centre et sous la turbine, soit à travers les orifices d'une couronne qui a une dimension proche de celle du mobile inférieur. Ce taux d'utilisation de l'oxygène est déterminé par la valeur que prend le produit du coefficient de transfert de l'oxygène gaz-liquide, noté k_1 , par la surface d'échange gaz-liquide, a , qui conditionne la vitesse de transfert du gaz comme décrit par l'équation suivante :

$$\frac{d[O_2]}{dt} = kla \{ [O_2]_s - [O_2] \}$$

où $[O_2]$ représente la concentration en oxygène dissous dans le milieu et $[O_2]_s$ la concentration à saturation.

Le coefficient de transfert doit être suffisant pour satisfaire une demande en oxygène allant généralement de 500 à 1000 mg.l⁻¹.h⁻¹.

Une limitation à l'utilisation d'une turbine à fort effet de cisaillement, outre la puissance consommée, est le stress mécanique qu'elle peut exercer sur la biomasse. A l'échelle industrielle des vitesses de plus de 4 m/s ont été pratiquées sans conséquences nuisibles apparentes pour les micro-organismes [1].

L'évacuation de la chaleur produite par les réactions doit prendre en compte l'évaporation de l'eau à la température du milieu, la chaleur apportée par l'agitateur et la déperdition à la paroi du réacteur. En prenant en compte l'exothermicité des réactions (1) à (4) pour la pyrite et l'endothermicité des réactions (7) et (8), la production de chaleur est estimée de l'ordre de 29 MJ (7,0 Mcal)/kg de sulfure. Le système de régulation de température en usage à l'échelle industrielle est l'échangeur de chaleur interne. A Sao Bento au Brésil, le réacteur du système BIOX^R de Genmin comporte un échangeur de 1,77 km de long pour un volume de 580 m³.

Le milieu de biolixiviation est acide et oxydant, donc corrosif. La construction de la cuve et de l'agitateur se fera soit en acier carboné revêtu, soit en acier inox, la nuance 304L étant requise.

Après biolixiviation, la pulpe est neutralisée par ajout de calcaire ou de chaux sous forme de lait concentré. La neutralisation d'une action épurante fait précipiter le fer ferrique, métal majoritaire, afin de recycler partiellement la solution, en particulier lorsque l'on souhaite concentrer le métal à valoriser comme du cobalt ou du nickel. Une séparation liquide/solide par décantation à contre-courant ou filtration avant ou après neutralisation selon que l'on souhaite valoriser le biorésidu pour l'or contenu ou la biosolution pour le cuivre, l'uranium, le cobalt ou le nickel. L'injection d'air en cours de neutralisation oxyde les traces de fer ferreux en fer ferrique. La neutralisation a un temps de rétention de l'ordre de quelques heures. L'emploi de floculants de type cationique ou neutre améliore la séparation liquide/solide.

Exemple de schéma de procédé : minerai d'or réfractaire (fig. 2)

Il s'agit du traitement d'un minerai d'or réfractaire. Le terme réfractaire appliqué à certains minerais d'or tient au fait, comme on l'a déjà vu, que pour ces minerais la cyanuration décrite précédemment ne permet qu'une récupération partielle de l'or lorsqu'elle est appliquée directement, et ceci quel que soit le degré de fractionnement du solide. En fait, l'or est, dans ce cas, généralement disséminé dans une matrice minérale. Lorsque cette matrice est sulfurée l'or piégé peut être extrait après avoir transformé sélectivement les sulfures en composés solubles.

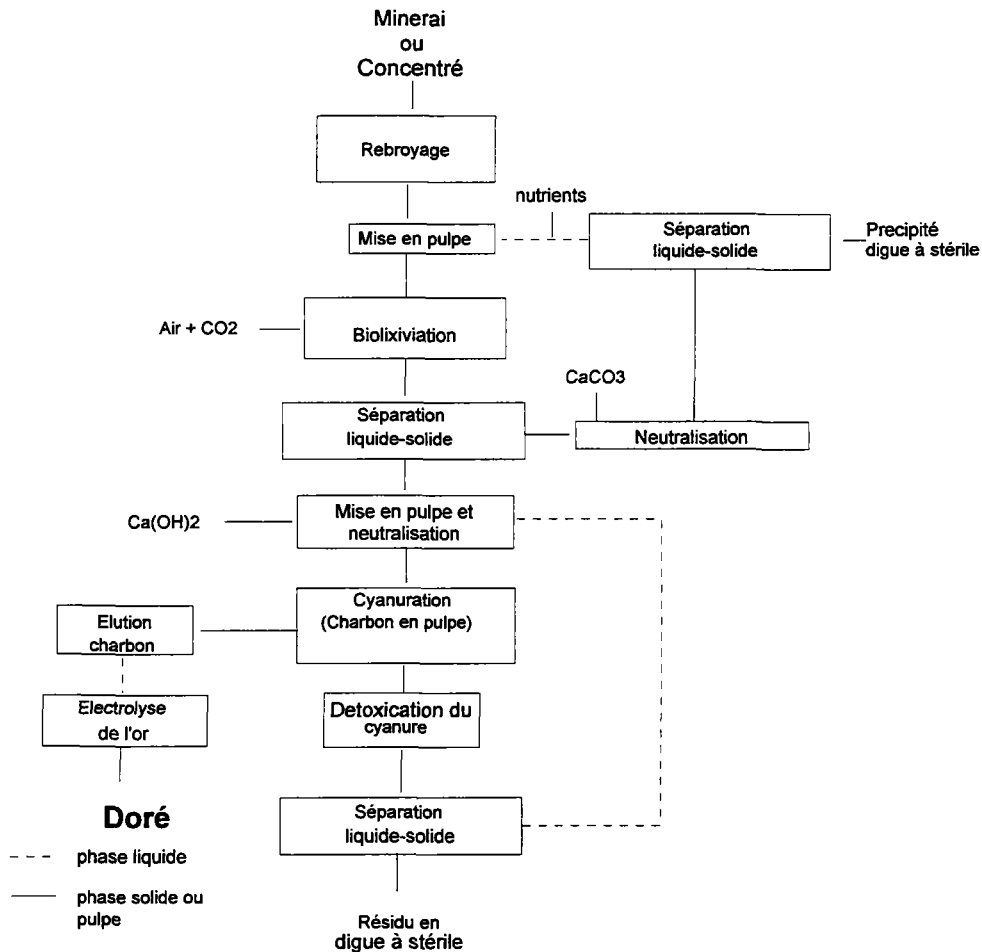


Fig. 2. - Schéma de traitement d'un minerai d'or réfractaire à la cyanuration comprenant une étape de prétraitement par biolixiviation.

La cyanuration peut alors être appliquée au résidu solide de cette transformation après l'avoir remis en pulpe et neutralisé de l'acidité produite en biolixiviation dont il est encore imprégné. La technique de cyanuration employée est celle du charbon en cours de lixiviation. Cette technique consiste à mettre simultanément dans le milieu le cyanure à pH alcalin et du charbon actif qui est un adsorbant sélectif du complexe cyanure de l'or. Ce moyen assure une récupération optimale de l'or car le charbon actif d'une taille plus grossière que le minerai est facilement extrait par tamisage (charbon actif, taille des grains ≥ 1 mm, minerai ≤ 200 μm). L'or adsorbé sur le charbon actif est élué par une solution chaude très basique contenant un alcool, éthanol généralement ou du cyanure très concentré. La solution qui peut contenir plusieurs grammes par litre d'or est ensuite électrolysée. L'or métal est récupéré sur des cathodes généralement constituées de paille de fer pour offrir une grande surface de dépôt. Ces cathodes sont ensuite traitées par fusion pour produire ce que l'on appelle du doré. Le doré, outre l'or, contient des proportions variables d'argent, cuivre et autres impuretés. Il sera vendu à un affineur du métal précieux.

La pulpe de cyanuration est traitée pour détruire le cyanure résiduel (voir procédés § 4).

Le résidu solide est mis en dépôt confiné.

Le taux de récupération de l'or par cyanuration, après biolixiviation, n'est pas moins de 90 %, alors qu'avant biolixiviation il peut être inférieur à 10 %.

1.1.6. Impact sur l'environnement des procédés de biolixiviation des sulfures

Les trois flux de matière à prendre en compte sont la phase liquide, le déchet solide et la biomasse.

La biomasse est en majorité détruite lors de la neutralisation de la pulpe de biolixiviation. Tout rejet liquide ou solide étant opéré à pH neutre constitue un milieu non viable pour les micro-organismes de la biolixiviation qui sont, rappelons-le, des acidophiles extrêmes. Par ailleurs, aucun caractère pathogène pour l'homme n'a jamais été mis en évidence et leurs sources d'énergie, sulfures métalliques et fer ferreux, limitent considérablement le risque de prolifération.

L'effluent liquide doit, pour des raisons d'économie de taille d'équipement et de consommation d'eau, être, autant que faire se peut, recyclé. La limite de recyclage se trouve dans la concentration que peuvent atteindre les impuretés minérales comme certains métaux, Mg, Al, Na, SiO₂, etc., qui peuvent inhiber la croissance des micro-organismes (mais ceux-ci sont très tolérants), et surtout entraver les opérations de récupérations sélectives des métaux de valeur. La mise aux normes des eaux de rejet se fait de façon classique par traitements adaptés des composés gênants et par dilution.

Les résidus solides représentent le rejet le plus sensible. En effet, les résidus de la biolixiviation sont des produits très fins, soit restés inattaqués (gangue siliceuse, sulfures, etc.), soit des précipités de composés hydroxydes et oxydes résultant de la neutralisation, dont la stabilité ne pose pas de problème particulier lorsque le sulfure d'origine est seulement de la pyrite, mais doit être évaluée avec attention lorsqu'un porteur d'arsenic est aussi présent. Il faut savoir que les oxydes d'arsenic associés au fer et à ses hydroxydes, composés amorphes, ne sont stables que lorsque le rapport molaire Fe/As des précipités est supérieur à 4. Il faut donc, dans le cas du traitement de matière arsénopyriteuse, tendre à concevoir le procédé pour que le rapport Fe/As de la phase oxydée respecte cette valeur.

Par ailleurs, dans tous les cas, le rejet solide doit être déposé dans une digue à stérile sous eau, qui sert de décanteur et permet de récupérer l'eau de transport de la pulpe. Un tel dispositif permet aussi de limiter les risques de poursuite de l'oxydation des sulfures résiduels en empêchant l'accès de l'oxygène de l'air et de gérer les afflux d'eau par précipitation. En fin d'exploitation, le dépôt est recouvert pour éviter des infiltrations d'eau et l'entraînement de particules de résidu hors du site.

Signalons enfin que la détoxification du cyanure est, par les divers moyens cités en § 4, industriellement parfaitement éprouvée, par ailleurs le cyanure est un réactif très biodégradable comme on le verra plus loin. Comme pour la pratique de la lixiviation statique, hydrogéologues et géotechniciens doivent intervenir pour sélectionner et aménager le lieu de dépôt du stérile.

1.1.7. Economie des procédés de biolixiviation des matières sulfurées

La biolixiviation connaît deux secteurs d'activité où son développement industriel donne une mesure de sa fiabilité économique.

Le premier concerne le traitement de ressources trop pauvres pour être exploitées par des voies traditionnelles de concentration par voie physique (minerais de cuivre et d'or) ou de lixiviation en réacteur (minerai d'uranium). C'est le domaine de la lixiviation statique. Il n'y a pas de données économiques faisant une comparaison de procédés puisqu'il n'y a pas d'alternative.

Le second, la biolixiviation dynamique aux coûts très significatifs, a dû être comparée aux procédés existants pour pouvoir être adoptée industriellement. Les procédés traditionnels (alternatifs) sont le grillage et la lixiviation sous pression.

Le grillage est le procédé pyrométallurgique de toujours. Il consiste à "brûler" dans un four les sulfures pour récupérer le métal de valeur dans une calcine qui est mise en pulpe pour en extraire sélectivement ce métal par voie hydrométallurgique. Compte tenu de l'exothermicité des réactions, le grillage ne nécessite pas d'apport d'énergie. En revanche, l'oxydation à l'air des sulfures produit du dioxyde de soufre dont les réglementations actuelles interdisent le

dégagement dans l'atmosphère. Il faut donc produire de l'acide sulfurique qui n'est pas forcément d'une qualité satisfaisante pour être valorisé. En outre, la présence d'arsenic peut sérieusement compliquer la gestion des effluents gazeux. La récupération du métal de valeur de la calcine est parfois moins bonne que ne le permettent les voies hydrométallurgiques.

La lixiviation sous pression est un procédé éprouvé à l'échelle industrielle dans certains domaines comme le traitement de minerais sulfurés de zinc et d'uranium. Dans le principe, il existe deux types de traitement correspondant à deux domaines de travail : le domaine haute température, $> 160^{\circ}\text{C}$, et le domaine basse température, $< 120^{\circ}\text{C}$. Dans le premier cas, la totalité des sulfures est transformée en sulfates sous une pression en oxygène pur élevée allant jusqu'à 2 200 kPa. La réaction est réalisée en autoclave dans lequel l'oxygène est mécaniquement dispersé. Le temps de séjour de la pulpe en autoclave est de 1 à 3 heures. Il s'agit donc d'un procédé de haute technologie qui conduit à des résidus arséniés réputés plus stables que ceux de la biolixiviation. En effet, la haute température du milieu engendre la cristallisation d'arséniate de fer ferrique ou scorodite, FeAsO_4 , et non la production de composés amorphes comme la biolixiviation.

On mentionnera aussi l'ultrabroyage (particules $< 20 \mu\text{m}$) comme procédé de libération de l'or réfractaire, qui peut s'appliquer tant que l'or n'est pas emprisonné dans le réseau cristallin d'un sulfure.

Pour comparer les trois procédés, les critères à prendre en considération sont les suivants :

- coûts d'investissement : équipements et construction,
- coûts opératoires : énergie, réactifs et personnel,
- revenus,
- impact sur l'environnement,
- degré de qualification du personnel requis,
- antécédent technologique et fiabilité d'extrapolation.

Kontopoulos et Stefanakis [2] ont établi pour le traitement de 100 000 tonnes de concentré d'or réfractaire la comparaison de coûts (en dollars US) entre les trois procédés. Il apparaît que les coûts d'investissements sont nettement plus bas pour le procédé de biolixiviation que pour le procédé de grillage et la lixiviation sous pression (1,0 M\$, 2,8 M\$ et 2,5 M\$ respectivement). Les coûts opératoires du grillage sont plus bas que ceux de la lixiviation sous pression et de la biolixiviation (7,0 M\$, 11,4 M\$ et 9,0 M\$ respectivement par an) pour des revenus annuels équivalents (32,0 M\$, 36,7 M\$ et 36,0 M\$ respectivement). A gain à peu près équivalent, il apparaît donc que la biolixiviation peut l'emporter du fait de la simplicité de sa mise en oeuvre et de sa conduite.

A l'heure actuelle, la lixiviation bactérienne par voie statique, est significativement présente dans le domaine de la production du cuivre en Amérique du Sud, au Chili surtout et en Amérique du Nord, aux Etats-Unis. On estime qu'elle est à l'origine de 15 à 20 % de la production mondiale de cuivre. La biolixiviation dynamique ne concerne à l'heure actuelle que les minerais d'or réfractaires. Il existe des installations industrielles en Afrique du Sud (Fairview Mine), au Brésil (Sao Bento) et en Australie (Wiluna). La société sud-africaine Genmin reste pionnier dans ce domaine et seul son savoir-faire est passé au stade industriel. L'or produit via la biolixiviation reste encore tout à fait minoritaire : quelques pour-cent de la production mondiale totale d'or.

1.1.8. Désulfuration du charbon

Parce que la technique mise en oeuvre repose sur les mêmes préoccupations et utilise sensiblement les mêmes moyens que ceux de la biolixiviation des minerais métallifères, on décrit ici l'application du concept à la désulfuration du charbon.

La combustion du charbon dans les centrales thermiques est pour une bonne part à l'origine des pluies acides. Le soufre contenu dans le charbon est oxydé en SO_2 et converti en acide sulfurique dans l'eau atmosphérique. Le SO_2 dégagé lors de la combustion du charbon peut être capté et transformé en acide sulfurique par divers procédés, mais la désulfuration appliquée directement à la matière première est économiquement très attractive.

Le taux de soufre dans le charbon peut atteindre quelques 0,5 à 7 % environ. Il existe sous

forme minérale et sous forme organique. Les composés organiques sont majoritairement des thiols, du benzothiophène et du dibenzothiophène disséminés dans la structure du charbon. Les composés minéraux sont de la pyrite, de la marcassite et du sulfate résultant de l'oxydation du soufre à l'air, distribués en particules discrètes au sein du charbon.

L'application d'un traitement biologique utilisant les thiobacilles et les leptospirilles se révèle très efficace à dissoudre et éliminer le soufre des composés minéraux. Cependant on doit procéder par voie dynamique, en réacteurs, car il faut broyer le charbon pour avoir accès aux particules de sulfures et non seulement le concasser comme il est pratiqué pour les lixiviations statiques. Les composés organiques du soufre ne sont pas affectés par ce traitement .

La biolixiviation à l'aide de bactéries thermophiles a un effet sur le soufre organique qu'elle peuvent partiellement utiliser pour leur développement. Mais la meilleure solution serait d'employer des bactéries hétérotrophes (comme *Pseudomonas*) qui s'attaqueraient aux composés organiques après avoir débarrassé le charbon du soufre minérales avec des bactéries autotrophes.

La difficulté d'avoir un accès physique à la totalité du soufre sous toutes ses formes, pour les bactéries ou les réactifs qu'elles génèrent, est le handicap majeur au développement de procédé de traitement du charbon qu'il soit bactérien ou non d'ailleurs.

Il n'y a pas d'installation industrielle de biodégradation du soufre contenu dans le charbon. En revanche, l'acidité des exhaures issus des terrils est pour une part importante produite avec l'effet catalytique de souches autochtones de thiobacilles.

1.2. Biolixiviation des matières non sulfurées

Deux types de minéraux correspondants à des options de procédés différents sont envisagés et exposés ci-après. Il y a d'une part les minéraux qui sont transformés pour être valorisés sous forme d'un composé différent du produit naturel et d'autre part il y a les minéraux que l'on rend valorisables en éliminant les impuretés qui les pénalisent.

1.2.1. Sulfato-réduction

C'est la propriété de nombreuses espèces bactériennes d'intervenir dans le cycle d'oxydoréduction du soufre, on relève ainsi :

- les organismes sulfato-réducteurs du type *Desulfovibrio* et espèces voisines,
- des organismes aérobies tels que *Thiobacillus* et divers hétérotrophes,
- diverses archaebactéries : des méthanogènes, et des formes dépendantes du soufre pour leur croissance.

La sulfato-réduction s'opère suivant deux modes :

- l'assimilation du sulfate pour transformation en sulfure nécessaire au métabolisme de synthèse,
- la dissimilation du sulfate qui est un moyen de production d'énergie, le sulfate et autres composés du soufre (excepté le sulfure) servent d'accepteur d'électrons dans des oxydation génératrices d'énergie ATP effectuée à l'abri de l'air.

C'est la dissimilation du sulfate qui fait excréter de grandes quantités de sulfure aux bactéries sulfato-réductrices.

Il existe des ressources considérables de sulfate sous forme de gypse issu de l'industrie phosphatière et depuis assez longtemps il a été imaginé de transformer le sulfate du gypse en soufre élémentaire par voie biologique.

Le BRGM a particulièrement étudié, il y a une vingtaine d'années, l'utilisation de divers substrats carbonés, lactosérums et mélasses, pour la bioconversion du phosphogypse en sulfure. Le choix du système réactionnel lui-même et l'innocuité des rejets finaux du traitement sont des sources de difficulté pour rendre viable techniquement et économiquement le procédé.

La réduction du sulfate en sulfure présente, comme on l'a vu, un intérêt particulier pour éliminer les métaux en solution par précipitation de leurs sulfures.

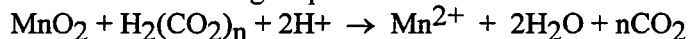
1.2.2. Traitement des minerais à faible teneur en MnO_2

L'intervention biologique dans la dissémination et le dépôt de manganèse est admis au même

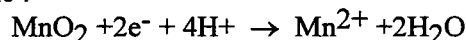
titre que pour le fer.

Deux modes régissent les transformations du manganèse. Le mode indirect qui est le résultat de modifications du pH et du potentiel électrochimique de solution par action biologique et l'adsorption à la surface des cellules. Le mode direct qui consiste en l'effet catalytique d'oxydation et de réduction exercé par des micro-organismes.

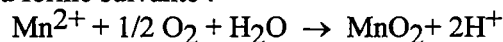
La réduction peut être le fait d'acides organiques :



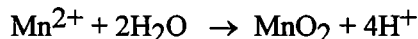
ou de fermentation anaérobie :



L'oxydation peut prendre la forme suivante :



ou bien :



Les acides organiques peuvent être les acides formique, citrique ou oxalique. La réduction met le manganèse en solution, l'oxydation le précipite. Les études menées sur les minerais à faible teneur en MnO_2 veulent combiner réduction et oxydation pour précipiter de l'oxyde de haute pureté utilisable dans les piles électriques.

1.2.3. Dissolution des oxydes de fer

La présence d'oxyde de fer constitue parfois un handicap significatif à la commercialisation d'un certain nombre de minéraux .

Il en est ainsi pour le quartz destiné à l'industrie verrière et du kaolin utilisé pour le blanchiment du papier. Pour des minéraux comme l'ilménite et le rutile, porteurs du titane, la présence du fer dans leur structure pénalise leur exploitation. Les oxydes de fer sont solubles en milieu acide et complexant. Généralement ce sont des acides minéraux qui sont utilisés, mais le coût en est élevé et les effluents des traitements suscitent des problèmes d'environnement. Des acides organiques produits biologiquement peuvent se substituer aux acides minéraux du fait de leur efficacité et de leur biodégradabilité. Le micro-organisme présentant les meilleures caractéristiques est *Aspergillus niger*, qui peut produire des acides organiques tels que l'acide oxalique et l'acide citrique, à des concentrations de plusieurs dizaines de grammes par litre, le substrat carboné étant de la mélasse à faible coût d'achat.

1.2.4. Autres traitements étudiés

La dissolution de l'or, expliquant sa mobilité et ses dépôts, dans des milieux d'acides nucléiques, pyruviques, lactiques, formiques et d'acides aminés a été étudiée et il a été montré que des micro-organismes participent à la totalité du cycle de transformation de l'or dans la nature.

Cela est important pour expliquer l'histoire géologique des dépôts d'or mais offre aussi la perspective d'utiliser la voie biologique pour lixivier ou concentrer ce métal.

On a rapporté que des espèces comme *Bacillus Circulans* et *Bacillus Mucilaginosus* peuvent dissoudre la silice accompagnant la bauxite. Il en serait de même par les acides organiques oxalique et citrique générés par *Aspergillus niger*.

1.3. Bioextraction des métaux

Les micro-organismes, incluant les actinomycètes, les cyanobactéries, les algues, les champignons et les levures, ont la capacité d'accumuler les métaux lourds et les radionucléides présents dans leur environnement. Les cellules vivantes comme les cellules mortes ont la propriété de fixer et d'accumuler les ions métalliques.

1.3.1. Principes de concentration des métaux par voie microbiologique

La concentration biologique intervient de divers façons qui vont être successivement décrites.

Adsorption à la surface des cellules

La surface des cellules capte les cations métalliques parce qu'elles sont chargées négativement du fait de la présence de groupe carboxylate, hydryl et phosphate dans les polymères de la paroi cellulaire. Des groupes non chargés comme les peptides azotés peuvent se comporter en ligand pour compléter les sites de coordination du cation métallique.

Des micro-organismes différents présenteront des distributions de charge et de géométrie variées susceptibles de retenir sélectivement certains cations métalliques. La capacité de rétention du métal dépend aussi du pH du fait de la protonation de ces groupes.

Les champignons et les levures sont connus pour accumuler des métaux à fortes concentrations à la surface comme à l'intérieur des cellules. Les organismes ont des parois constituées de chitine ou de chitosane dont la glucosamine constitue le ligand pour les métaux avec d'autres groupes fonctionnels tels que : phosphate, carboxyl, amine, etc.

Pénétration et accumulation dans la cellule

Le principe d'accumulation est plus lent que la fixation à la surface de la cellule, qui dépend du métabolisme et peut être bloqué par des changements de température ou la présence d'inhibiteur. En revanche, le potentiel de rétention est plus élevé.

Production de composés précipitant

Des bactéries comme *Desulfovibrio desulfuricans*, transforment le sulfate en sulfure excrété par la cellule. L'apparition de sulfure en solution provoque la précipitation de la plupart des métaux lourds sous forme de sulfure métallique. De même les matières biologiques qui se dégradent dans les effluents industriels en l'absence d'oxygène libèrent des sulfures qui font précipiter les métaux. De tels phénomènes peuvent être à l'origine de certains gisements sulfurés métalliques.

On connaît aussi la précipitation d'oxalates métalliques à partir de l'acide oxalique produit par certains organismes et la production de phosphate extra-cellulaire qui provoque la précipitation de phosphate d'uranium (*Citrobacter* sp.).

Par ailleurs, la biomasse fournit en quantité des polymères qui peuvent être utilisés pour leur action coagulante, c'est à dire créatrice d'agrégats de matière colloïdale appelés floccs, et pour leur action floculante, en générant des ponts entre les microflocs, qui accélèrent la sédimentation de solides dans les boues de rejet. Les biopolymères, tels que polysaccharides, polypeptides et acides nucléiques, de grands poids moléculaires et de faibles densités de charge peuvent être modifiés chimiquement pour avoir une ionocité et une charge leur permettant d'agir comme coagulant.

Volatilisation du métal

Un certain nombre de métaux et métalloïdes dont le plomb, l'arsenic, l'étain et le mercure ont la propriété d'être méthylés par voie biologique et ces méthyles sont volatiles.

1.3.2. Les applications

L'élimination des métaux en trace dans les effluents exploitant les processus biologiques est une pratique de longue date à travers l'application du traitement par boues activées. La compréhension d'une partie des mécanismes et des possibilités du potentiel biologique ont conduit à tenter de maîtriser ces processus dans des conditions optimales en vue d'éliminer des pollutions métalliques importantes et de récupérer des métaux de valeur. L'analyse de ce potentiel a montré qu'il est préférable d'utiliser des biomasses mortes plutôt que ces propriétés chez les micro-organismes vivants. En effet les avantages qu'on en tire sont les suivants : stabilité physique et chimique, reproductibilité et fiabilité constante, pas de mise en oeuvre de culture pour un traitement donné, donc pas de nécessité d'éléments nutritifs et de conditions aseptiques.

Les cellules peuvent être agrégées en particules solides à l'aide d'un agent liant bifonctionnel tel que le glutaraldéhyde, par floculation et traitement thermique et acide.

Les cellules peuvent aussi être immobilisées par adsorption sur des surfaces minérales comme

des gels de silice, des oxydes métalliques, du verre ou de la céramique. Mais le plus fréquemment la biomasse est immobilisée par piégeage dans des polymères organiques, issus de traitement biologique tels que : polyacrylamide, alginate de calcium et acétate de cellulose, ou d'autres voies de synthèse tels que polyester et polysulfone.

Une fois la biomasse fixée le matériaux veut être utilisée comme une résine échangeuse d'ions en colonne avec des cycles d'adsorption, d'élution et de régénération.

A titre d'exemple les granulés dérivés de biomasse fabriqués par la société américaine Advanced Minerals Technologies, Inc. (AMT) ont une capacité d'accumulation de 86 mg de Ag, 214 mg de Cd, 12 mg de Cu, 601 mg de Pb et 137 mg de Zn par gramme de granulé avec une efficacité de 99 %. La société AMT, aujourd'hui disparue, revendiquait l'intérêt de l'utilisation de ce produit comme traitement de finition de l'épuration d'effluent. En effet, un tel adsorbant est particulièrement efficace à faibles concentrations en solution et un traitement de dégrossissage en prolonge la vie.

D'autres tentatives d'applications industrielles ont été entreprises, dans le domaine de la récupération de l'or par exemple pour se substituer au traitement du charbon actif.

Le besoin de respecter des normes de pureté pour les eaux de plus en plus basses en concentrations offre un potentiel important aux techniques biologiques.

1.4. Biodégradation de réactif organique : le cyanure [3]

Le cyanure comme nous l'avons vu pour les minerais d'or réfractaires sert dans l'industrie minière à l'extraction des métaux précieux et comme agent de flottation. Il a beaucoup d'autres usages, en particulier en galvanoplastie et dans de nombreuses synthèses organiques (EDTA, cyanoacrylate, aminoacides, etc.) et on le rencontre dans les effluents de cokerie en compagnie de phénols, pyridine, goudron, etc.

Les travaux d'application de biodégradation d'effluents cyanurés ont porté sur des effluents de cokerie, de l'industrie minière et plus récemment de l'industrie chimique.

Au cours de l'extraction de l'or seule une très petite fraction du cyanure disponible se complexe à l'or, quelques mg ou dizaines de mg pour un gramme de cyanure introduit. Le reste est inutilisé, complexé à d'autres métaux ou transformé. La transformation donne du thiocyanate, SCN^- , et du cyanate, CNO^- . La complexation à d'autres métaux que les métaux précieux, Au et Ag, concerne particulièrement fer, cuivre et zinc.

Le cyanure se présente soit :

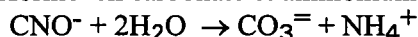
- sous forme libre CN^- ou HCN,
- de composé simple soluble (NaCN , KCN ou $\text{Ca}(\text{CN})_2$),
ou peu soluble ($\text{Zn}(\text{CN})_2$, CuCN ou $\text{Ni}(\text{CN})_2$ par exemple),
- de complexes faibles ($\text{Zn}(\text{CN})_4^{2-}$, $\text{Cd}(\text{CN})_3^-$ ou $\text{Cd}(\text{CN})_4^{2-}$ par exemple)
- de complexes assez stables ($\text{Cu}(\text{CN})_2^-$, $\text{Cu}(\text{CN})_3^{2-}$, $\text{Ni}(\text{CN})_4^{2-}$ ou $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$ par exemple)
- ou encore de complexes stables ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Co}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Au}(\text{CN})_2^-$ par exemple).

Les proportions de cyanure libre, transformé ou complexé, dépend bien sûr de la nature du minerai et des conditions de la cyanuration. Le pH du milieu doit être alcalin car l'hydrolyse du cyanure a un pKa de 9,31 à 20°C :



et HCN est très volatile.

Les méthodes courantes de dégradation du cyanure résiduel dans les effluents sont la chloration alcaline, l'oxydation par ozone, peroxyde ou $\text{SO}_2 + \text{O}_2$. Ces traitements oxydent le cyanure jusqu'au stade de cyanate ou de dioxyde de carbone et azote. Le cyanate est peu toxique comparé au cyanure et se transforme en carbonate et ammonium suivant la réaction :



Ces méthodes sont efficaces mais aussi coûteuses et peuvent déplacer la pollution (Cl^- par exemple). Parmi les autres méthodes on trouve aussi la complexation au sulfate ferreux qui permet de faire précipiter le cyanure sous forme de ferrocyanure très stable et le lagunage

où les effluents faiblement concentrés sont exposés à lumière et aux UV ainsi qu'à une biodégradation naturelle.

Ce composé est produit par un très grand nombre de champignons (plus de 300 recensés), de plantes et de bactéries pour se défendre par action antibiotique contre d'autres champignons, d'autres bactéries, en bloquant leur système respiratoire. A cette agression les champignons et les bactéries répondent aussi par une assimilation du cyanure.

Ces réactions concernent le cyanure libre uniquement, les milieux réels d'effluents industriels offrent une plus grande complexité. La biodégradation du thiocyanate ainsi que le couplage avec les effets des métaux et des complexes métalliques restent encore méconnus. On sait toutefois que le thiocyanate peut se dégrader jusqu'au stade ultime en dioxyde de carbone et ammonium. En fait différentes espèces interviennent dans la biodégradation du cyanure, du thiocyanate et de éventuellement des phénols, goudron et pyridine rencontrés dans les effluents cyanurés de cokeries.

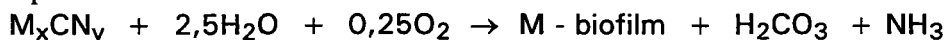
La présence d'un composé peut être inhibiteur pour la souche qui assimile un autre composé et il n'existerait jamais vraiment une seule souche capable de dégrader l'ensemble. Il faut employer une culture mixte.

La seule unité industrielle traitant des effluents industriels cyanurés par voie biologique spécifique (et non le traitement des eaux "passif") a démarré en août 1984 aux Etats Unis dans le Sud Dakota. Les effluents décontaminés sont ceux d'une installation de cyanuration de minerai d'or, Homestake Mine.

Isolée dans les effluents mêmes de Homestake Mine une culture s'est révélée capable de dégrader les cyanures et les thiocyanates. Les espèces contenues sont décrites comme des hétérotrophes aérobies.

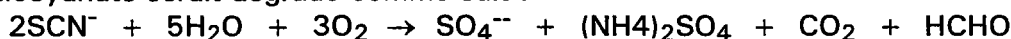
La bactérie prédominante, déposée sous le nom de *Pseudomonas paucimobilis*, est un bâtonnet gram-négatif (0,7-1,4 µm), mobile par un flagelle polaire unique. La croissance est optimale à 30 °C et inhibée à 5 et 42 °C. Elle a un métabolisme de type respiratoire. Le pH optimum est 7,0-8,5. Les nitrates et nitrites ne sont pas réduits et elle ne produit pas de H₂S; ce sont des caractéristiques à prendre en compte dans la conception de l'installation.

La culture oxyde le cyanure libre et complexé, tandis que les métaux sont adsorbés et précipités suivant l'équation :

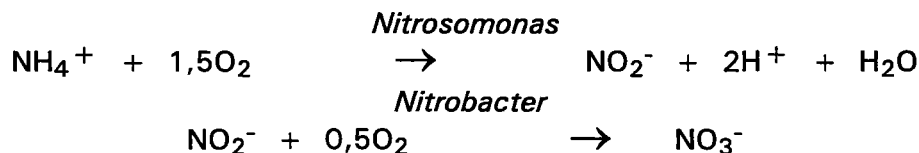


Les cyanures complexes sont dégradés de plus en plus lentement en passant du zinc au nickel puis au cuivre et enfin au fer.

Le thiocyanate serait dégradé comme suit :



L'ammonium produit est détruit dans un stade ultérieur par nitrification en deux étapes par voie bactérienne :



Le circuit de traitement est conçu comme schématisé en figure 3.

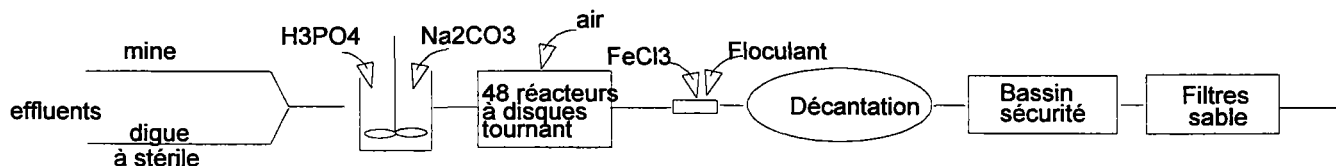


Fig.3. - Etapes de la détoxification d'effluents cyanurés par biodégradation à Homestake Mine, Sud Dakota EU (d'après WHITLOCK et MUDDER cité en [3])

Après addition d'éléments nutritifs les effluents sont biodécontaminés par contact avec les bactéries fixés sur 48 contacteurs à disques tournant à 0,5 -

1,5 t/mn, de 3,65 m de diamètre et 7,6 m de long, submergés à 40 %. Au long de l'année le rapport entre les eaux de la mine et les eaux venus du bassin à stériles varie 70/30 en hiver à 50/50 en été. Le débit d'effluents traités serait de 21 000 m³ par jour.

La biodégradation élimine ainsi 92 % du cyanure total, 99 % du cyanure faiblement complexé et 95 % du cuivre et des métaux lourds. Le cyanure serait typiquement réduit de 4,1 à 0,07 mg/l et le thiocyanate de 62 à 0,05 mg/l.

Il faut savoir que ce traitement est en fait complémentaire d'un traitement chimique préliminaire qui élimine la majeure partie du cyanure libre en particulier. Il est vrai qu'il faut concevoir le traitement biologique comme le moyen de décontaminer un effluent pour la partie qu'il coûte le plus cher de traiter par voie chimique, c'est à dire les derniers mg de cyanure libre et les cyanures complexes.

Bibliographie

[1] VAN ASWEGEN (P.C.) - Bio-oxidation of refractory gold ores - the Genmin experience (Bio-oxidation de minerais d'or réfractaires - l'expérience de Genmin). Biomine'93 Conference Proceedings, 22-23 mars 1993, p. 15.1-15.14, 1993, Australian Mineral Foundation, 63 Conyngham Street, Glenside SA 5065.

[2] KONTOPOULOS (A.) et STEFANAKIS (M.) - Treatment of the Olympias refractory gold concentrate (Traitement du concentré aurifère d'Olympias). Randol Perth International Gold Conference (28 octobre - 1 novembre 1988, p. 157-161.

[3] POTGIETER (J.H.) - A review of the biological treatment of cyanide-bearing waste water (Description du traitement biologique des eaux polluées par le cyanure). Journal of South African Institute of Mining and Metallurgy, vol. 91 (11), 1991, p. 386-396.

Ouvrages de référence

HUGHES (M.N.) et POOLE (R.K.). Metals and microorganisms (métaux et microorganismes). 412 p. 1989 Chapman & Hall 29 West 35th Street, New York NY 10001, USA.

BARRETT (J.), HUGHES (M.N.), KARAVAİKO (G.I.) et SPENCER (P.A.) - Metal extraction by bacterial oxidation of minerals (extraction des métaux par oxydation bactérienne de matière minérale). 191 p. 1993 Ellis Horwood Ltd Market Cross House, Cooper Street, Chichester, West Sussex, PO19 1EB, England.

Etude laboratoire pour l'amélioration des connaissances dans le domaine de la biolixiviation des minerais sulfurés

Les travaux rapportés ici concernent l'étude de 3 points-clefs des procédés de biolixiviation des minerais sulfurés comme décrits dans la partie précédente que le projet a permis d'approfondir.

Il s'agit de :

- la limite en concentration solide qui conditionne la taille des installations et les coûts,
- la mesure de la consommation des gaz, O₂ et CO₂, que l'on doit injecter dans le milieu et qui sont partiellement consommés par les réactions minérales et biologiques. Cette consommation est une source de limitation des cinétiques de réaction.
- la température maximale de biolixiviation sachant que les réactions d'oxydation des sulfures sont exothermiques et que l'élimination de la chaleur produite représente une difficulté technique qu'il faut chercher à minimiser.

PARTIE II INFLUENCE DU POURCENTAGE DE SOLIDE ET DE LA TAILLE DES PARTICULES SUR LA BIOLIXIVIATION D'UNE PYRITE COBALTIFERE

Introduction

La biolixiviation en réacteur agité et aéré est l'oxydation d'un sulfure par une population bactérienne en suspension dans la biopulpe, mélange de minerai broyé et de milieu nutritif liquide. Les microorganismes sont généralement du genre Thiobacillus et peuvent utiliser le sulfure comme source d'énergie. Pour obtenir une rentabilité acceptable du procédé à l'échelle industrielle, il est nécessaire de choisir le taux de solide le plus élevé possible. Arrivé au seuil de 25-30 %, de nombreux essais ont montré que la vitesse et le rendement de solubilisation des métaux diminuent (TORMA, 1970; LIU, 1987). Pour expliquer ce phénomène, les auteurs de ces travaux invoquent les problèmes de dispersion des gaz, O₂ et CO₂.

Les frictions entre particules dans la biopulpe agitée modifient la morphologie des microorganismes. Ces contraintes mécaniques affectent peut-être également le métabolisme des bactéries et leur aptitude à dégrader les sulfures . Un objectif du présent travail a été de mettre en évidence l'influence de ces contraintes mécaniques dans la limitation due au taux de solide.

Afin de différencier l'effet du taux de solide de celui de la concentration en sulfure, en tant que substrat, nous avons ajouté au milieu de la silice, solide biologiquement inerte dans les conditions de la biolixiviation.

La biopulpe est un milieu hétérogène et tout le substrat énergétique n'est pas directement accessible aux microorganismes. Les modèles établis pour des substrats en solution (modèle de Monod et modèles dérivés) ne peuvent donc pas être directement utilisés pour décrire le développement de Thiobacillus en présence de minerai. Cependant, la quantité de sulfure utilisable par les bactéries est proportionnelle à la surface de pyrite offerte par le solide dans la biopulpe.

L'activité bactérienne peut être évaluée indirectement par la cinétique d'oxydation du substrat. Des essais de biolixiviation à différents taux de sulfure et pour plusieurs granulométries nous ont permis d'étudier l'influence de la surface initiale de pyrite sur la vitesse de biolixiviation.

II.1. Matériel et méthodes

II.1.1. Origine de l'inoculum

La population bactérienne utilisée pour ensemercer les cultures provient de prélèvements effectués sur des sites miniers par le BRGM. Elle a été adaptée par repiquages successifs sur pyrite cobaltifère. Marie-Noëlle Collinet (1989) a montré qu'il s'agit d'une population mixte contenant Thiobacillus ferrooxidans et Thiobacillus thiooxidans.

II.1.2. Le substrat sulfuré

Le substrat énergétique est une pyrite cobaltifère contenant 1,3 % de cobalt.

Il s'agit d'un concentré de flottation composé à 80 % de pyrite (FeS_2) et le cobalt est uniformément disséminé dans la matrice pyriteuse. Seule une infime fraction du cobalt est distribuée sous forme de porteurs spécifiques de ce métal tels que la linnéite, $(\text{Ni},\text{Co})_3\text{S}_4$ et la pentlandite-bravoïte, $(\text{Fe},\text{Ni})\text{S}_2$, dans lequel le nickel est remplacé par du cobalt.

La mise en solution du cobalt au cours de la biolixiviation est donc directement liée à l'oxydation de la pyrite. En effet le degré d'oxydation de la pyrite se mesure à la concentration en fer dissous et il existe une relation linéaire entre fer et cobalt dissous comme le montre la figure 1 .

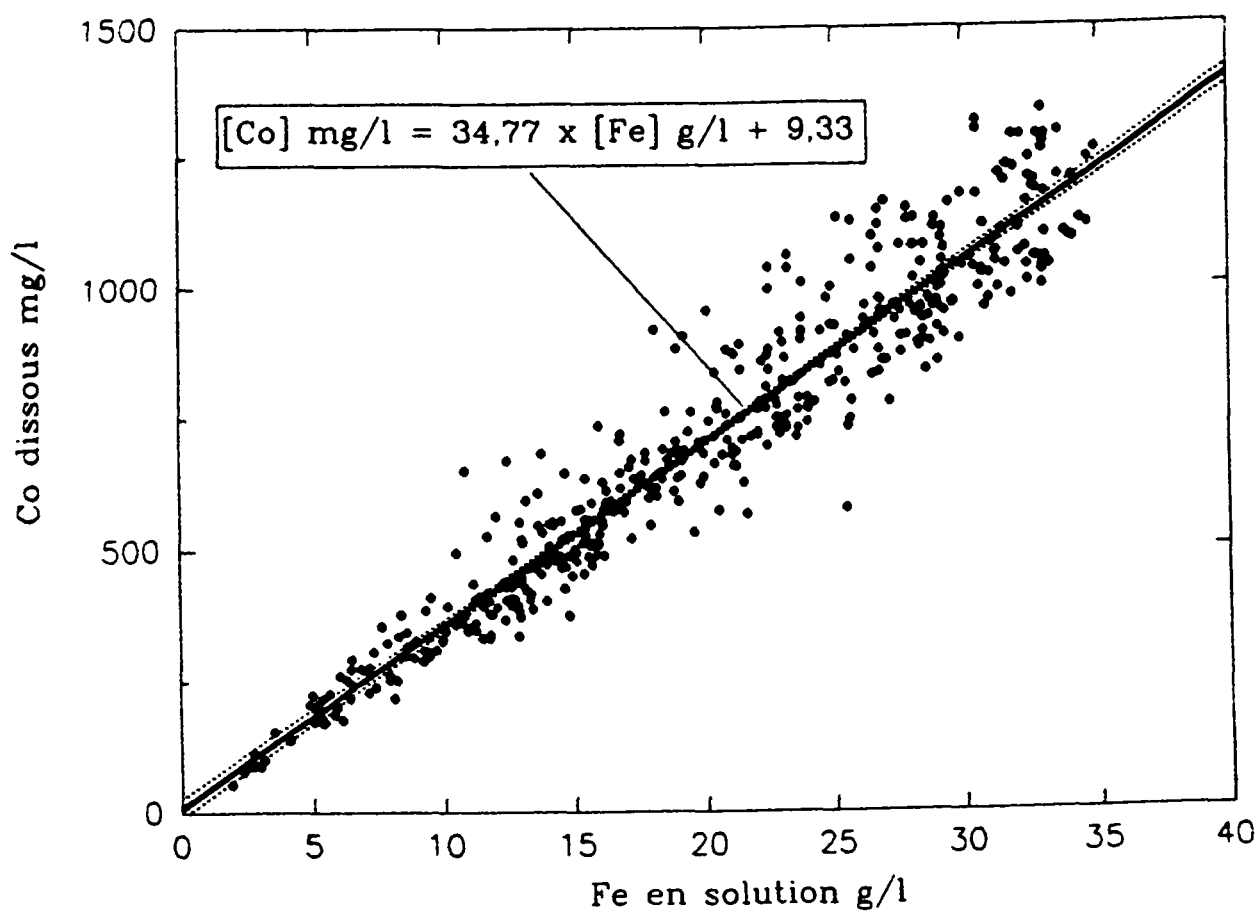
Le solide est finement divisé, toutes les particules ont une taille inférieure à 63 microns. Quatre tranches granulométriques ont été séparées par tamisage : < 20 microns, 20-30 microns, 30-50 microns, 50-60 microns. La teneur en cobalt dans les différentes tranches granulométriques a été analysée (voir tableau 1). Compte tenu de l'incertitude d'analyse, 0,05 %, les résultats obtenus ne mettent pas en évidence de corrélation particulière entre teneur en cobalt et granulométrie.

tableau 1 : distribution du cobalt dans les tranches granulométriques

Tranche granulométrique	Co %
< 20 μm	1,15
20 - 30 μm	1,30
30 - 50 μm	1,20
50 - 63 μm	1,30

La silice a été broyée puis tamisée de façon à obtenir les mêmes fractions granulométriques. Pour la préparation des biopulpes, le minerai est toujours associé à de la silice de même granulométrie.

Fig 1 : Relation entre les concentrations du fer et du cobalt dissous



II.1.3. Composition du milieu nutritif

Le milieu a été optimisé pour la biolixiviation de l'arsénopyrite par Marie-Noëlle Collinet (1989) à partir du milieu de Silverman et Lundgren (1959). Nous avons vérifié que sa composition est adaptée au développement des bactéries en présence de pyrite. Les concentrations en sels nutritifs sont les suivantes :

(NH ₄) ₂ SO ₄	3,70 g/l
H ₃ PO ₄	0,80 g/l
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0,52 g/l
KOH.....	0,48 g/l

II.1.4. Techniques de culture

Les essais sont menés dans des tubes de 200 ml (volume utile) à fond conique. L'agitation et l'aération sont assurées par injection d'air à la base des tubes. Les cultures sont maintenues à 35°C dans un bain thermostaté.

Pour une première série d'essais, le taux de sulfure est constant, fixé à 10 %. Le taux de solide est amené à 20 % et 30 % par ajout de silice de même granulométrie. Les quatre fractions granulométriques ont été testées dans ces conditions.

Les essais à taux de sulfure variable ont concerné les fractions granulométriques suivantes :

- < 20 microns à 5, 7,5, 10, 15, 20 et 30 % de pyrite,
- 20-30 microns à 5, 10, 15, 20 et 30 % de pyrite et
- 30-50 microns à 5, 7,5, 10, 15 et 20 % de pyrite.

II.1.5. Méthodes analytiques

Le cobalt et le fer en solution ont été dosés par spectrométrie d'absorption atomique.

Les surfaces spécifiques de pyrite et silice ont été mesurées par la technique B.E.T. (azote).

II.2. Résultats - Discussion

II.2.1. Influence du taux de sulfure

Des essais de biolixiviation à différents taux de sulfure ont été réalisés pour les fractions granulométriques <20 microns, 20-30 microns et 30-50 microns. Les résultats apparaissent en figures 2, 3 et 4 respectivement pour chacune des tranches.

Pour la tranche granulométrique 20-30 microns, des problèmes de flottation de sulfure (hydrophobe) ont allongé la phase de latence dans certains tubes.

Les vitesses de mise en solution ont été calculées pour la phase d'augmentation linéaire de la concentration en cobalt pour chacun des essais. La figure 5 montre l'évolution de cette vitesse en fonction du taux de sulfure.

Pour les trois fractions granulométriques considérées, un accroissement de la vitesse de dissolution du cobalt avec le taux de solide quand celui-ci est inférieur à 10 % est observé. Au dessus de 10% de sulfure, la vitesse n'augmente plus.

De plus la figure 5 met en évidence l'influence de la granulométrie pour un taux de sulfure donné : la cinétique est d'autant plus rapide que la taille des particules est faible.

P. Braux (1991) a obtenu une limitation de la vitesse pour le même niveau de taux de solide au cours d'essais à pH régulé. La production d'acide n'est donc pas la cause de cette limitation. En outre les concentrations maximales en fer et cobalt atteintes au cours de ces essais demeurent inférieures aux concentrations inhibitrices mesurées par ailleurs ([Fe] 30 g/l et [Co], au moins 15 g/l, Braux (1991) et Battaglia (1990)).

II.2.2. Influence des frictions entre particules

L'intensité et la nature des frictions auxquelles sont soumis les microorganismes dans la biopulpe agitée dépendent du taux de solide et de la granulométrie des particules.

A 10 % de sulfure sans silice ajoutée (fig 6) nous constatons que la vitesse de lixiviation augmente quand la granulométrie diminue. Le taux de mise en solution finale du cobalt est notoirement plus faible pour la fraction 50-60 microns que pour les trois fractions inférieures.

Après ajout de silice pour obtenir 20 et 30 % de solide, il apparaît que l'effet du taux de solide sur la cinétique dépend de la fraction granulométrique considérée (fig 7 et 8).

La figure 9 montre que lorsque les particules ont une taille inférieure à 30 microns, l'ajout de silice n'a pas influence sur la mise en solution du cobalt.

Pour la tranche granulométrique 30-50 microns, le rendement et la vitesse d'extraction semblent affectés à 30% de solide.

Au dessus de 50 microns, la cinétique est modifiée par l'ajout de silice à partir de 20 % de solide . Ces résultats semblent indiquer que le stress occasionné par les frictions entre particules solides augmente avec la taille des grains. L'activité bactérienne n'est sensiblement modifiée que lorsque la granulométrie du minerai est supérieure à 50 microns. L'effet de saturation de la vitesse et du taux d'oxydation du substrat au delà de 10 % de solide pour les granulométries inférieures ne peut pas s'expliquer par une influence négative des chocs entre particules sur le métabolisme bactérien .

Fig 2 : Influence du taux de sulfure sur la cinétique de mise en solution du cobalt granulométrie < 20 microns

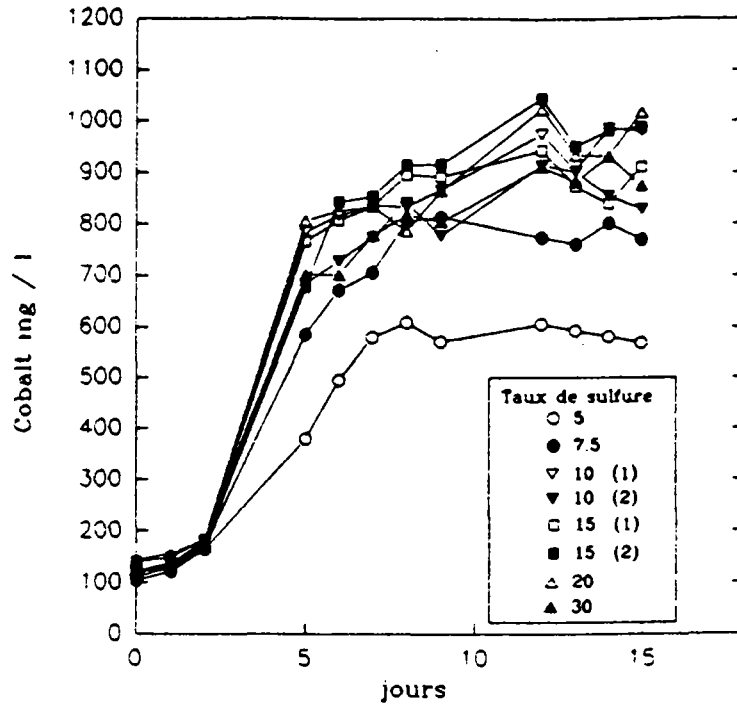


Fig 3 : Influence du taux de sulfure sur la cinétique de mise en solution du cobalt granulométrie 20-30 microns

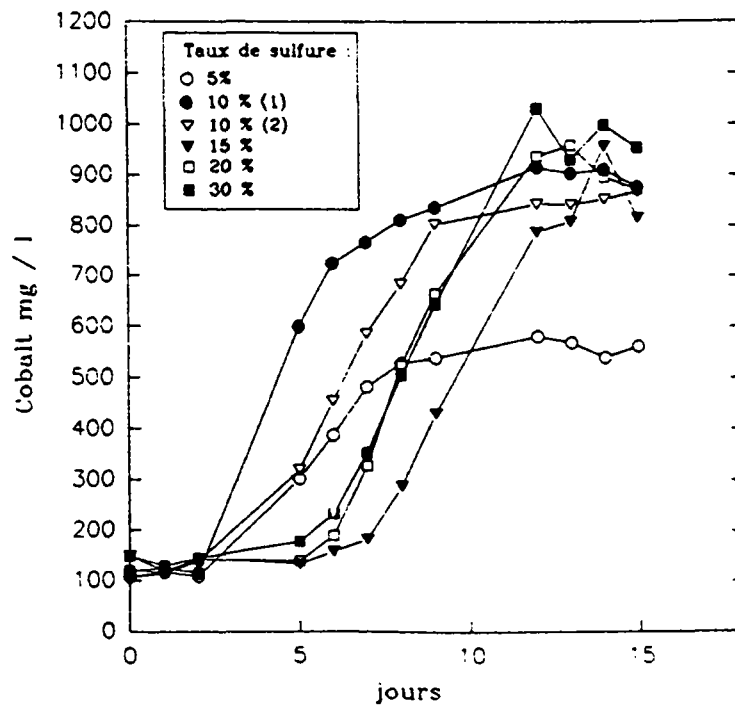


Fig 4 : Influence du taux de sulfure sur la cinétique de mise en solution du cobalt
granulométrie 50-63 microns

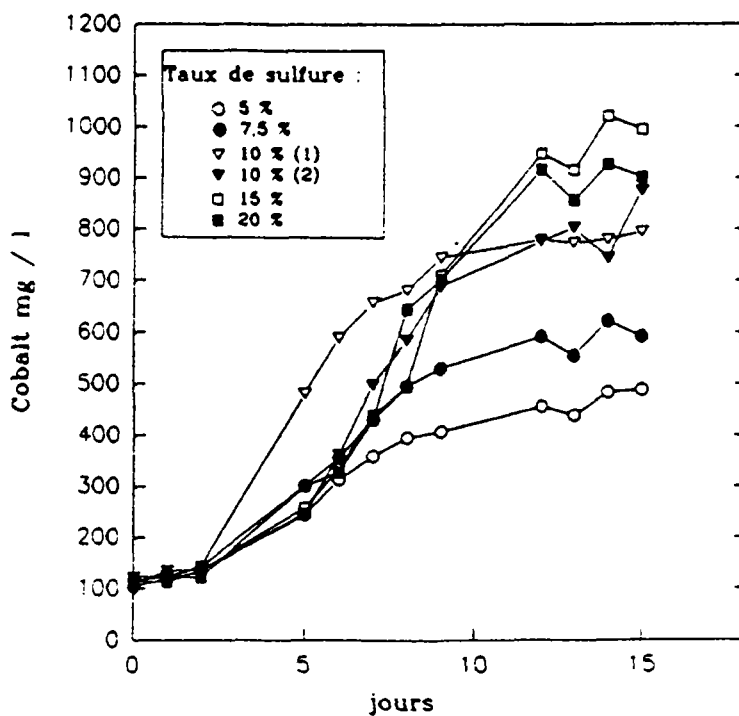


Fig 5 : Evolution de la vitesse de mise en solution du cobalt en fonction du taux de solide pour différentes granulométries

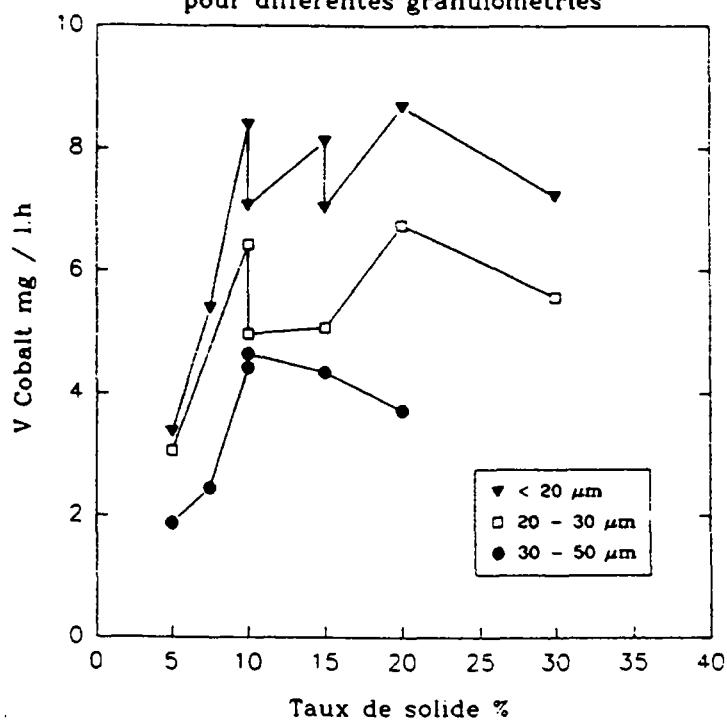


Fig 8 : Cinétiques de mise en solution du cobalt à 10 % de sulfure sans ajout de silice

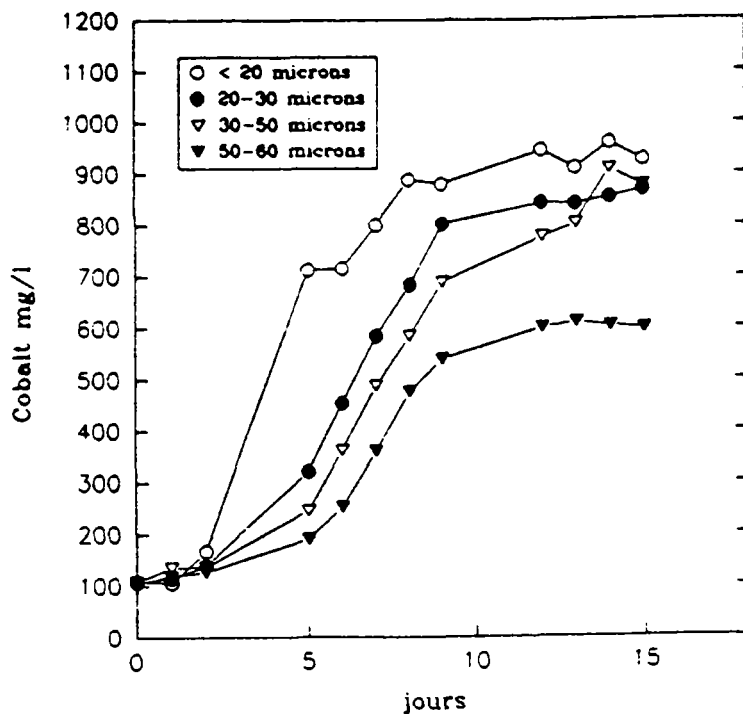


Fig 7 : Cinétiques de mise en solution du cobalt à 20 % de solide soit 10 % de sulfure et 10 % de silice

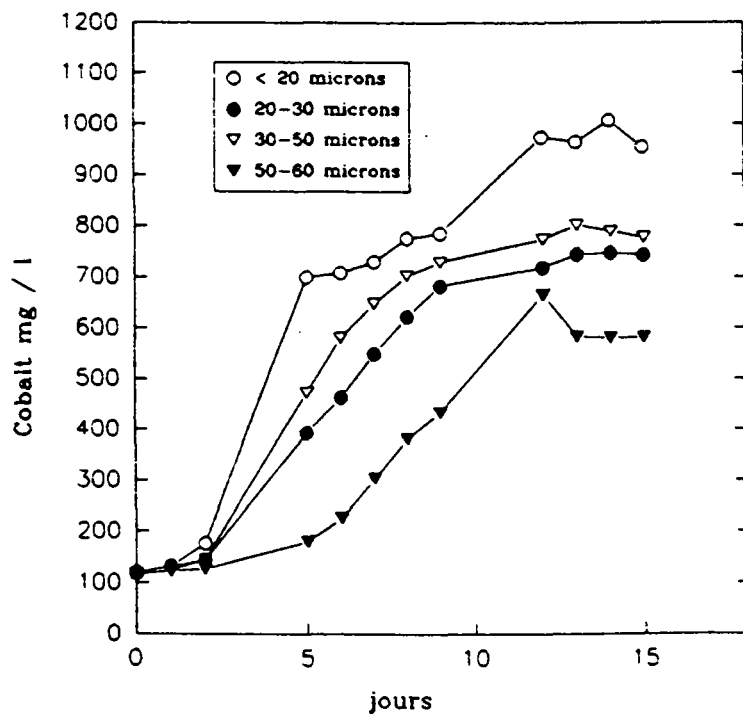


Fig 8 : Cinétiques de mise en solution du cobalt à 30 % de solide soit 10 % de sulfure et 20 % de silice

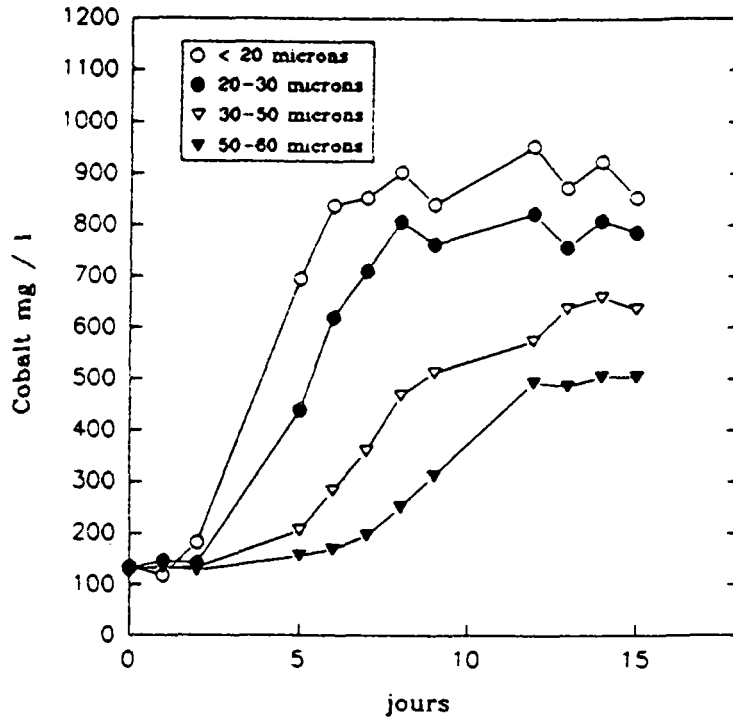
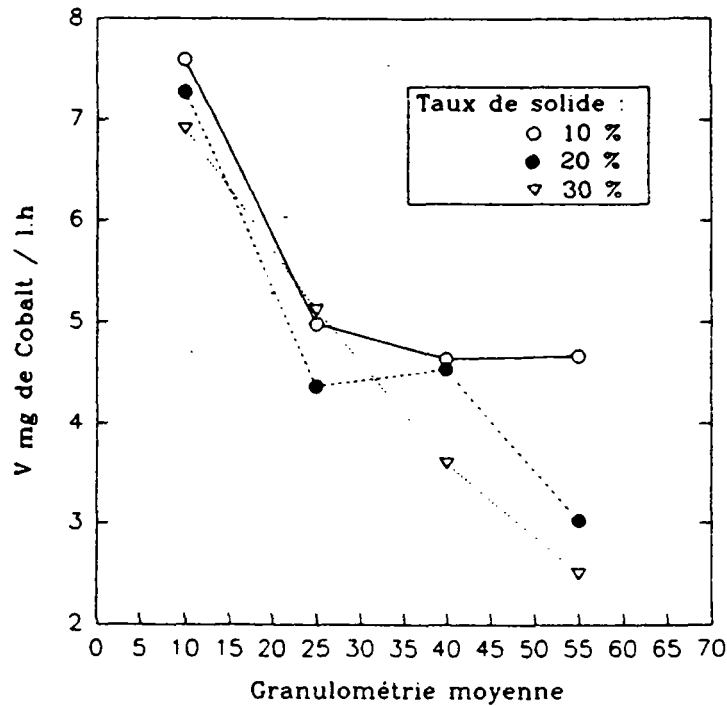


Fig 9 : Influence du taux de solide sur la vitesse de mise en solution du cobalt en fonction de la granulométrie
Taux de sulfure maintenu à 10 %



II.2.3. Evolution de la vitesse d'extraction en fonction de la surface de pyrite

II.2.3.1. Résultats expérimentaux

La quantité de substrat énergétique disponible pour la croissance bactérienne est fonction de la surface de pyrite offerte par le minerai. Cette surface dépend du taux de solide et de la granulométrie.

Une étude effectuée avec un sulfure de zinc par TORMA (1970) a montré que la vitesse de biolixiviation est liée à ces deux paramètres de façon cohérente vis à vis de la surface. Les auteurs ont conclu que le facteur limitant associé à la source d'énergie est la surface par unité de volume de biopulpe. Plusieurs équipes ont observé une relation de linéarité entre vitesse de consommation du substrat et surface initiale de minerai (PINCHES (1975), MYERSON et KLINE (1984), HANSFORD et DROSSOU (1988), HANSFORD et MILLER (1991), CHAPMAN (1992)).

L'interprétation des résultats dépend de la méthode choisie pour évaluer les surfaces de solide. TORMA a effectué des mesures de surfaces spécifiques par la technique B.E.T.. CHAPMAN et DROSSOU ont calculé des aires en assimilant les particules de minerai à des sphères dont le diamètre moyen serait égal à la granulométrie moyenne des grains.

La méthode B.E.T tient compte des micro-infractuosités du minéral. Cette analyse fournit une aire spécifique très supérieure à celle obtenue par une approximation de la géométrie des particules (voir figure 10).

Si l'étape limitante pour la cinétique de biolixiviation implique un contact direct bactéries-minerai ou une fixation des microorganismes sur le solide, l'aire disponible pour une éventuelle fixation de bactéries est très inférieure à l'aire obtenue par analyse B.E.T.. La surface calculée par approximation géométrique est peut être préférable parce que plus proche de la surface utile susceptible d'être couverte par les microorganismes.

En revanche si la vitesse d'oxydation du substrat est déterminée par un mécanisme indirect, attaque du sulfure sur toute sa surface accessible par des intermédiaires moléculaires ou action du fer ferrique, la méthode B.E.T. est la mieux adaptée pour une description fidèle du phénomène.

La maille de libération du sulfure attaqué est par ailleurs susceptible de modifier la quantité de substrat disponible à partir d'une certaine granulométrie. La surface à attaquer pourrait alors ne pas évoluer comme le carré de la taille des particules. Aucune des deux méthodes ne peut rendre compte de ce phénomène.

La méthode géométrique, utilisant le rayon moyen entre les bornes de la tranche pour calculer la surface, est clairement en défaut pour la tranche granulométrique la plus fine, < 20 µm.

Les vitesses de mise en solution du cobalt que nous avons obtenues à différents taux de solide et pour 3 tranches granulométriques sont données (fig11 et 12) en fonction des surfaces fournies par la méthode B.E.T et par l'approximation géométrique. La vitesse de consommation du substrat croît avec la surface initiale de sulfure jusqu'à une valeur critique pour laquelle une vitesse maximale est atteinte.

Nos résultats sont très proches de ceux obtenus par TORMA avec un sulfure de zinc (fig 13). Les vitesses de mise en solution du zinc et du cobalt avec la surface évoluent de façon

Fig 10 : Comparaison des deux méthodes d'évaluation des surfaces
Méthode des sphères et mesures B.E.T.

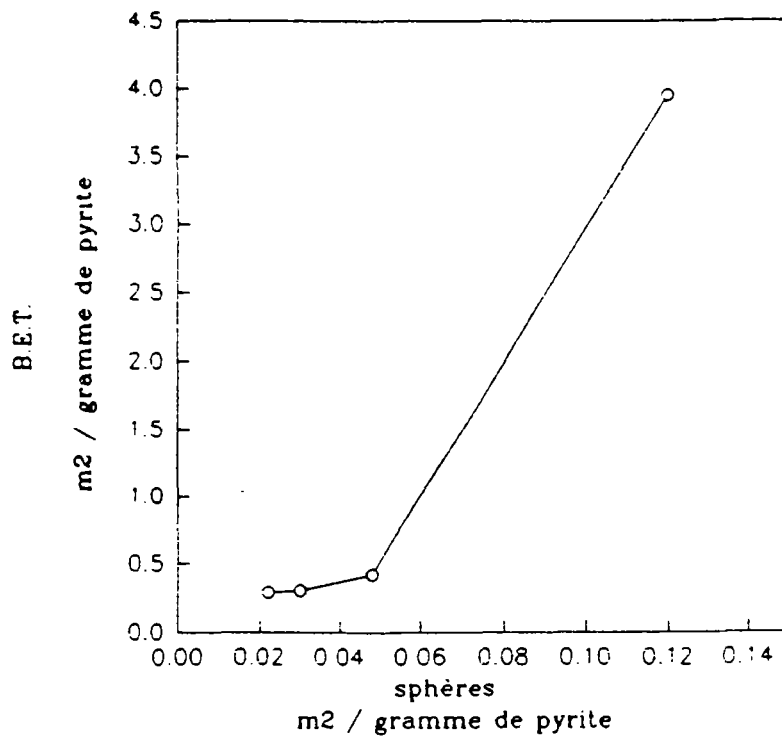


Fig 11 : Evolution de la vitesse de mise en solution du cobalt
en fonction de la surface initiale de pyrite
Surface mesurée par B.E.T.

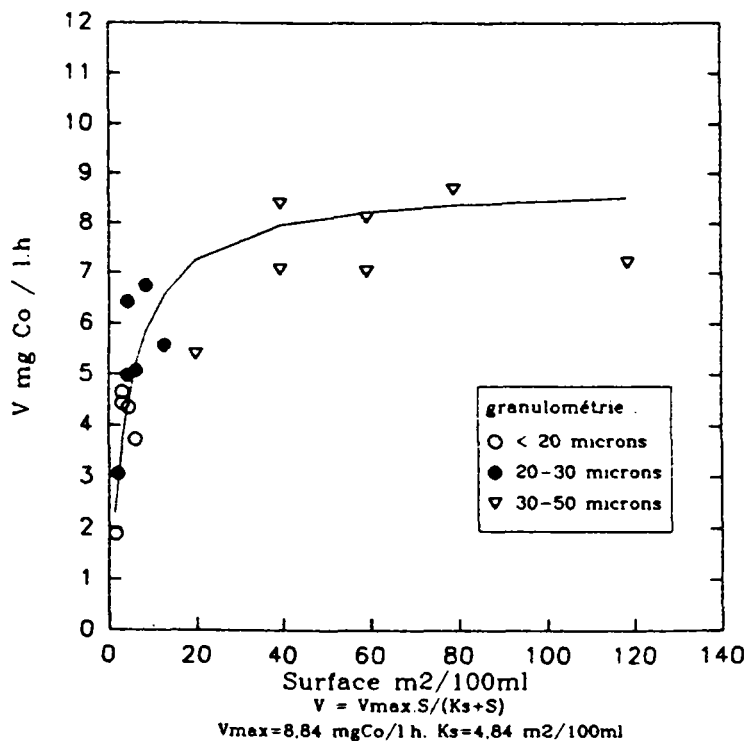
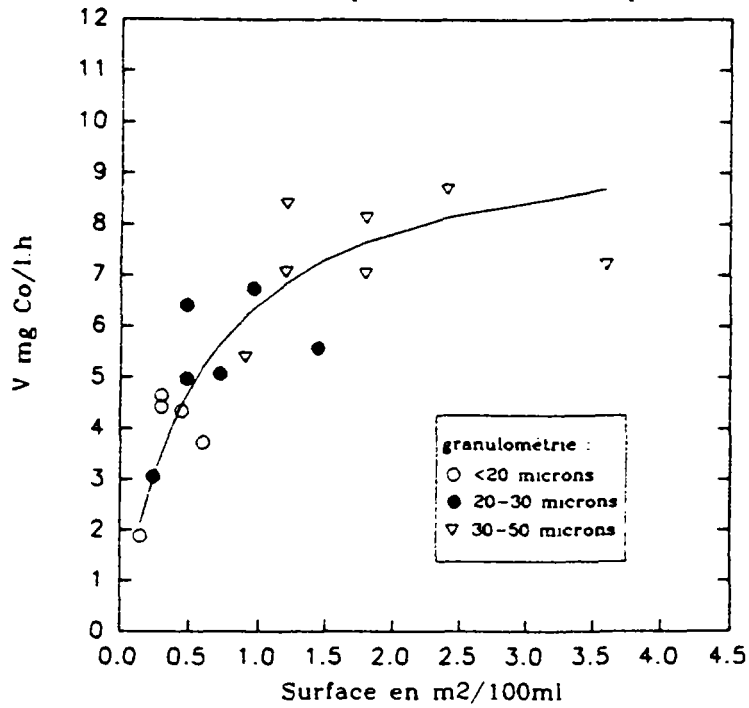
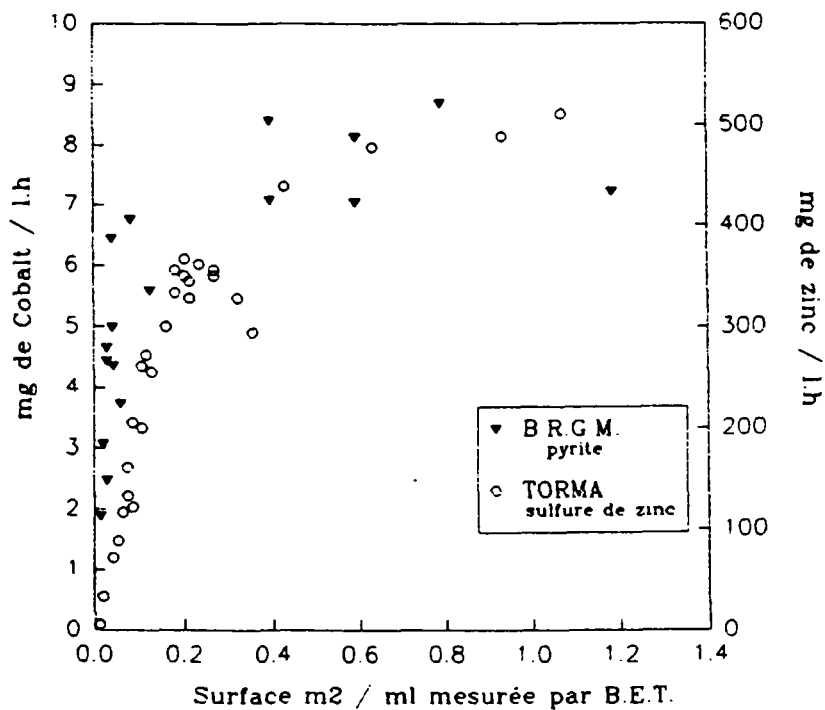


Fig 12 : Evolution de la vitesse de mise en solution du cobalt en fonction de la surface initiale de pyrite
Surface évaluée par la méthode des sphères



lissage $V = V_{max} \cdot S / (K_s + S)$ $V_{max} = 10.04 \text{ mg/l.h}$ $K_s = 0.56 \text{ m}^2/100\text{ml}$

Fig 13 : Influence de la surface de pyrite sur la vitesse de pyrite sur la vitesse de biolixiviation
comparaison avec les résultats de TORMA



similaire et aboutissent à un plateau pour des valeurs de surface tout à fait comparables, de l'ordre de $0,5 \text{ m}^2/\text{ml}$ de pulpe.

Il est tentant d'en déduire que l'évolution de la vitesse de biolixiviation en fonction de la surface ne dépend pas du sulfure utilisé.

Il faut signaler que les expériences de TORMA ont été réalisées en erlenmeyer.

La figure 14 compare nos résultats (rapportés en kg de pyrite dissoute) avec ceux obtenus par HANSFORD & CHAPMAN et HANSFORD & DROSSOU pour des concentrés de pyrite (95 % de pyrite pour CHAPMAN).

Dans l'intervalle de surfaces choisi par ces auteurs, la vitesse d'oxydation de la pyrite évolue effectivement de façon linéaire. L'effet de saturation n'est observé que pour des surfaces deux fois plus élevées. Pour une aire égale à $6000 \text{ m}^2 / \text{m}^3$, limite supérieure de cette représentation, nous obtenons une vitesse équivalente à la moitié de notre vitesse maximale.

Les paramètres V_{max} et K_s du modèle de Monod ont été calculés pour obtenir l'équation la plus proche de nos résultats expérimentaux.

La figure 15 montre les résultats obtenus pour les mesures de surface par la méthode B.E.T. et la figure 16 les résultats obtenus pour les surfaces calculées par l'approximation géométrique.

Les valeurs estimées pour V_{max} et K_s sont les suivantes:

Méthode B.E.T. : $V_{\text{max}} = 8,84 \text{ mg Co} / \text{l.h}$ et $K_s = 4,34 \text{ m}^2 / 100 \text{ ml}$

Méthode des sphères: $V_{\text{max}} = 10,04 \text{ mg Co} / \text{l.h}$ et $K_s = 0,56 \text{ m}^2 / 100 \text{ ml}$

modèle de Monod : $\mu = \mu_{\text{max}} \cdot S / (K_s + S)$

μ : taux de croissance

Le taux de croissance est assimilé à une simple vitesse linéaire et la surface de pyrite initiale représente la concentration en substrat.

II.2.3.2. Application à l'optimisation de la biolixiviation

Au delà d'une certaine surface de pyrite, la vitesse de lixiviation n'augmente plus. Broyer le minerai pour diminuer la taille des particules ou travailler à un taux de solide plus élevé ne permettrait pas d'améliorer les performances du procédé. Connaissant l'évolution de la vitesse de mise en solution du cobalt en fonction de la surface, nous pouvons déterminer la surface de minerai optimale correspondant à la surface minimale nécessaire pour atteindre la vitesse maximale.

Le modèle appliqué aux résultats obtenus par la méthode des sphères nous fournit un ajustement des points expérimentaux aussi satisfaisant que pour ceux obtenus par la méthode B.E.T..

La vitesse expérimentale maximale peut être calculée par moyenne des vitesses obtenues pour le plateau atteint lorsque la surface, mesurée par géométrie ou par B.E.T., n'est plus un facteur limitant pour la vitesse. Cette V_{max} expérimentale est de $7,7 \text{ mg Co} / \text{l.h}$.

Les valeurs de surface nécessaires pour obtenir cette vitesse avec les deux modèles, sont égales à $32,7 \text{ m}^2 / 100 \text{ ml}$ (B.E.T) et $1,84 \text{ m}^2 / 100 \text{ ml}$ (méthode géométrique).

Fig 14 : Evolution de la vitesse de biolixiviation avec la surface de substrat calculée par approximation géométrique. Comparaison avec la littérature
Biolixiviation de concentrés de pyrite

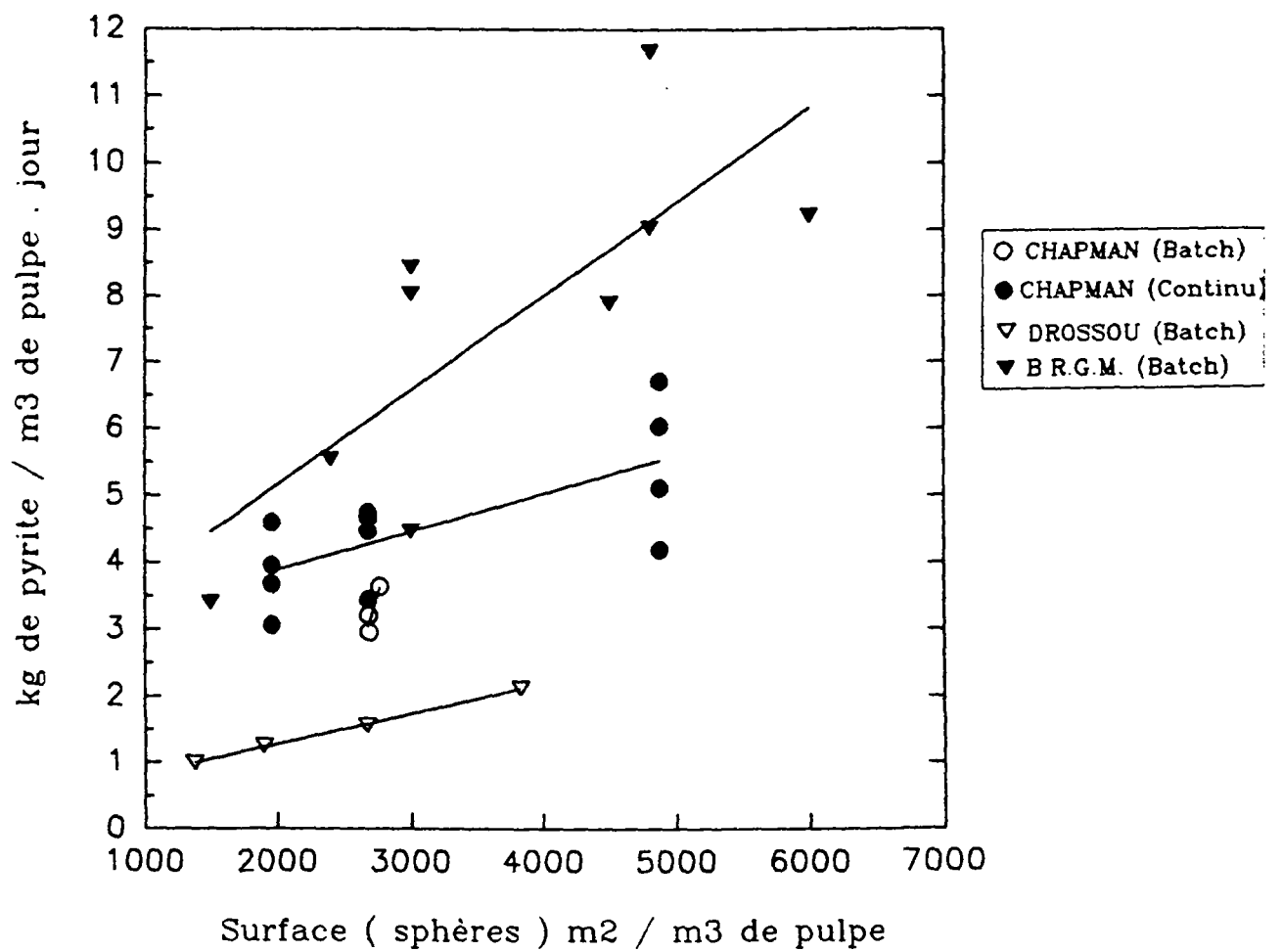


Fig 15 : Représentation en double inverse pour la détermination des paramètres V_{max} et K_s de l'équation de Monod Surface mesurée par B.E.T.

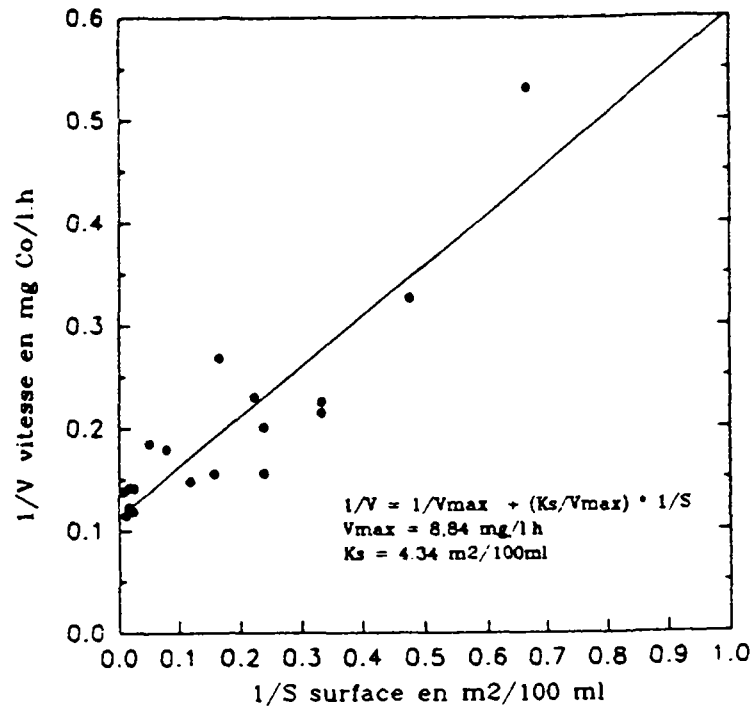
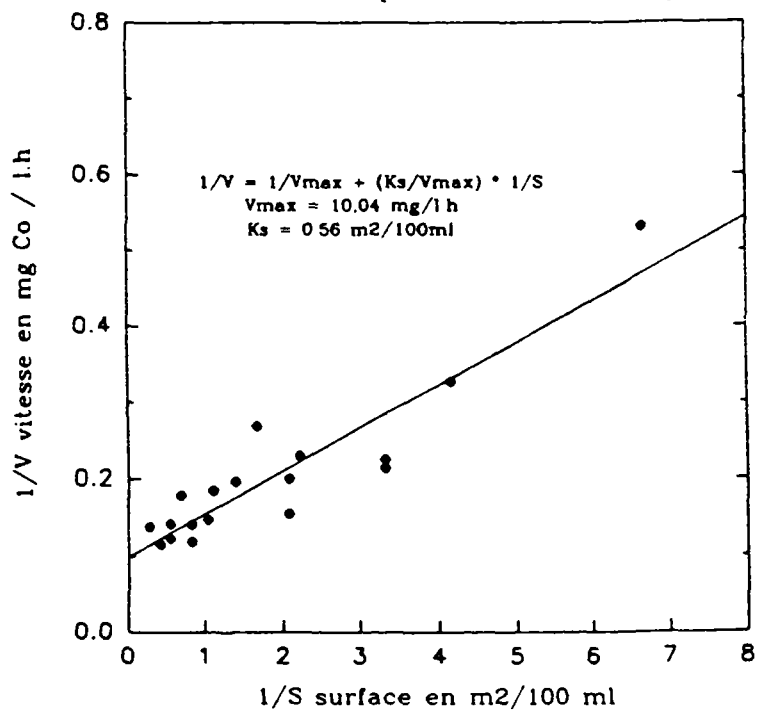


Fig 16 : Représentation en double inverse pour la détermination des paramètres V_{max} et K_s de l'équation de monod Surface obtenue par la méthode des sphères



La surface spécifique du minerai broyé à moins de 63 µm peut être calculée par les deux méthodes:

fraction granulométrique:	fraction aire sphères massique	aire B.E.T.	
		m ² / m ³ . %	m ² / m ³ . %
0-20 µm	37,18 %	1200	39492
20-30 µm	23,11 %	480	4225
30-50 µm	30,68 %	300	3039
50-63 µm	8,59 %	218	2911

Aire spécifique du minerai :
sphères: 668 m² / m³. %
B.E.T. : 16763 m² / m³. %

Les figures 17 et 18 donnent l'évolution, modélisée par les deux méthodes d'évaluation des surfaces, de la vitesse de mise en solution du cobalt en fonction du taux de solide pour le minerai broyé à moins de 63 microns non tamisé.

l

Taux de solide nécessaire pour obtenir une vitesse de 7,7 mg Co / l.h:
sphères: 27,5 %
B.E.T.: 17,6. %

Pour un taux de solide de 10 %, la méthode des sphères prévoit une vitesse de 5,5 mg Co / l.h, contre 7 mg / l.h avec la méthode B.E.T.. En première analyse, ces chiffres ne nous permettent pas de juger la validité des deux méthodes car les vitesses obtenues en conditions standard à 10 % de solide sont généralement comprises entre 5 et 7 mg /l.h. Nous pouvons calculer quel taux de solide devrait être choisi pour atteindre 7 mg / l.h d'après la méthode des sphères. Ce taux s'élèverait à 19,3 %, il serait deux fois supérieur au taux standard. Il apparaît nettement par ce calcul que la méthode B.E.T. est mieux adaptée que la méthode des sphères pour la détermination de la surface optimale. La surface nécessaire pour obtenir une vitesse de 7,7 mg / l.h d'après le modèle B.E.T. serait de 294500 m² / m³ .

La vitesse de biolixiviation n'augmente plus avec le taux de solide au delà de 10 %. Quand le pourcentage de solide est fixé à 10 %, il est nécessaire de réduire la taille des particules pour améliorer la vitesse de mise en solution du cobalt. Un rebroyage du minerai permettrait au mieux d'accroître cette vitesse de 7 mg / l.h à 7,7 mg / l.h.

Fig 17 : Evolution de la vitesse de mise en solution du cobalt en fonction du taux de solide - minerai broyé < 63 μm modèle de Monod - Surface mesurée par B.E.T.

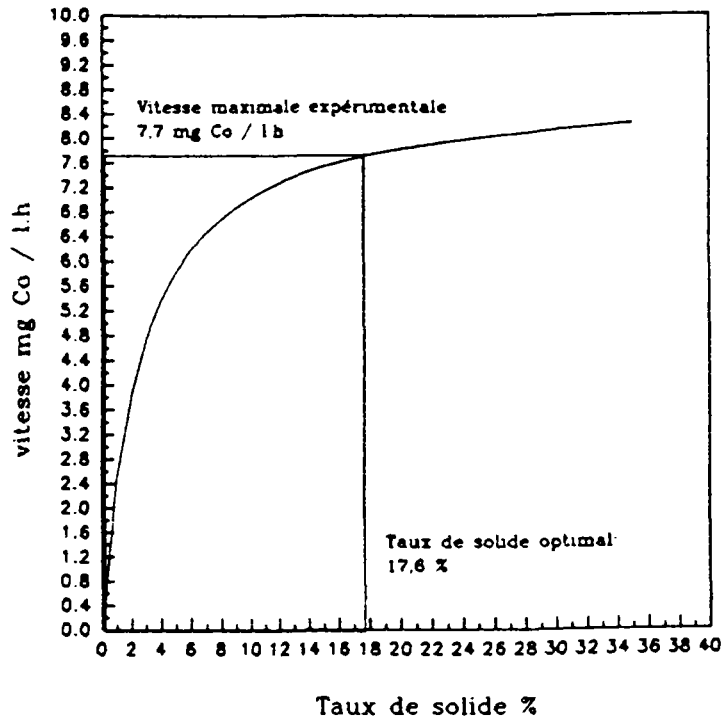
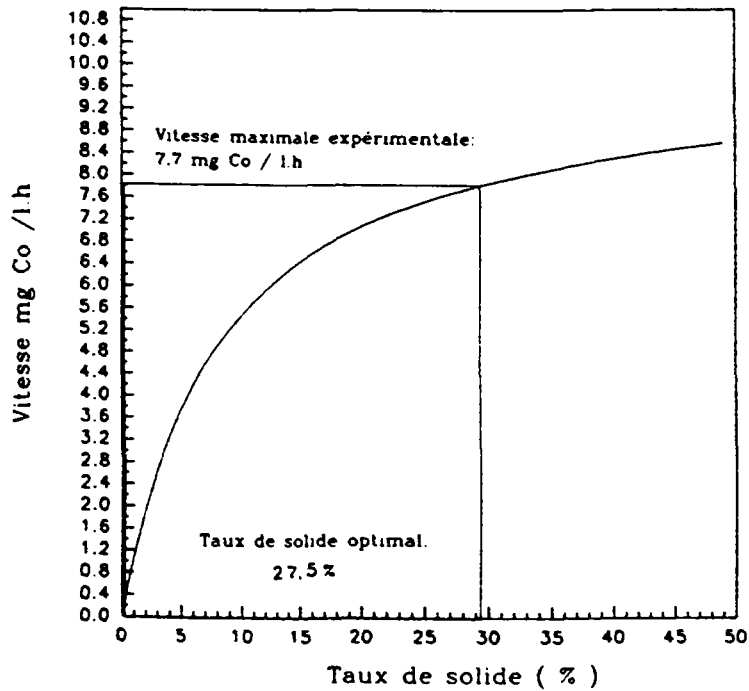


Fig 18 . Evolution de la vitesse de mise en solution du cobalt en fonction du taux de solide - Minerai broyé < 63 μ Modèle de Monod - Methode des sphères



II.3. Conclusion

Les essais de biolixiviation à différents taux de sulfure mettent en évidence deux phénomènes:

-La vitesse de biolixiviation croît avec la surface de pyrite disponible quand la granulométrie diminue et quand le taux de solide augmente jusqu'à 10%.

-Pour une granulométrie donnée, la vitesse de biolixiviation maximale est atteinte à 10% de solide. Pour des taux supérieurs, la vitesse plafonne ou décroît.

Lorsque la concentration en sulfure est optimale (10 %) et la granulométrie de la pyrite inférieure à 50 microns, la cinétique de biolixiviation n'est pas affectée par le taux de solide jusqu'à 30%. Dans le minerai broyé à moins de 63 microns, la fraction granulométrique 50-63 microns représente un très faible pourcentage en masse de l'ensemble des particules. Les frictions entre grains de minerai ne sont donc pas à l'origine de l'effet de saturation observé quand le taux de solide est supérieur à 10%. La capacité des bactéries à oxyder le substrat semble donc davantage affectée par la concentration en sulfure que par la quantité de solide.

La chute de l'activité bactérienne aux fortes concentrations en sulfure est peut être liée à des problèmes de diffusion des gaz dans la pulpe. La silice aurait, si cette hypothèse est vérifiée, moins d'influence que la pyrite sur les transferts de CO₂ et O₂. LIU, BRANION et DUNCAN (1987) ont étudié l'influence du taux de solide et de la granulométrie sur la vitesse d'oxydation du fer ferreux par *Thiobacillus ferrooxidans* et sur le *k_{la}*. Leurs résultats sont étroitement liés à la technique de culture employée. En réacteur agité, le taux de solide n'a pas d'influence sur la vitesse d'oxydation jusqu'à 15 %. Aucune information n'est fournie pour des taux de solide plus élevés. Or, c'est à partir de 15 % que le taux de solide critique est atteint. D'autre part, des essais effectués pour des puissances d'agitation et des vitesses ascensionnelles des gaz variables ont montré que le *k_{la}* diminue quand le taux de solide augmente. Cependant, la taille des microbilles utilisées (63 µm) est supérieure aux granulométries de sulfure choisies pour nos expériences à taux de solide croissant.

Il sera intéressant d'étudier plus précisément l'influence du taux de sulfure et de la granulométrie sur le transfert d'oxygène dans la biopulpe.

La vitesse d'oxydation du substrat augmente avec l'aire de sulfure offerte aux bactéries par le minerai. La vitesse maximale est atteinte pour une valeur optimale de surface spécifique, évaluée à 29 m² / 100 ml (méthode B.E.T.) en batch.

Références

BRAUX Pascale (1991), "Optimisation des Conditions de Biolixiviation d'une Pyrite Cobaltifère". Rapport de stage.

COLLINET-LATIL Marie-Noëlle (1989), "Lixiviation Bactérienne par *Thiobacillus ferrooxidans* et *Thiobacillus thiooxidans* d'un concentré de flottation Arsénopyriteux aurifère (réfractaire à la cyanuration directe)". Mémoire de thèse.

HANSFORD G.S. and CHAPMAN J.T. (1992), "Batch and Continuous Biooxidation Kinetics of a refractory gold-bearing pyrite concentrate". *Minerals Engineering*, Vol 5, n° 6, pp 597 - 612.

LIU M.S., BRANION R.M.R. and DUNCAN D.W. (1987), "Oxygen Transfert to *Thiobacillus* Cultures". *Biohydrometallurgy, Proceedings of the International Symposium, Warwick*. pp375-384.

MILLER D.M. and HANSFORD G.S. (1992), "Batch Biooxidation of a gold-bearing Pyrite-Arsenopyrite Concentrate". *Mineral Engineering*, Vol 5, n° 6, pp 613 - 629.

PINCHES A. (1975), "Bacterial leaching of an arsenic-bearing sulfide concentrate". *Leaching and Reduction in Hydrometallurgy*, Ed A.R. Burkin, 28-35. Inst Mining and metallurgy, London (1975).

MYERSON A.S. and KLINE P.C. (1984), "Continuous bacterial coal desulfurization employing *Thiobacillus ferrooxidans*", *Biotech. Bioeng.*, 26, pp 92-99.

SILVERMAN M.P. and LUNDGREN D.C. (1959), "Studies on the chemo-autotrophic iron bacterium *F.ferrooxidans*: I. an improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields". *J. Bacteriol.*, 77, 642.

TORMA A. E. (1970), "Microbiological Leaching of a zinc sulfide concentrate". *Biotechnology and bioengineering*, Vol XII, pp 501 - 517.

PARTIE III : LA TEMPERATURE DANS LES PROCÉDES DE BIOLIXIVIATION

III.1. Aperçu de l'importance de la température en biolixiviation

Dans l'optique d'une réalisation industrielle, des expérimentations de biolixiviation en continu (dans des réacteurs agités et aérés disposés en série) sont entreprises en 1989 au BRGM (Bureau de Recherches Géologiques et Minières). Le minerai utilisé est une pyrite cobaltifère provenant de la mine de Kasese en Ouganda. L'inoculum est une population bactérienne mixte. Les résultats encourageants obtenus aux échelles laboratoire (100 litres) et pilote (4 m³) permettent de monter en 1992 un projet d'extraction industrielle du cobalt sur le site de Kasese.

Cependant beaucoup de questions subsistent sur les processus complexes qui interviennent au cours de la biolixiviation des sulfures métalliques. Pour tenter d'y répondre, le BRGM entreprend, en parallèle au développement du procédé en continu des travaux plus fondamentaux en collaboration avec l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) et le CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique). Le thème pris en charge par le BRGM concerne une meilleure connaissance des micro-organismes constituant la population mixte et l'influence des paramètres de culture sur leur croissance et leur capacité à oxyder les sulfures. Ce thème a fait l'objet des études réalisées dans le cadre d'un doctorat par F. Battaglia (1994). L'ensemble de ses travaux ont été effectués sur la pyrite cobaltifère et à partir de cultures en milieu non renouvelé à l'échelle laboratoire.

Dans la continuité des travaux réalisés en batch et sur le procédé en continu, nous avons défini, lors du rapport ADEME n°1 de Décembre 1993, 3 axes principaux de recherche. Deux d'entre eux ont été abordés depuis Janvier 1994 et font l'objet de cette présentation.

1 - Influence des variations de températures sur la lixiviation bactérienne (expériences en tube air lift).

2 - Bilan des échanges gazeux au cours de la biolixiviation (pilote laboratoire en continu - 80 litres).

III.1.1. Nécessité de la régulation de température

La majorité des micro-organismes impliqués dans la biolixiviation sont mésophiles. C'est le cas notamment de *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* et *Leptospirillum ferrooxidans* dont les températures optimales de croissance se situent entre 20°C et 40°C (Hughes et Poole, 1989 ; Battaglia, 1994). En l'absence de système de régulation, on observe lors de la mise en oeuvre industrielle d'un procédé, des montées en température très importantes dans la biopulpe. La production de chaleur est générée par les frictions mécaniques importantes engendrées par les systèmes d'agitation et d'aération des réacteurs, mais aussi par les réactions chimiques (ajouts d'acide sulfurique ou de chaux pour contrôler le pH, oxydations) et bactériennes (oxydations) qui sont très exothermiques (Barrett *et al.*, 1993).

Ainsi par exemple, le caractère très exothermique de l'oxydation de la pyrite est illustré par l'estimation des chaleurs de réaction intervenant dans ce processus (Ismay *et al.*, 1986).

ΔH^* = énergie

(1)	$\text{FeS}_2 + 3.5\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	\rightarrow	$\text{FeSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$	-1443,20 kJ
(2)	$\text{FeS}_2 + \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	\rightarrow	$3\text{FeSO}_4 + 2\text{S}^\circ$	+8,00 kJ
(3)	$4\text{FeSO}_4 + \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{SO}_4$	\rightarrow	$2\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 2\text{H}_2\text{O}$	-413,70 kJ
(4)	$2\text{S}^\circ + 3\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	\rightarrow	$2\text{H}_2\text{SO}_4$	-1244,30 kJ
(5)	$3\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 10\text{H}_2\text{O}$	\rightarrow	$2\text{Fe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_5 + 5\text{H}_2\text{SO}_4$	+333,70 kJ
(6)	$\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$	\rightarrow	$\text{CaSO}_4, 2\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$	-14,40 kJ

$\Delta H^* < 0$ = production de chaleur (réaction exothermique).

$\Delta H^* > 0$ = "consommation" de chaleur (réaction endothermique).

L'oxydation d'une mole de pyrite (FeS_2) jusqu'au sulfate ferrique ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) provoque un dégagement de chaleur de 1546,63 kJ ((1)+1/4(3)).

Une mauvaise maîtrise de ces différents phénomènes peut donc entraîner un choc thermique (temp. > 40°C) dans la biopulpe. Ce dernier provoque une chute de l'activité biolixivante (effet bactériostatique) pouvant aller jusqu'à la lyse bactérienne et la perte totale de la culture (Barrett *et al.*, 1993). Dans le cadre d'une réalisation industrielle, un tel événement nécessitera la remise en route du procédé et éventuellement la préparation d'un nouvel inoculum. Compte tenu des volumes très importants mis en jeu, la perte de temps résultant de ce problème aura des conséquences économiques fâcheuses. C'est pourquoi la régulation de température s'avère primordiale. De plus, elle permet de favoriser l'activité oxydative optimale.

III.1.2. Mise en oeuvre du refroidissement

La principale difficulté du contrôle de la température se situe dans la mise en place du système de refroidissement. En effet, les sites miniers sur lesquels vont s'implanter les industries biohydrométallurgiques se situent souvent dans des régions chaudes et arides. L'eau nécessaire au refroidissement n'est alors disponible qu'en faible quantité. Elle est, de plus, très dure et très saline, ce qui provoque une détérioration rapide des équipements (tours de refroidissement, échangeurs de chaleur...) (Budden et Spencer, 1993). Sa température qui est parfois très élevée (> à 30°C) n'est pas favorable à un bon transfert de chaleur lorsque le procédé fonctionne dans des conditions mésophiles. Pour une bonne régulation, il est donc nécessaire de mettre en oeuvre des installations très volumineuses permettant de compenser le faible gradient de température entre l'eau de refroidissement et la biopulpe (Lawrence et Marchant, 1988).

Budden et Spencer (1993) indiquent que dans beaucoup de régions minières la température de fonctionnement des procédés biohydrometallurgiques va conditionner leur viabilité car les contraintes techniques du refroidissement représentent une part très importante de l'investissement financier. Lawrence et Marchant (1988) se sont livrés à une comparaison de 2 systèmes d'oxydation bactériens d'un minerai aurifère, l'un mésophile (33°C), l'autre thermophile (63°C). Ils en concluent que même si le travail à haute température permet un gain financier très important (de l'ordre de 50 %) sur les coûts d'investissement et de fonctionnement engendrés par le refroidissement, l'intérêt économique sur le coût total de l'exploitation reste très faible (< 2 %). Ils reconnaissent cependant que dans des conditions climatiques extrêmes les difficultés d'ordre technique (manque d'eau, température de l'eau > à 30°C, mauvaise qualité...) pourraient rendre très intéressante l'utilisation d'un procédé thermophile.

De ces constatations sur la production de chaleur et la mise en oeuvre du refroidissement, on peut conclure que la régulation de température est souvent une contrainte d'autant plus difficile à surmonter (techniquement et parfois financièrement) que la température

optimale de biolixiviation est basse.

C'est pourquoi depuis les années 1970, plusieurs laboratoires travaillent à isoler et caractériser des bactéries thermophiles capables de dégrader les sulfures. On peut répartir ces micro-organismes en 2 catégories. La première rassemble les thermophiles extrêmes qui réalisent la biolixiviation entre 60°C et 80°C. La deuxième regroupe les thermophiles modérés qui se développent entre 40°C et 60°C.

III.1.3. Les micro-organismes thermophiles extrêmes

Ceux intervenant en biohydrométallurgie appartiennent à la division des Archéobactéries qui constituent une branche distincte dans l'évolution des micro-organismes procaryotes. D'un point de vue morphologique, ces bactéries sont de forme coccoïde et se distinguent notamment des Eubactéries classiques par l'absence de peptidoglycane (muréine) au niveau de leur paroi cellulaire (Hughes et Poole, 1989 ; Barrett *et al.*, 1993). Toutes les espèces isolées à ce jour présentent des caractéristiques physiologiques communes. Elles sont aérobies facultatives et acidophiles extrêmes (pH optimum 2-3) ; elles se développent dans des conditions autotrophes, hétérotrophes ou mixotrophes et la présence d'extrait de levure favorise leur croissance en laboratoire (Barrett *et al.*, 1993). Elles sont capables d'oxyder les composés réduits du soufre (source d'énergie), mais par contre l'oxydation directe du Fe^{2+} et des sulfures n'a pu être mise en évidence que sur certaines souches (Hughes et Poole, 1989 ; Karavaïko *et al.*, 1993).

La première souche thermophile extrême a été isolée en 1966 d'une source d'eau chaude du parc national de Yellowstone au Etats Unis (Brierley et Brierley, 1973). Elle sera longtemps identifiée comme *Sulfolobus brierleyi* avant d'être reclassée récemment en *Acidianus brierleyi* (Seeger *et al.*, 1986). Cette assimilation au genre *Sulfolobus* vient de sa parenté morphologique et physiologique avec l'espèce *Sulfolobus acidocaldarius* qui fut isolée dans la même région et donna naissance au genre (Brock *et al.*, 1972). *Sulfolobus acidocaldarius* est l'espèce majoritaire des sources sulfureuses chaudes où elle contribue à l'acidification du milieu en oxydant de grandes quantités de soufre (Flierman et Brock., 1972).

Depuis d'autres souches apparentées à *Sulfolobus* ont été mises en évidence dans différents biotopes. C'est le cas notamment des souches référencées *Sulfolobus* LM et BC qui ont été isolées par Marsh et Norris (1983), respectivement d'une source thermale (Lac Myvam, Islande) et de l'eau de drainage d'un stock de charbon en tas (houillère de Birch Coppice, Angleterre).

De nombreux auteurs ont montré que les souches thermophiles de *Sulfolobus* (Marsh *et al.*, 1983 ; Kargi et Robinson, 1985 ; Norris et Parrot, 1986 ; Le Roux et Wakerley, 1988) et d'*Acidianus* (Brierley et Brierley, 1978 ; Marsh *et al.*, 1983 ; Ngubane et Baecker, 1988) sont capables de réaliser la lixiviation des minerais sulfurés métalliques de façon très efficace. Des tests comparatifs ont démontré que pour la récupération du cuivre à partir de chalcoppyrite, ces bactéries cultivées à 60°C-70°C permettaient d'obtenir des vitesses et des rendements d'extraction supérieurs à ceux obtenus en parallèle avec *T. ferrooxidans* à 35°C. Bien que jouant un rôle stimulateur de l'oxydation chimique, la température élevée ne peut justifier seule une telle amélioration (Brierley et Brierley, 1978).

Les capacités oxydatives des micro-organismes thermophiles extrêmes sont attractives et leur utilisation dans des procédés industriels commence à être envisagée (Le Roux et Wakerley, 1988 ; Lawrence et Marchant, 1988).

III.1.4. Les micro-organismes thermophiles modérés

En 1976, Golovacheva et Karavaïko isolent une bactérie modérément thermophile dans un minerai stocké en tas de lixiviation. Dans un premier temps, cette bactérie sera apparentée à

Thiobacillus, mais une étude plus approfondie permettra de désigner un nouveau genre : *Sulfobacillus*. L'espèce type est *S. thermosulfidooxidans*, dont la présence a été mise en évidence dans 70 % des tas de lixiviation échantillonnés. D'autres espèces ont aussi été identifiées dans des régions volcaniques et dans des zones de corrosion des tuyauteries des systèmes de chauffage urbain (Karavaïko *et al.*, 1988 ; Barrett *et al.*, 1993).

Les bactéries qui composent ce genre sont gram positif, aérobies strictes, acidophiles (pH optimum 2-3), thermophiles modérées (optimum de croissance 55°C) et capables de former des spores (sauf une espèce non sporulante). Leur morphologie est complexe car bien que proche des *Bacillus* (bâtonnet), elles se développent souvent soit en formant des filaments, soit en formant des agrégats. Elles sont capables de se multiplier sur un substrat organique en utilisant un métabolisme hétérotrophe, mais aussi sur un substrat minéral selon le mode chimiolithoautotrophe. Dans ce cas, elles utilisent le Fe^{2+} , le soufre et les composés réduits du soufre comme source d'énergie (Pivovarova et Golovacheva, 1985 ; Karavaïko *et al.*, 1988).

A l'heure actuelle, bien que leur capacité à oxyder les minerais sulfurés métalliques (pyrite, chalcoppyrite, arsénopyrite) soit reconnue, aucune application ne semble avoir été testée en réacteurs agités et aérés.

D'autres bactéries thermophiles modérées capables de dégrader les sulfures ont été isolées. Ces micro-organismes n'ayant pas encore été entièrement caractérisés, ils ne sont pas référencés dans la taxonomie bactérienne. Ils ne sont identifiés que par le nom de code que leur ont donné les chercheurs.

Trois souches apparentées à *Thiobacillus* ont été particulièrement étudiées. TH1 provient d'une source thermale en Islande (Le Roux *et al.*, 1977). TH2 a été isolée d'un réacteur pilote de lixiviation du cuivre (Brierley et Lockwood, 1977 ; Murr et Brierley, 1978). TH3 a été sélectionnée dans une halde industrielle de lixiviation du cuivre sur le site minier de Chino (Hurley, Nouveau Mexique, USA) (Brierley, 1978). Ces bactéries présentent des caractéristiques physiologiques et morphologiques communes. Il s'agit de bâtonnets aérobies, thermophiles modérés (optimum de croissance 50°C) et acidophiles (pH optimum 1-3) qui présentent un métabolisme hétérotrophe, autotrophe ou mixotrophe (Pivovarova et Golovacheva, 1985). Elles sont capables d'utiliser l'oxydation du Fe^{2+} et des minerais sulfurés (pyrite, chalcoppyrite...) comme source d'énergie, mais nécessitent obligatoirement de l'extrait de levure pour leur croissance en laboratoire (Brierley, 1980 ; Le Roux et Wakerley, 1980). Ces mêmes auteurs ont montré que ces bactéries supportent d'importantes concentrations en métaux et que leur utilisation dans les procédés biotechnologiques de dégradation des sulfures à l'échelle industrielle pourrait être envisagée.

D'autres bactéries thermophiles modérées apparentées à *Thiobacillus* ont été isolées dans l'eau et les sédiments du lac Myvam en Islande et à partir de dépôts de charbon en Grande Bretagne (Marsh et Norris, 1983 ; Norris *et al.*, 1986). Ces souches aérobies sont acidophiles (pH optimum 2). Elles se développent de façon optimale entre 50°C et 55°C et utilisent le CO_2 ou des substrats organiques comme source de carbone. Leur croissance est favorisée par l'extrait de levure. Elles oxydent le Fe^{2+} et le soufre et interviennent positivement dans la dégradation des sulfures (Barrett *et al.*, 1993).

En 1992, Golovacheva a mis en évidence l'existence d'une souche thermophile modérée de *Leptospirillum* : *L. thermoferrooxidans*. Sa température de croissance est située entre 40°C et 50°C, son pH optimum est de 1,5 (Barrett *et al.*, 1993). Présentant les caractéristiques biochimiques de *L. ferrooxidans*, son intervention dans la biolixiviation à température élevée est envisageable.

En Australie, une population mixte modérément thermophile a été isolées par Poole et décrit par Nobar *et al.* (1988) sous le nom de code M4. Ce mélange bactérien permet d'oxyder de nombreux minerais sulfurés (pyrite, chalcoppyrite, arsénopyrite ...) (Spencer *et al.*, 1989). Sa température optimale de croissance est de 46°C, son pH optimum se situe entre 1,3 et 1,6. Cette

population mixte est composée de cocci gram positif et de bâtonnets gram négatif de différentes tailles ; les petits oxydent le Fe^{2+} , les gros sont hétérotrophes et oxydent le soufre. Plusieurs cultures d'adaptation sur différents substrats ne modifient pas la composition de la population et semblent prouver son caractère symbiotique (Barrett *et al.*, 1993). Cette culture mixte a été utilisée avec succès, dans des réacteurs agités et aérés à l'échelle pilote, pour le traitement en continu de concentré d'arsénopyrite aurifère (Spencer *et al.*, 1989 ; Spencer et Budden 1990).

Elle est maintenant référencée sous le nom commercial de culture modérément thermophile "BacTech". Des tests ont montré sa capacité à tolérer, sans conséquence majeure pour l'extraction de l'or, une température de 50°C et de fortes concentrations salines (Budden et Spencer, 1993). Les auteurs signalent qu'on peut ainsi envisager son utilisation dans des régions minières à climat chaud et aride. Elle pourrait, en effet, faciliter la mise en oeuvre du procédé biotechnologique en allégeant les contraintes sur l'eau de procédé et les installations de refroidissement.

III.2. Travail expérimental

III.2.1. Introduction

Un grand nombre d'études sont menées au laboratoire en tube air lift. Des conditions standards, définissant les paramètres de culture de référence (solution nutritive, taux de solide, pH, température et débit d'air) ont été mises au point par F. Battaglia (1994). Les études expérimentales sont interprétées par rapport aux résultats obtenus en parallèle avec ces cultures témoins. L'ensemble des résultats standards ont été réunis afin de permettre un traitement statistique. Cette approche nous permet de prendre en compte le degré de variabilité des comportements expérimentaux dû à l'hétérogénéité du milieu de culture et l'utilisation d'une population mixte.

La biolixiviation en tube air lift a été utilisée dans le cadre de nos recherches afin d'étudier l'effet de l'un des paramètres de culture primordial dans l'optique d'une application industrielle : la température. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, les procédés de biolixiviation sont générateurs de chaleur et le refroidissement n'est pas toujours facile à mettre en place sur des réacteurs de grands volumes. C'est pourquoi, l'utilisation de bactéries supportant des températures supérieures à 35°C, permet d'envisager une mise en oeuvre plus souple du procédé.

Au BRGM, les premiers travaux concernant l'influence de la température ont été réalisés par F. Battaglia (1994) au cours de sa thèse sur la pyrite cobaltifère. Des études air lift ont tout d'abord été effectuées dans les conditions standards à différentes températures (30°C, 35°C, 37°C et 40°C). Elles ont confirmé le caractère mésophile des 3 espèces bactériennes composant la population mixte BRGM (*Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* et *Leptospirillum ferrooxidans*). En effet, les performances de biolixiviation obtenues à 30°C, 35°C et 37°C ne présentaient aucune différence significative ; par contre l'inhibition du processus d'oxydation de la pyrite était totale à 40°C.

La population mixte ne supportant pas une augmentation brutale de température, une adaptation progressive a été réalisée par des cultures successives à température croissante (par palier de +1°C à partir de 37°C). Par cette méthode, F. Battaglia (1994) a montré que la population mixte est capable de biolixivier la pyrite cobaltifère jusqu'à 43°C. Nous avons poursuivi ce travail jusqu'à 48°C. L'ensemble des résultats obtenus par cette approche expérimentale seront exposés dans ce rapport. Afin de compléter ces travaux, nous avons étudié le comportement d'un inoculum adapté lorsqu'il est utilisé pour des cultures à 35°C puis lorsqu'il est soumis ensuite à une nouvelle augmentation de température, cette fois-ci brutale (lors d'un repiquage ou en cours de croissance).

III.2.2. Matériels et Méthodes

III.2.2.1 Origine de l'inoculum

La population bactérienne utilisée provient à l'origine de prélèvements effectués sur des sites miniers par le BRGM. Elle a été cultivée plusieurs années sur un concentré de pyrite/arsénopyrite. Elle contenait alors 2 espèces bactériennes : *Thiobacillus ferrooxidans* et *Thiobacillus thiooxidans* (Collinet-Latil, 1989). Depuis 1989, elle a été adaptée par repiquages successifs à la pyrite cobaltifère. F. Battaglia (1994) a montré qu'elle s'était enrichie d'une espèce bactérienne apparentée à *Leptospirillum ferrooxidans*.

III.2.2.2 Le substrat sulfuré

Le matériau utilisé est un concentré de flottation rejeté lors du traitement d'un minerai de cuivre. Il provient du site de Kasese en Ouganda. Ce concentré constitué à 80 % de pyrite (FeS₂) contient du cobalt uniformément disséminé dans la matrice pyriteuse. La mise en solution du cobalt au cours de la biolixiviation est donc directement liée à l'oxydation de la pyrite. En effet, le degré d'oxydation de la pyrite se mesure à la concentration en fer dissous et il existe une relation linéaire entre le fer et le cobalt dissous (Battaglia, 1994).

Au cours de nos expérimentation, 2 lots de pyrite cobaltifère ont été utilisés :

- lot n°1 : (pilote KCC, Orléans - Décembre 1992 et thèse de F.Battaglia) = PCO1
- lot n°2 : (pilote KCC, Orléans - Janvier 1994) = PCO2

* Préparation et granulométrie :

Le lot n°1 a été préparé par succession de tamisage (< 63µm) / broyage par voie humide jusqu'à récupération de tout le minerai sous forme de particules < à 63µm.

Le lot n°2 a été obtenu par tamisage (< 63µm) par voie humide des échantillons de pyrite cobaltifère stockés au laboratoire.

La répartition granulométrique des particules est donnée dans le tableau 1.

tableau 1 : Caractéristiques granulométriques des 2 lots de pyrite cobaltifère.

fractions (µm)	lot n°1	lot n°2
+ 63	2,06%	0,26%
63-50	12,57%	14,69%
50-32	24,27%	20,52%
20-32	17,67%	16,38%
< 20	43,43%	48,15%

* Analyse chimique du concentré :

Les principaux métaux ont été analysés dans le concentré sur les 2 lots (tableau 2).

tableau 2 : Teneur en métaux (% m/m) dans les 2 lots de pyrite cobaltifère.

métaux	lot n°1	lot n°2
Co	1,35	1,48
Fe	40,58	37,45
Cu	0,09	0,39
Ni	0,11	0,14

III.2.2.3 Composition de la solution nutritive

Cette solution nutritive (OKm) a été optimisée pour la biolixiviation de l'arsénopyrite par M.N. Collinet-Latil (1989) à partir du milieu 9K, sans fer ferreux, de Silverman et Lundgren (1959). F. Battaglia (1994) a montré que sa composition est parfaitement adaptée au développement des bactéries en présence de pyrite. Il contient les composés suivant :

(NH ₄)SO ₄	3,7 g/l
H ₃ PO ₄	0,8 g/l
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0,52 g/l
KOH.....	0,48 g/l

dans l'eau déminéralisée.

III.2.2.4 Techniques de culture

Cultures en tube air-lift

Les essais sont menés en batch, dans des tubes en verre à fond conique contenant 200 ml de culture. L'agitation et l'aération sont assurées par l'injection d'air à la base des tubes. La température de culture est maintenue grâce à un bain thermostaté.

Les expérimentations s'effectuent dans des conditions non stériles. Dans tous les cas, un paramètre testé représente la mise en oeuvre de 2 tubes air lift.

Conditions standards

Dans les conditions standards, le taux de solide (sulfure) est de 10 % (m/m). Soit 20 g de pyrite dans 180 ml de solution nutritive OKm. La granulométrie du minerai est inférieure à 63µm. Le pH est ajusté à 1,7 (par de la calcite ou de l'acide sulfurique) en début d'expérience et n'est pas régulé en cours de batch. Le débit air est fixé à 100 l/h et la température est maintenue à 35°C. La pulpe est inoculée à 10 % (m/m) par 20 g d'une culture provenant des expériences standards précédentes.

III.2.2.5 Etude de la température

L'ensemble des travaux sur la température ont été réalisés avec le lot n°2 de pyrite cobaltifère.

III.2.5.1 Adaptation progressive à la température

La population mixte a été cultivée en batch depuis 37°C jusqu'à 48°C en augmentant la température de culture de +1°C à chaque repiquage. Les autres paramètres de culture sont ceux définis pour les conditions standards. Cette adaptation progressive a été effectuée jusqu'à 45°C par F. Battaglia. Nous avons poursuivi ce travail.

III.2.5.2 Chocs de température

La population mixte adaptée progressivement à 46°C va être utilisée en tant qu'inoculum pour tester ses performances biolixivantes lorsqu'elle est soumise à des chocs de température importants.

Dans un premier temps (expérience 1), la population mixte adaptée à 46°C a été cultivée à 35°C au cours de 2 repiquages successifs. Puis, cette culture à 35°C est utilisée pour ensemercer une pulpe qui est placée à nouveau à 46°C. En parallèle, la population mixte adaptée subit un 3ème repiquage successif à 35°C.

Dans un deuxième temps (expérience 2), on utilise comme inoculum la

population mixte adaptée à 46°C et cultivée à 35°C (lors de l'expérience 1) pour tester l'influence du passage brutal de 35°C à 46°C en cours de phase de croissance ([Co] = 400 - 450 mg/l). Au cours de cette expérience, la population mixte adaptée à 46°C subit un 4ème repiquage à 35°C (témoin expérimental de la population adaptée).

III.2.2.6 Suivi analytique des cultures

Analyses

Le cobalt en solution est dosé par spectrométrie d'absorption atomique (S.A.A) sur du surnageant de centrifugation de la biopulpe.

Les micro-organismes en solution sont dénombrés sur cellule de Thoma au microscope optique (x400).

Calculs

Vitesse de mise en solution du cobalt : elle est déterminée en batch dans la phase d'accroissement linéaire de la courbe de concentration du cobalt en fonction du temps. La pente obtenue par régression linéaire effectuée sur les points expérimentaux fournit la vitesse de mise en solution maximale du cobalt.

Taux d'extraction du cobalt : Il est calculé en fin de batch lorsque la concentration en cobalt n'augmente plus.

$$\text{Rendement} = (Co_{lf} - Co_{li}) / Co_{si}$$

Co_{lf} = masse de cobalt finale dans la phase liquide

Co_{li} = masse de cobalt initiale dans la phase liquide (apportée par l'inoculum)

Co_{si} = masse de cobalt apportée par le solide

(avec le concentré neuf non attaqué + avec l'inoculum)

III.2.3. Résultats et Discussion

III.2.3.1 Expériences standards

Nous avons réunis dans le tableau 3, l'ensemble des résultats obtenus lors des cultures effectuées avec les lots n°1 et n°2.

Pour le lot n°1, nous avons utilisé les résultats des 10 cultures effectuées lors de notre première expérience et ceux extraits des travaux de F. Battaglia (1994). La moyenne et l'intervalle de confiance de la vitesse de mise en solution du cobalt prend en compte 30 essais témoins.

Pour le lot n°2, nous avons synthétisé les données obtenues avec les cultures témoins utilisées au cours des expérimentations sur l'influence de la température. Ces données représentent 15 tubes air lift.

tableau 3 : Résultats des cultures standards en fonction du lot de pyrite cobaltifère.

paramètres	Lot n°1 = PCO1	lot n°2 = PCO2
vitesse Co en solution IC*	6,08 mg/l.h +/- 1,63 mg/l.h	8,9 mg/l.h +/- 1,14 mg/l.h
Rendt extraction Co IC*	57 % -	82 % +/- 7 %
Bactéries en fin de batch IC*	4,3.10 ⁹ bact/ml -	4,9.10 ⁹ bact/ml +/- 1,2.10 ⁹

* Les intervalles de confiance (IC*) sont calculés à l'aide du t de Student au risque consenti de 5%.

Comme on peut le voir, les performances de mise en solution du cobalt obtenues sur le lot n°2 sont nettement supérieures à celles obtenues sur le lot n°1. Au niveau de la vitesse de mise en solution, la valeur maximale autour de la moyenne du lot n°1 (7.71 mg/l.h) reste inférieure à la valeur minimale du lot n°2 (7.76 mg/l.h).

Nous avons comparé les vitesses obtenues sur les 2 lots par le test statistique du " t de Student". Il permet de rejeter l'homogénéité des vitesses (de PCO1/PCO2). La différence entre PCO1 et PCO2 est statistiquement significative au risque admis de 1 ‰. L'utilisation du lot n°2 permet un gain de l'ordre de 30 % sur la vitesse de mise en solution du cobalt. On retrouve ce gain de l'ordre de 30 % sur les rendements d'extraction. Or, la teneur initiale en cobalt dans le minerai du lot n°2 n'est supérieure que de 9 % à celle du lot n°1. Cette différence ne suffit donc pas à expliquer le phénomène observé.

Au regard du nombre de bactéries obtenues en fin de croissance et du profil de la phase "exponentielle" de croissance de la population mixte (figures 1 et 2). Il semble que l'on ne puisse pas attribuer à une meilleure croissance bactérienne (en solution) ce gain sur les performances de biolixiviation.

figure 1 : Evolution des bactéries sur le lot de pyrite n°2 (sur 3 tubes).

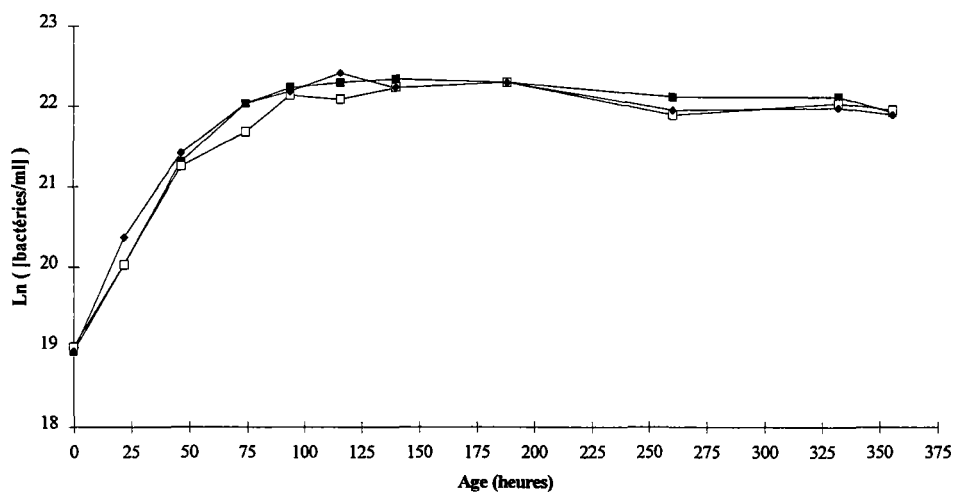
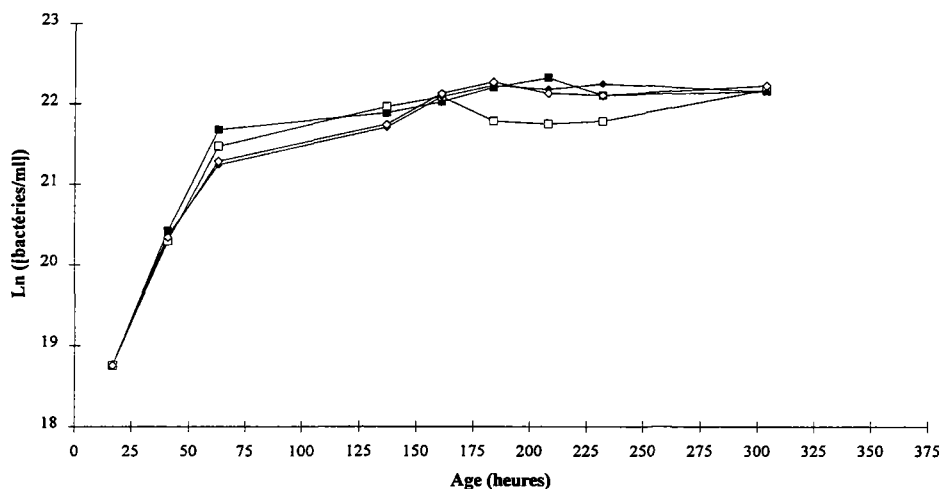


figure 2 : Evolution des bactéries sur le lot de pyrite n°1 (sur 4 tubes).



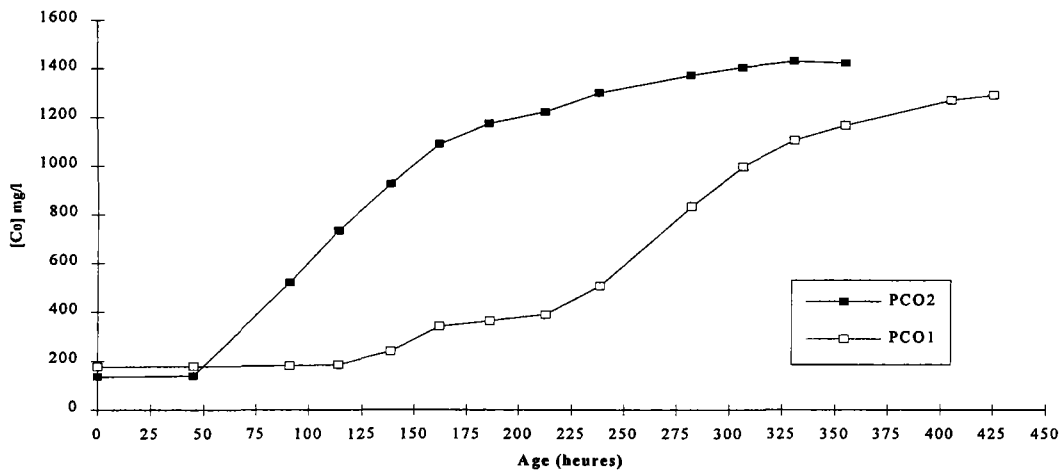
Les caractéristiques granulométriques des 2 lots sont très proches. Les travaux de F. Battaglia (1994) sur les relations entre la granulométrie, la surface spécifique de pyrite et les vitesses de mise en solution nous permettent d'écartier l'influence d'une si faible différence granulométrique sur les performances de biolixiviation.

A l'heure actuelle, nous pouvons émettre 2 hypothèses pour tenter d'expliquer le phénomène.

La première hypothèse repose sur un possible état de surface différent des 2 minerais dû à leur pré traitement mécanique différent. On pourrait penser que l'oxydation plus rapide de la pyrite n°2 est provoquée par une meilleure adhésion bactérienne qui favoriserait les phénomènes d'oxydation directe. Dans ce cas, bien que leur profil en solution soit identique, le nombre de bactéries mis en jeu lors de la biolixiviation de PCO2 serait plus important et expliquerait ce gain en vitesse et en rendement d'extraction. Cependant, les théories sur l'adhésion des bactéries à la surface du minerai et l'existence réelle d'un phénomène d'oxydation directe sont très controversées. Une étude bibliographique méticuleuse s'impose avant d'envisager cette première hypothèse comme probable.

On peut penser en deuxième hypothèse que le minerai PCO1 contient en concentration plus importante que PCO2, une substance chimique qui joue un rôle partiellement inhibiteur du processus d'oxydation. Cette hypothèse repose sur une expérience standard où on a réalisé en parallèle la biolixiviation sur PCO1 et PCO2 à partir d'un inoculum provenant d'une culture sur PCO2. Comme on peut le voir sur la figure 3, la phase de latence sur PCO1 est nettement prolongée et la phase de mise en solution rapide est précédée d'une phase plus lente suivie d'un plateau. Cette mise en solution en 3 temps pourrait correspondre à une adaptation des bactéries à des conditions de culture moins favorables. Le même profil est d'ailleurs observé pour le développement bactérien sur PCO1. Il faut noter que les vitesses maximales de mise en solution du cobalt correspondent aux valeurs respectives des 2 lots. L'idée de l'existence d'une substance chimique partiellement inhibitrice dans PCO1 est renforcée par le fait que ce comportement n'avait pas été observé lors du transfert des cultures de PCO1 sur PCO2.

figure 3 : Libération du cobalt sur PCO2/PCO1. Inoculum cultivé sur PCO2.



Cette hypothèse n'exclut cependant pas la première qui pourrait aussi générer un tel phénomène d'adaptation.

En conclusion, nous pouvons tout d'abord noter l'importance de la variabilité des comportements expérimentaux observés dans les processus de biolixiviation au sein d'un même lot de minerai (intervalle de confiance important) et au sein d'un même minerai (PCO1/PCO2). C'est pourquoi toute approche comparative générale des processus de biolixiviation est très délicate et à utiliser avec précaution. Au niveau de la pyrite cobaltifère, il faut noter l'importance des témoins expérimentaux qui servent de référence à toute interprétation. Une étude plus approfondie des paramètres pouvant expliquer les différences de comportement entre les 2 lots de pyrite n'est expérimentalement pas encore envisagée.

III.2.3.2 Adaptation progressive à la température

Une adaptation progressive à la température a été réalisée depuis 37°C. L'ensemble des résultats sont réunis dans le tableau 4 et les figures 4, 5 et 6.

tableau 4 : Influence d'une adaptation progressive à la température sur les performances de biolixiviation en fonction des résultats standards (35°C).

V_{Co} = vitesse de mise en solution du cobalt.

%Co = taux d'extraction du cobalt.

Bact = concentration bactérienne en fin de culture (phase stationnaire).

T° (°C)	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
VCo(T°) / VCo(35)	1,11	1,14	0,91	1,22	1,15	-	0,9	1,02	-	0,97	0,70	0,14
%Co(T°) / %Co(35)	1,03	0,95	1,02	1,11	0,96	-	0,85	-	-	0,67	0,62	0,24
Bact(T°) / Bact(35)	0,99	0,99	0,73	0,68	0,64	0,64	0,64	0,5	-	0,51	0,41	0,08

Une augmentation du temps de latence était observée à partir de 40°C par F. Battaglia (1994) à partir de 40 °C. On retrouve ce phénomène à 46°C (figure7), 47°C et 48°C. Le développement bactérien y est extrêmement lent. On note cependant à 48°C que cette phase correspond à une mise en solution lente mais non négligeable du cobalt. On peut attribuer ce phénomène au rôle stimulateur de la température sur l'oxydation chimique, dont Brierley et Brierley (1978) avaient déjà fait état.

figure 4 : Influence de l'adaptation de température sur la vitesse de libération du cobalt en fonction des résultats standards (35°C).

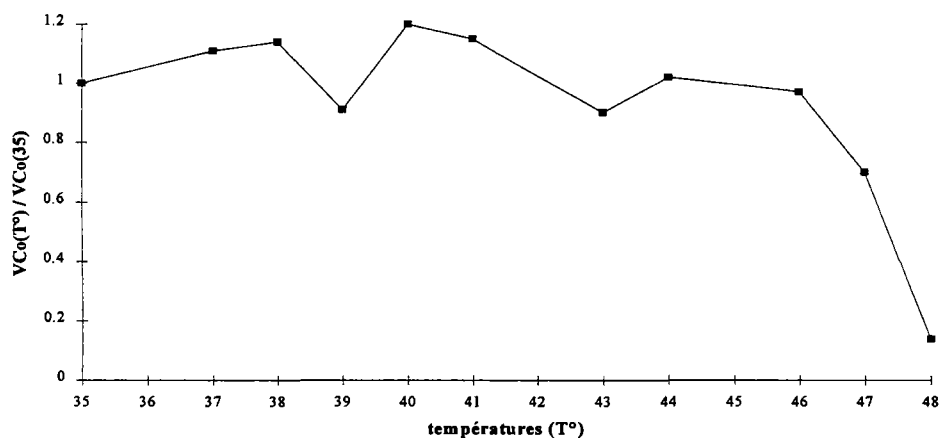


figure 5 : Influence de l'adaptation de température sur le taux d'extraction du cobalt en fonction des résultats standards (35°C).

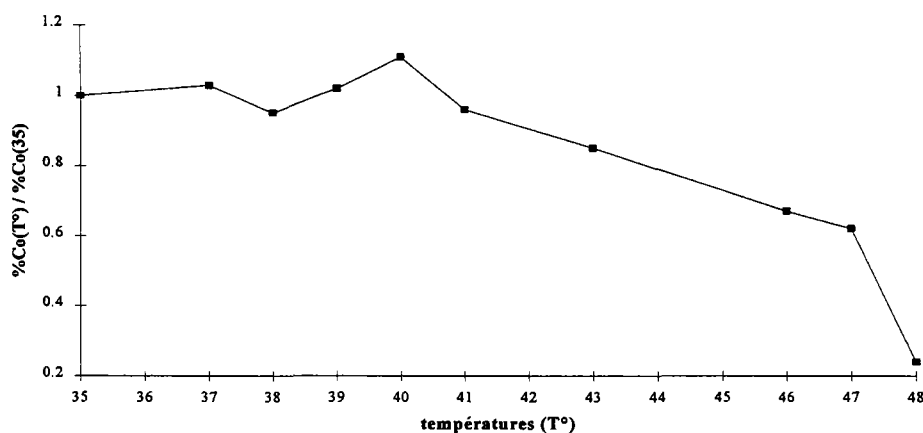
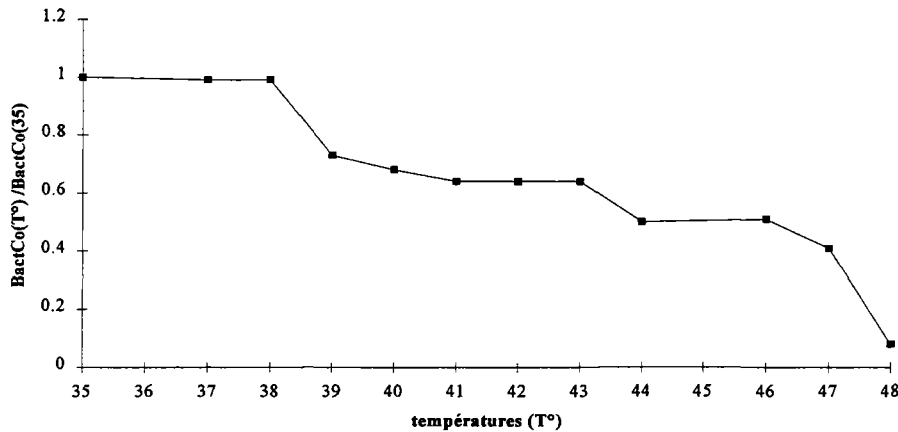


figure 6 : Influence de l'adaptation de température sur la concentration bactérienne en fin de batch en fonction des résultats standards (35°C).



Entre 35°C et 46°C, la température ne semble pas influencer la vitesse de libération du cobalt. On observe ensuite, entre 46°C et 48°C, une chute extrêmement rapide de ce paramètre.

Le rendement d'extraction est affecté par la température dès 43°C. Il diminue lentement entre 41°C et 47°C, puis chute très rapidement à 48°C.

La croissance bactérienne est affectée à partir de 39°C. Après avoir chuté très fortement entre 38°C et 39°C (30 %), le nombre de bactéries finales diminue très lentement jusqu'à 47°C. A 48°C, le développement bactérien est quasiment totalement inhibé.

Il est difficile d'expliquer l'absence de corrélation entre la chute du nombre de bactéries dès 39°C, la diminution du rendement d'extraction à partir de 43°C et l'obtention d'une vitesse de mise en solution identique à celle du standard jusqu'à 46°C. Plusieurs hypothèses sont envisagées.

Ce phénomène pourrait être lié à la disparition d'une des espèces constituant la population mixte à 35°C, ou bien à une diminution du rendement cellulaire sur pyrite, ou enfin à une moins bonne assimilation du CO₂ dont la solubilité diminue avec l'augmentation de la température. Dans ces cas-là, il faudrait admettre que les souches résistantes sélectionnées auraient des capacités oxydantes plus importantes que celles des témoins pour maintenir jusqu'à 46°C une vitesse d'extraction équivalente.

Ce phénomène pourrait également résulter d'une augmentation du taux de lyse cellulaire en fin de croissance. Jusqu'à 46°C, les bactéries sélectionnées auraient des capacités oxydatives et une phase de croissance proches de celles des bactéries témoins, mais leur phase de ralentissement serait d'autant plus précoce et leur phase stationnaire d'autant plus courte que la température augmente. Ceci expliquerait l'obtention d'une concentration bactérienne finale plus faible et la diminution du rendement d'extraction tout en conservant une vitesse d'oxydation semblable à celle du témoin jusqu'à 46°C. En effet, bien que plus lente, l'extraction du cobalt se poursuit dans les tubes témoins de manière tout à fait notable après la phase de croissance (figures 7 et 8).

Les résultats du dénombrement bactérien à 46°C (figure 8) montrent que la phase de croissance optimale (175 h - 225 h) est plus courte que celle du témoin (0 - 75 h), la phase de ralentissement par conséquent plus précoce et la phase stationnaire quasiment inexistante.

Cette deuxième hypothèse semble donc la plus probable. Elle n'exclut pas la disparition d'une des espèces de la population mixte initiale mais uniquement l'influence prépondérante de

cette disparition sur l'absence de corrélation dans la diminution des 3 paramètres décrits (vitesse, rendement et bactéries finales).

figure 7 : Mise en solution du cobalt à 35°C (population témoin) et 46°C (population adaptée).

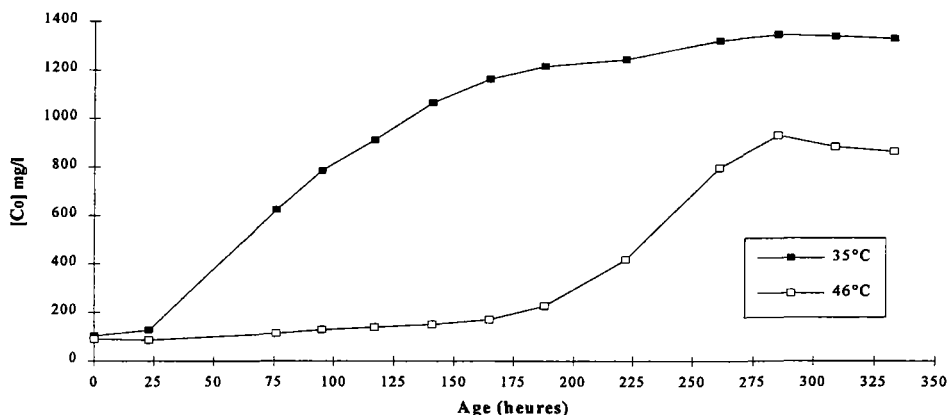
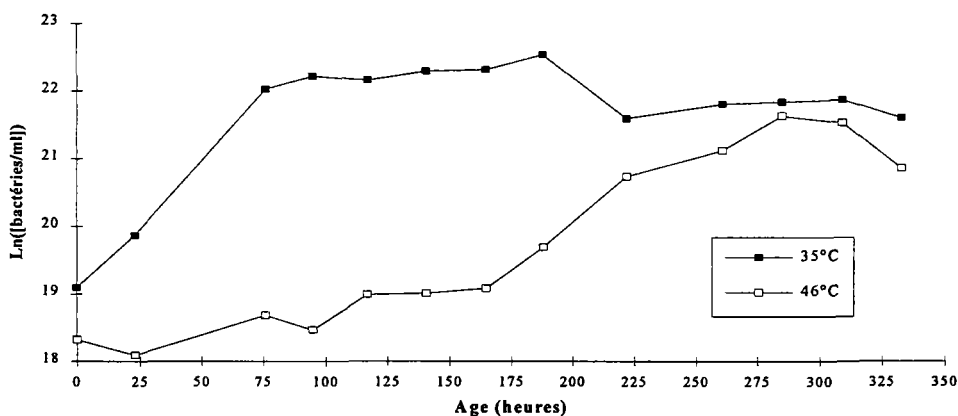


figure 8 : Evolution des bactéries témoins à 35°C et des bactéries adaptées à 46°C.



En conclusion, nous pouvons dire que les repiquages successifs à température croissante ont probablement permis de sélectionner les souches bactériennes les plus résistantes à la chaleur parmi l'ensemble des souches constituant la population mixte. Les populations adaptées entre 37°C et 46°C sont capables de réaliser la biolixiviation avec d'excellentes performances à leur température respective de sélection.

III.2.3.3 Chocs de température

* Bactéries adaptées à 46°C - cultivées à 35°C

Nous avons comparé, le comportement des 2 populations mixtes, adaptée à 46°C et non adaptée (témoin), lors d'une culture à 35°C. Comme nous pouvons le voir dans le tableau 5 et la figure 9, les 2 cultures présentent des comportements similaires.

figure 9 : Mise en solution du cobalt à 35°C par la population mixte adaptée à 46°C et par une population témoin (35°C). (expérience 2).

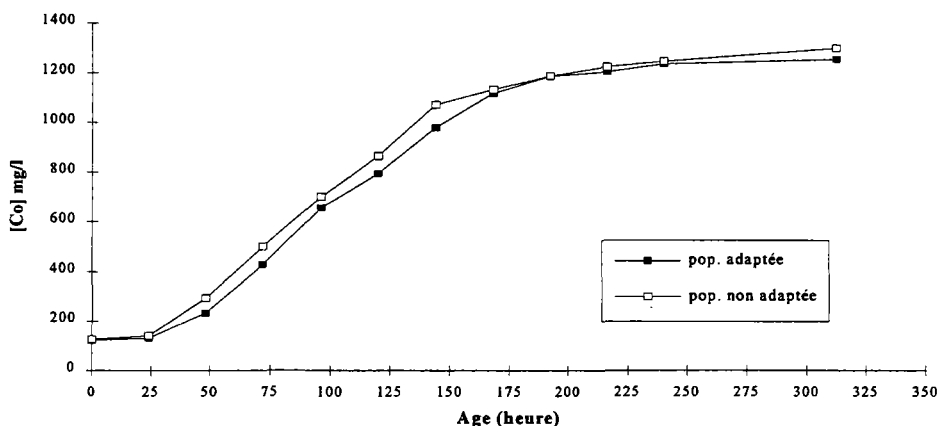


tableau 5 : Activité biolixivante de la population mixte adaptée à 46°C lorsqu'elle est cultivée à 35°C (en fonction des résultats du standard).

	Vitesse Co	rendt Co	Bact
pop.adaptée / témoin	1	0,95	1,2

Lorsqu'elle est à nouveau cultivée à 35°C (4ème repiquage), la population mixte adaptée à 46°C retrouve et conserve les capacités oxydatives de la population mixte initiale (non adaptée). Il n'y a pas amélioration de ces capacités.

*** Remontée brutale en température**

La population mixte adaptée à 46°C, après 2 cultures à 35°C, est cultivée à nouveau à 46°C (expérience 1). Les résultats obtenus sont comparés dans le tableau 6 à une culture à 35°C de cette même population qui présente, à 35°C, des caractéristiques semblables à celles de la population mixte non adaptée (tableau 5).

tableau 6 : Activité biolixivante de la population mixte adaptée à 46°C lorsqu'elle est cultivée à 46°C après 2 repiquages à 35°C (en fonction des résultats à 35°C de cette même population)

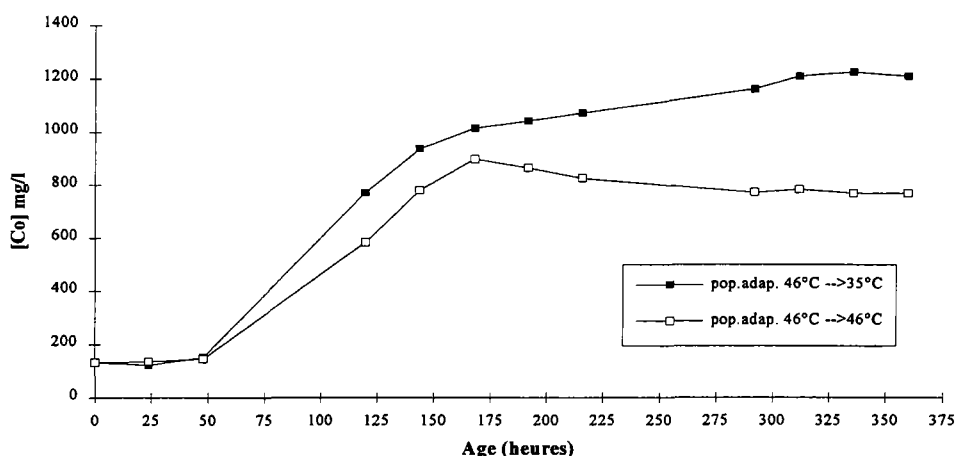
	Vitesse Co	rendt Co	Bact
pop.adap. (35-->46) / pop.adap. (35-->35)	0,86	0,69	0,43

La vitesse de mise en solution semble légèrement affectée par la montée de la température. Cependant compte tenu de l'imprécision expérimentale, les valeurs obtenues lors de cette expérience sont tout à fait comparables à celles obtenues à 46°C lors des expériences d'adaptation progressive (tableau 4).

Après plusieurs cultures à 35°C, la population mixte adaptée à 46°C conserve sa capacité à biolixivier la pyrite à 46°C, avec les mêmes performances que lorsqu'elle fut adaptée progressivement à cette température. De plus, malgré le choc important de température, le

démarrage de la culture est extrêmement rapide. La phase de latence est < à 2 jours (figure 10). Lors des expériences d'adaptation progressive à 46°C, le passage d'une température de culture de 45°C à 46°C avait entraîné une phase de latence de 7 jours (figure 7). On peut aussi noter que la culture à 35°C de cette population adaptée (figure 10) présente des performances semblables à celles des témoins non adaptés comme nous l'avions signalé plus haut (figure 9).

figure 10 : Mise en solution du cobalt par une population adaptée à 46°C et cultivée à 46°C et à 35°C (après un double repiquage à 35°C).

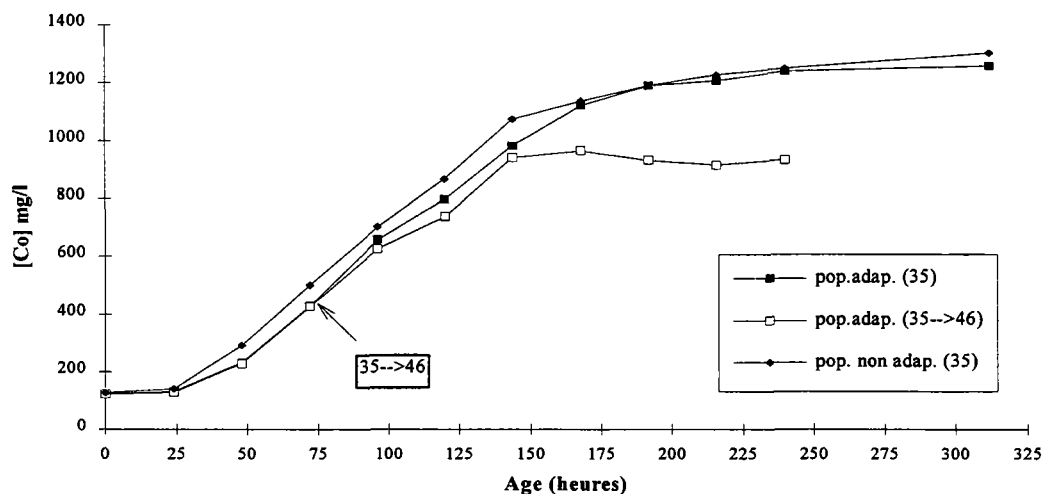


La population mixte adaptée à 46°C a donc acquis et conservé une aptitude à résister à une température de culture de 46°C.

* Choc de température en cours de croissance

La population mixte adaptée à 46°C (inoculum cultivé à 35°C) est cultivée à 35°C en début de batch, puis la température est brutalement augmentée à 46°C pendant la phase de mise en solution maximale du cobalt. Le résultat de mise en solution du cobalt obtenu au cours de cette expérience est montré figure 11, par rapport à 2 cultures témoins à 35°C, l'une avec la population adaptée, l'autre avec la population non adaptée.

figure 11 : Mise en solution du cobalt par la population mixte adaptée à 46°C lorsqu'elle subit un choc thermique (35°-->46°) en cours de croissance.



Nous avons comparé les vitesses de mise en solution du cobalt avant et après le choc thermique. La vitesse après le choc thermique représente 87 % de la vitesse obtenue avant le choc thermique. Il semble donc que celui-ci perturbe très légèrement la population adaptée lorsqu'il intervient en cours de croissance.

Le rendement final d'extraction du cobalt rapporté aux rendements standards à 35°C (pop. adaptée et non adaptée) est compris entre 0.72 et 0.76. La vitesse de mise en solution maximale moyenne est calculée en considérant les résultats obtenus avant et après le choc thermique. Le rapport entre cette vitesse et les vitesses standards à 35°C est de 0.93. Ces résultats, résumés dans le tableau 7, sont comparables à ceux obtenus avec la population mixte adaptée lors des 2 autres expériences de culture à 46°C ; à savoir, l'expérience d'adaptation progressive (tableau 4) et l'expérience de montée à 46°C en début de culture après 2 repiquages à 35°C (tableau 6).

tableau 7 : Activité biolixivante de la population mixte adaptée à 46°C lorsqu'elle subit un choc thermique en cours de croissance (en fonction des résultats standards).

	Vitesse Co	rendt Co
pop.adap. (35-->46) / témoins (35-->35)	0,93	0,73 - 0,76

La population mixte adaptée à 46°C semble bien résister à un choc thermique en cours de croissance.

III.2.4. Conclusion sur l'adaptation de la population mixte à la température

La population mixte adaptée progressivement est capable de réaliser la biolixiviation jusqu'à 46°C avec des performances comparables à celles obtenues à 35°C. Il semble que l'effet de la température sur la population adaptée se traduise (entre 39°C et 46°C) essentiellement par une augmentation du taux de lyse cellulaire, des bactéries sélectionnées, en fin de croissance. En phase de croissance, jusqu'à 46°C les performances des micro-organismes sélectionnés sont comparables à celles du témoin (population non adaptée) ; ce qui est très intéressant dans l'optique du fonctionnement d'un procédé de biolixiviation en continu.

Cultivée à 35°C, cette population retrouve et conserve les capacités oxydatives de la population mixte initiale. Si elle subit alors un choc de température (montée brutale à 46°C), en début ou en cours de croissance, elle se comporte à nouveau comme lors de son adaptation progressive à 46°C. Il y a donc bien eu modification de la population mixte initiale (physiologique ou bactérienne) et acquisition d'une résistance à la chaleur.

Dans l'avenir, on envisage tout d'abord de confirmer ces observations faites sur le comportement d'une population mixte adaptée (41°C - 46°C) lors d'un choc de température. On pourra, de plus, tester l'effet de ces chocs thermiques en cours de croissance, non plus lorsqu'on augmente brutalement la température mais lorsqu'on redescend brutalement à 35°C, depuis la température d'adaptation. Ceci devrait permettre de conclure sur l'influence de la température élevée dans la lyse cellulaire des bactéries en fin de croissance.

De plus, il est prévu d'essayer d'isoler par espèces (*T.ferrooxidans*, *T.thiooxidans* et *L.ferrooxidans*) les souches thermophiles modérées. Dans un premier temps on pourra ainsi vérifier la disparition éventuelle de l'une d'entre elles. Dans un deuxième temps, on essaiera de les comparer à celles de la population mixte initiale (elles aussi isolées) et aux souches types de collection. Ce projet est basé sur l'utilisation d'une nouvelle technique d'hybridation de l'ADN.

Il est envisagé avec la collaboration de l'ORSTOM-Marseille. Il devrait permettre de savoir si les bactéries thermophiles modérées sélectionnées sont issues d'une adaptation génétique et physiologique des bactéries initiales ou bien de l'émergence de nouvelles souches, voir même de nouvelles espèces (apportées avec le minéral).

PARTIE IV : ANALYSE DES GAZ

IV.1. Introduction

L'analyse des gaz effluents (oxygène - gaz carbonique) d'un bioréacteur permet :

- d'obtenir en ligne des indications sur le métabolisme des micro-organismes mis en jeu,
- de calculer le coefficient de transfert volumétrique de l'oxygène (k_{la}) en condition réelles de culture,
- d'établir le bilan réactionnel des transformations chimiques et biochimiques.

Dans le domaine de la biohydrométallurgie, cette technique analytique est très peu utilisée à l'heure actuelle.

Les mesures du k_{la} des bioréacteurs, qui permet d'évaluer ses capacités à transférer l'oxygène, s'effectuent généralement :

- par la méthode au sulfite "à froid", c'est à dire dans des conditions chimiques et biochimiques différentes des conditions de culture,
- par la méthode dynamique de Humphrey qui permet une approche dans les conditions de culture mais en perturbant le procédé,
- par l'utilisation de modèles mathématiques plus ou moins empiriques prenant en compte la géométrie des réacteurs et les caractéristiques physiques du milieu de culture.

Les cinétiques de consommation de l'oxygène (OUR = Oxygen Uptake Rate) et du gaz carbonique (CUR = Carbon-dioxide Uptake Rate) sont souvent évaluées par l'utilisation d'équations théoriques d'oxydations (bio)chimiques ou de croissance microbienne. L'OUR est parfois obtenu lors des mesures du k_{la} par la méthode dynamique.

Pour évaluer l'OUR, le CUR et le k_{la} en ligne sur le procédé de biolixiviation en continu, nous avons choisi, au BRGM, d'utiliser la méthode des bilans gazeux . En effet, cette approche, bien que plus délicate à manipuler, est considérée en biotechnologie comme la plus performante.

Nous présentons dans ce chapitre, la mise en oeuvre de l'analyse des gaz tel que nous l'avons envisagé et les objectifs expérimentaux que nous nous sommes fixés.

IV.2. Mise en oeuvre de l'analyse des gaz

IV.2.1 Appareillage

Les concentrations en oxygène et en gaz carbonique sont mesurées dans les gaz

entrants et les gaz sortants des réacteurs de biolixiviation à l'aide de 2 analyseurs de la série ADC 7000 (Analytical Development Company limited). L'analyse des gaz entrants est rendue nécessaire par l'utilisation d'air enrichie en gaz carbonique qui permet de favoriser le métabolisme autotrophe des bactéries biolixiviantes.

Le principe de détection de l'analyseur d'oxygène repose sur les propriétés paramagnétiques de cette molécule. L'absorption spécifique dans l'Infra-Rouge des gaz hétéroatomiques permet la mesure du gaz carbonique.

La tension en oxygène dissous dans la biopulpe est mesurée à l'aide d'une sonde polarographique (Orbisphère laboratories).

IV.2.2 Traitement de l'échantillon gazeux

L'échantillon de gaz, prélevé en sortie de réacteur, est chargé en vapeur d'eau. Préalablement à son analyse, il devra être séché car la vapeur d'eau provoque des interférences spectrales sur la mesure du CO₂. De plus, un phénomène de condensation important au niveau des cellules de mesure provoquerait leur détérioration. Le traitement de l'échantillon gazeux vise également à éviter tout entraînement de corps solides ou liquides (mousses, poussières,...) qui sont susceptibles d'endommager gravement les appareils de mesures. C'est pourquoi, nous avons équipé notre circuit d'analyse des gaz de diverses protections (figure 12) .

- Les fioles de garde en sortie de réacteur évitent l'entraînement, vers les appareils, de particules solides grossières ou de liquide.

- Le piège à froid permet la déshydratation des gaz grâce à l'effet Peltier. La température des gaz est ajustée à un point de rosée compris entre +2°C et +5°C.

- Le filtre hydrophobe 0.22 µm permet de conserver la propreté du circuit d'alimentation de l'analyseur.

IV.2.3 Installation de l'analyse des gaz sur les 2 unités de biolixiviation en continu

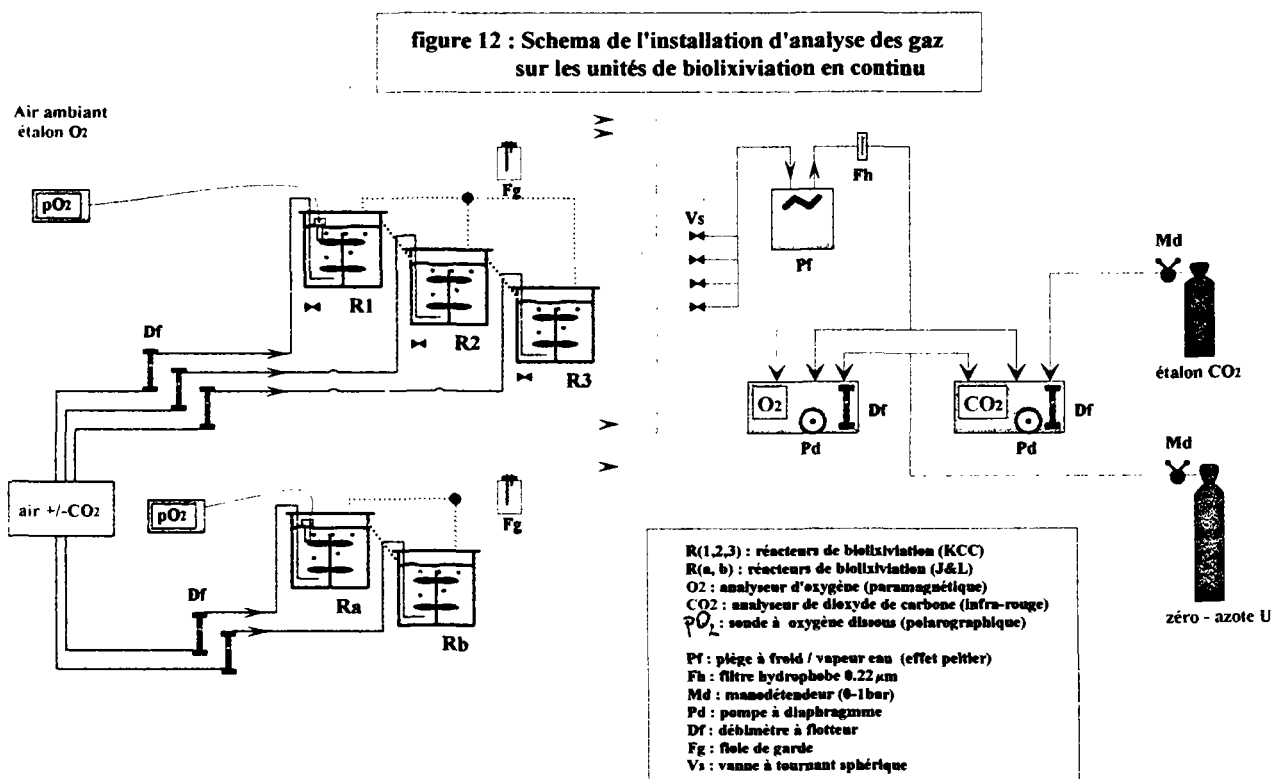
La figure 12 décrit cette installation.

Nous avons équipé pour l'analyse des gaz les 2 unités de biolixiviation pilote du laboratoire.

- La première est constituée de 3 réacteurs agités et aérés de 20 litres utiles disposés en cascade. Elle permet l'étude de l'extraction du cobalt d'un concentré de pyrite (KCC). Cette pyrite cobaltifère a fait l'objet de nos travaux en tube air lift présentés auparavant.

- La deuxième mise en oeuvre sur le même principe ne comprend que 2 réacteurs (20 litres utiles). Elle est utilisée pour tester la biolixiviation d'un minerai aurifère arsénopyriteux (J&L). L'inoculum bactérien est identique à celui utilisée pour la pyrite cobaltifère. Cette unité

nous permettra de compléter, en fonction du substrat sulfuré utilisé nos études des bilans gazeux.



IV.3. Objectifs de l'analyse des gaz

La mise en place technique de l'analyse des gaz est achevée. Les premiers essais ont été effectués. Ils ont permis de vérifier la fiabilité des mesures et l'efficacité des systèmes de protection des appareils.

L'utilisation du bilan gazeux sur les procédés de biolixiviation en continu a 2 objectifs.

1- Evaluer les consommations d'O₂ et de CO₂ par les micro-organismes.

On étudiera les cinétiques de consommation d'oxygène (OUR) et de gaz carbonique (CUR) en temps réel. Ces études favoriseront la connaissance des besoins physiologiques en O₂ et CO₂ de la population mixte en fonction des conditions de culture. De plus, elles permettront d'affiner le bilan réactionnel des transformations chimiques et biochimiques.

2- Etude des kla.

La méthode du bilan gazeux permettra de suivre en temps réel l'évolution du kla. On pourra ainsi évaluer l'influence des paramètres de culture (agitation et aération) sur le kla et les éventuelles limitations d'activité que cela provoque.

Le projet mis en place prévoit de tester, à différents débits d'air, l'influence de différents mobiles d'agitation (à débit radial, à débit axial ou équipages mixtes) sur les kla et les performances de la biolixiviation. Les mesures de kla effectuées par l'analyse des gaz seront ensuite corrélées à 2 autres méthodes de mesure que l'on aura aussi mis en oeuvre : la méthode dynamique de Humphrey et la méthode au sulfite.

Références bibliographiques

Barret J., Hugues M.N., Karavaïko G.I. and Spencer P.A. (1993) " Metal extraction by bacterial oxidation of minerals", Ellis Horwood Series in Inorganic Chemistry, England, 191 p.

Battaglia F. (1994) Optimisation de la lixiviation bactérienne d'un concentré de pyrite cobaltifère. Thèse de doctorat, Université de Provence, Marseille.

Brierley J.A. (1978) Thermophilic iron-oxidizing bacteria found in copper leaching dumps. Appl. Environ. Microbiol. 36, pp 523-525.

Brierley J.A. (1980) Facultative-thermophilic *Thiobacillus*-like bacteria in metal leaching. In "Biogeochemistry of Ancient and Modern Environments" (Eds. Trundinger P.A., Walter M.R. and Ralph B.J.), Australian Academy of Science, Canberra, pp 445-450.

Brierley C.L. and Brierley J.A. (1973) A chemoautotrophic and thermophilic microorganism isolated from an acid hot spring. Can. J. Microbiol. 19, pp 183-188.

Brierley J.A. and Brierley C.L. (1978) Microbial leaching of copper at ambient and elevated temperatures. In "Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena", (Eds. Murr L.E., Torma A.E. and Brierley J.A.), Academic Press, New York, pp 477-490.

Brierley J.A. and Lockwood S.V. (1977) The occurrence of thermophilic iron-oxidizing bacteria in a copper leaching system. FEMS. Lett. 2, pp 163-165.

Brock T.D., Brock K.M., Belly R.T. and Weiss R.L. (1972) *Sulfolobus* : a new genus of sulfur oxidizing bacteria living at low pH and high temperature. Arch. Microbiol. 84, pp 54-68.

Budden R.J. and Spencer P.A. (1993) Tolerance to temperature and water quality for bacterial

oxidation : The benefits of Bac Tech's moderately thermophilic culture. FEMS Microbiol. reviews, 11, Elsevier, pp 191-196.

Collinet-Latit M.N. (1989) Lixiviation bactérienne par *Thiobacillus ferrooxidans* et *Thiobacillus thiooxidans* d'un concentré de flottation arsénopyriteux aurifère (réfractaire à la cyanuration directe). Thèse de doctorat, Université de Provence, Marseille.

Flierman C.B. and Brock T.D. (1972) Ecology of sulfur-oxidizing bacteria in hot acid soils. J. Bacteriol., 111, pp 343-350.

Hughes M.N. and Poole R.K. (1989) "Metals and Micro-organisms". Chapman and Hall , London, 412 p.

Ismay A., Rosato L. and McKinnon D. (1986) Engineering prefaisability for in-place bacterial leaching of copper. In "Fundamental and Applied Biohydrometallurgy", Proceedings of The Sixth International Symposium on Biohydrometallurgy, Vancouver, Canada, 1985, (Eds. Lawrence R.W., Branion R.M.R. and Ebner H.G.), Elsevier, pp 191-213.

Karavaïko G.I., Golovacheva R.S., Pivovarova T.A., Tzaplina I.A. and Vartanjan N.S. (1988) Thermophilic bacteria of the genus *Sulfobacillus*. In "Biohydrometallurgy", Proceedings of the International Symposium, Warwick, U.K, 1987, (Eds. Norris P.R. and Kelly D.P.), Science and Technology Letters, pp 29-42.

Karavaïko G.I., Golovacheva R.S., Golishina O.V., Valiejo-Roman K.M., Bobrova V.K., Troitsky A.V. and Pivovarova T.A. (1993) *Sulfurococcus*- a new genus of thermoacidophilic archaeobacteria oxidizing sulfur, ferrous iron and sulfide minerals. In "Biohydrometallurgical Technologies, vol I", Proceedings of an International Biohydrometallurgy Symposium, Jackson Hole, Wyoming, USA, (Eds. Torma A.E., Wey J.E. and Lakshmanan V.I.), The Minerals, Metals & Materials Society, pp 685-694.

Kargi F. and Robinson J.M. (1985) Biological removal of pyritic sulfur from coal by thermophilic organism *Sulfolobus acidocaldarius*. Biotechnol. Bioeng., 27, pp 41-49.

Lawrence R.W. and Marchant P.B. (1988) Comparison of mesophilic and thermophilic oxidation systems for the treatment of refractory gold ores and concentrate. In "Biohydrometallurgy", Proceedings of the International Symposium, Warwick, U.K, 1987, (Eds. Norris P.R. and Kelly D.P.), Science and Technology Letters, pp 359-374.

Le Roux N.W. and Wakerley D.S. (1980) The leaching of sulfide ores by a thermophilic Bacterium. In "Biogeochemistry of Ancient and Modern Environments" (Eds. Trundinger P.A., Walter M.R. and Ralph B.J.), Australian Academy of Science, Canberra, pp 451-457.

Le Roux N.W. and Wakerley D.S. (1988) Leaching of chalcopyrite (CuFeS₂) at 70°C using *Sulfolobus*. In "Biohydrometallurgy", Proceedings of the International Symposium, Warwick, U.K, 1987, (Eds. Norris P.R. and Kelly D.P.), Science and Technology Letters, pp 305-317.

Le Roux N.W., Wakerley D.S. and Hunt S.D. (1977) Thermophilic *Thiobacillus*-type bacteria from Icelandic thermal area. J. Gen. Microbiol., 100, pp 197-201.

Marsh R.M. and Norris P.R. (1983) The isolation of some thermophilic, autotrophic, iron and sulfur oxidizing bacteria. FEMS Microbiol. Lett., 17, pp 311-315.

Marsh R.M. and Norris P.R. (1983) Mineral sulphide oxidation by moderately thermophilic

acidophilic bacteria. *Biotechnol. lett.*, 5, pp 585-590.

Marsh R.M., Norris P.R. and Le Roux N.W. (1983) Growth and mineral oxidation studies with *Sulfolobus*. In "Recent Progress in Biohydrometallurgy", (Eds. Rossi G. and Torma A.E.), Associazione Mineraria Sarda, 09016 Iglesias, Italy, pp 71-81.

Murr L.E. and Brierley J.A. (1978) The use of large scale test facilities in studies of the role of microorganisms in commercial leaching operations. In "Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena", (Eds. Murr L.E., Torma A.E. and Brierley J.A.), Academic Press, New York, pp 491-520.

Ngubane W.T. and Baecker A.A.W. (1988). Thermophilic pyrite leaching by *Sulfolobus brierleyi*. In "Biohydrometallurgy", Proceedings of the International Symposium, Warwick, U.K, 1987, (Eds. Norris P.R. and Kelly D.P.), Science and Technology Letters, pp 528-529.

Nobar A.M., Ewart D.K., Alsaffar L., Barrett J., Hughes M.N. and Poole R.K. (1988) Isolation and characterisation of a mixed microbial community from an Australian Mine. Application to the leaching of gold from refractory ores. In "Biohydrometallurgy", Proceedings of the International Symposium, Warwick, U.K, 1987, (Eds. Norris P.R. and Kelly D.P.), Science and Technology Letters, pp 530-531.

Norris P.R. and Parrott L. (1986) High temperature mineral concentrate dissolution with *Sulfolobus*. In "Fundamental and Applied Biohydrometallurgy", Proceedings of The Sixth International Symposium on Biohydrometallurgy, Vancouver, Canada, 1985, (Eds. Lawrence R.W., Branion R.M.R. and Ebner H.G.), Elsevier, pp 355-365.

Norris P.R., Parrott L. and Marsh R.M. (1986) Moderately thermophilic mineral oxidizing bacteria. In "Workshop on Biotechnology for the Mining, Metal-refining and Fossil Fuel Processing Industries", Proceedings of a Biotechnology and Bioengineering Symposium, (Eds. Ehrlich H.L. and Holmes D.S.), Wiley, New-York, pp 253-262.

Pivovarova T.A. and Golovacheva R.S. (1985) Microorganisms important for hydrometallurgy : cytology, physiology and biochemistry. In "Biogeotechnology of Metals", Proceedings of International Seminar and international Training Course, Moscow-Sofia, 1982 (Eds. Karavaïko G.I. and Groudev S.N.), Centre of International Projects GKNT, Moscow, pp 27-55.

Seegerer A., Neuner A., Kristjansson J.K. and Stetter K.O. (1986) *Acidianus infernus* gen. nov. sp. nov. and *Acidianus brierleyi* comb. nov. : facultatively aerobic, extremely acidophilic thermophilic sulfur-metabolizing archaeobacteria. *Internat. J. System. Bacteriol.*, 36, pp 559-564.

Silverman M.P. and Lundgren D.G. (1959) Studies on the chemo-autotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans* : I. an improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. *J. Bacteriol.*, 77, pp 642-647.

Spencer P.A. and Budden J.R. (1990) Metallurgical considerations in the design of a bio-oxidation plant : a case study for a refractory arsenopyrite concentrate. In "EPD Congress '90", (Ed. Gaskell D.R.), Minerals, Metals & Materials Society, pp 295-303.

Spencer P.A., Budden J.R. and Sneyd R. (1989) Use of a moderately thermophilic bacterial culture for the treatment of refractory arsenopyrite concentrate. In "Biohydrometallurgy", Proceedings of the International Symposium, Jackson Hole, Wyoming, USA, (Eds. Salley J., McCready R.G.L., and Wichlacz P.L.), CANMET SP8910, pp 231-242.