

Piritin oksitlenmesi sonucu oluşan sülfatın izotop (O,S) değerlerinin incelenmesi

Nurgül ÇELİK BALCI*, Fuat YAVUZ, Kevin MANDERNACK

İTÜ Maden Fakültesi, Jeoloji Mühendisliği Bölümü, 34469, Ayazağa, İstanbul

Özet

Pirit (FeS₂) doğada en yaygın bulunan metal sülfür mineralidir ve oksidasyonu, Asit Maden Sahaları(AMS) olarak bilinen çevre problemlerine neden olmaktadır. Bakterilerin bu ortamlarda yaygın olması, piritin oksitlenmesinde bakteriyel reaksiyonların gelişebileceğini göstermektedir. Bu çalışmanın ana hedefi, piritin asit koşullar altında baskın oksidasyon mekanizmasının (biyolojik ve/veya kimyasal) izotoplar yardımıyla ortaya konmasıdır. Bu amaçla, pirit asit koşullar altında (pH<3) biyolojik ve kimyasal olarak oksitlenmiş, oluşan sülfatın oksijen ve sülfür izotop analizleri yapılmıştır. Biyolojik deneyler için Acidithiobacillus Ferrooxidans bakteri türü kullanılmıştır. Deney sonuçları, piritin biyolojik olarak, kimyasal deneylere oranla daha hızlı oksitlendiğini ortaya koymuştur. Sülfatın oksijen izotop değerlerinin oksidasyon mekanizması ile uyumlu olduğu ancak biyolojik izleri taşımadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Acidithiobacillus Ferrooxidans, izotop, pirit, sülfat.

Interpretation of isotope values of sulfate produced from pyrite oxidation

Abstract

Pyrite is the most common sulfur mineral in nature and its oxidation causes environmental problems known as Acid Mine Drainage sites (AMD). Due to their high metal concentration and harmful effects to ecological life, the rehabilitation of these environments is inevitable. Common occurrences of bacterium in these environments indicate that pyrite oxidation can be largely mediated by biological reactions. The purpose of this study is to elucidate pyrite oxidation mechanisms (biotic vs. abiotic) under acidic conditions (pH <3) by means of oxygen and sulfur isotope composition of sulfate produced during pyrite oxidation. For this purpose, pyrite was oxidized as biologically and chemically at pH 3 and oxygen and sulfur isotope composition of the product sulfate was analyzed. For biological experiments, Acidithiobacillus Ferrooxidans, which has ability to oxidize Fe (II) and reduced sulfur compounds, was used. Biotic and abiotic experiments were carried out under aerobic and anaerobic conditions. In addition, biotic and abiotic aerobic experiments were designed as short and long-term and pH was used as proxy for these experiments. Experimental results showed that bacteria accelerated pyrite oxidation over chemical reactions, and Fe (III) ions produced by bacteria was also dominant oxidizing agent for pyrite. The oxygen isotopes composition of sulfate are consistent with oxidizing mechanisms but do not carry biological signature.

Keywords: Acidithiobacillus Ferrooxidans, isotope, pyrite, sulfate.

*Yazışmaların yapılacağı yazar: Nurgül ÇELİK BALCI. ncelik@itu.edu.tr; Tel: (212) 285 61 18.

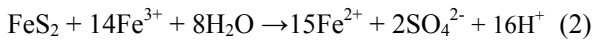
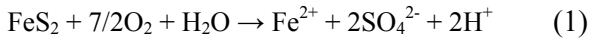
Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Maden Fakültesi'nde tamamlanmış olan "Assessment of biogeochemical influence on metal sulfide and Fe (II) oxidation as inferred from oxygen, sulfur and Fe isotope systematics of sulfate and iron oxides" adlı doktora tezinden hazırlanmıştır. Makale metni 04.07.2005 tarihinde dergiye ulaşmış, 11.08.2005 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.09.2006 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

Giriş

Bakterilerin değişik ortamlarda yaygın olarak bulunması ve farklı mineralleri kullanarak, yaşamları için gerekli olan enerjiyi elde etme çabaları, birçok elementin çözünmesini, taşınmasını ve çökmesini doğrudan kontrol etmektedir. Özellikle son yıllarda, moleküler biyoloji tekniklerinin gelişmesi, bakteriyel faaliyetlerin jeokimyasal işlemlere olan etkilerini daha açık bir şekilde ortaya koymuştur. Bu nedenle, bakteriyel reaksiyonların etkisini göze almadan elementlerin jeokimyasal döngüsünü ortaya koymak, yetersiz ve eksik kalacaktır.

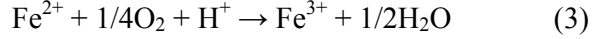
Demir ve sülfür biyolojik açıdan oldukça aktif elementlerdir. Pirit (FeS_2) demir ve sülfür elementlerini içeren en yaygın sülfür minerali olduğundan, oksidasyonu bu elementlerin döngüsünü kontrol etmektedir. Ayrıca, piritin oksidasyonu, metaller açısından zengin, düşük pH değerlerine sahip asit maden sahası olarak bilinen çevre problemlerine neden olmaktadır. Sonuç olarak, piritin oksidasyon şeklinin (biyolojiğe karşı kimyasal) ortaya konması: 1) güncel ve eski ortamlarda ki demir ve sülfür döngüsünün anlaşılmasında, 2) asit maden sahalarının oluşmasını engellemek için alınacak tedbirlerin belirlenmesinde yardımcı olacaktır.

Asit maden sahalarında ($\text{pH} < 3$) piritin sülfata oksitlenmesi iki şekilde açıklanmaktadır (Garrels ve Thompson, 1960; Singer ve Stumm, 1970; Taylor ve Wheeler, 1994; Nordstrom ve Alpers, 1999; McKibben ve Barnes, 1986; Nordstrom, 1982):



Reaksiyon 1 ve 2 sırasıyla direkt ve indirekt oksidasyon mekanizması olarak adlandırılır. Bu reaksiyonlar, piritin oksitleyicisi (O_2 'e karşı Fe(III)) ve sülfatın oksijen kaynağı açısından farklılık sergiler (Rimdsit ve Vanguah, 2003). Reaksiyon 1, kimyasal olarak meydana gelmekle birlikte, *Acidithiobacillus Ferrooxidans* bakteri türü tarafından hızlandırılır ve ortamdaki moleküler oksijenin konsantrasyonu ile doğru

orantılıdır. Reaksiyon 1'e oranla, Fe(III) piriti Reaksiyon 2'de belirtildiği gibi kimyasal olarak hızla oksitlemektedir. Ancak, Reaksiyon 2'nin oluşması aşağıda belirtilen Reaksiyon 3 ile sınırlıdır.



Asit koşullar altında ($\text{pH} < 3$), Fe(II) 'nin oksidasyonu bakteriyel reaksiyonlar tarafından kontrol edilir ve kimyasal oksitlenmeye oranla daha hızlı gelişir (Nordstrom ve Alpers, 1999; Singer ve Stumm, 1970; McKibben ve Barnes, 1986).

Reaksiyon 1 ve 2'de görüldüğü gibi, sülfatın oksijeni, izotop bileşimi birbirinden farklı sudan ($< \% 0$) ve/veya moleküler oksijenden ($\% 23.5$) sağlanmaktadır. Bu nedenle, eğer sülfat orijinal oksijen kaynağını koruyorsa, piritin oksidasyon şekli sülfatın oksijen izotop değerleri tespit edilerek ortaya konabilir. Oksijen ve sülfür izotoplarının sülfür minerallerinin oksidasyon jeokimyasını ortaya koymak için kullanılmasının ana nedeni, oksidasyon işlemlerinin sülfür minerali, su ve moleküler O_2 arasındaki işlemleri içermesidir. Diğer bir ifadeyle, sülfür ve oksijen izotopları oksidasyon işlemlerinin direkt tanıqlarıdır. Bir elementin izotoplarının kütleleri birbirinden farklıdır. Bu farklılık, izotopların fiziksel, kimyasal ve biyolojik olaylara karşı farklı davranmalarına neden olur. Örneğin, bakteriler, bir elementin kütle açısından hafif olan izotopunu tercih ederler ve biyolojik reaksiyonlar sonucu oluşmuş ürün, kimyasal reaksiyonlara oranla farklı bir izotop değeri sergiler. İzotopların bileşimindeki bu farklılıklara dayanılarak, biyolojik izler ortaya konabilmektedir. Bu prensip, çalışmanın temelini oluşturmuştur.

Bu çalışmada, piritin biyolojik ve kimyasal oksidasyonu sonucu oluşan sülfatın oksijen ve sülfür izotop analizleri yapılarak, oksidasyon şekli (biyolojiğe karşı kimyasal) ortaya konmaya çalışılmıştır.

Deneyisel çalışmalar

Deneylerde kullanılan pirit örneği, Colorado School of Mines (Amerika) jeoloji müzesinden

elde edilmiş ve kimyasal bileşimi USGS (Amerika Jeoloji Kurumu) Denver, Colorado'da analiz edilmiştir. Analiz sonuçları, piritin % 97 oranında saf olduğunu ortaya koymuştur. Deneylerde kullanılmadan önce piritin yüzeyi Moses vd., (1987) tarafından belirtilen yöntemler kullanılarak temizlenmiştir. Pirit oksidasyon deneyleri, biyolojik ve kimyasal olmak üzere aerobik ve anaerobik koşullar altında gerçekleştirilmiştir.

Bakteri kültürünün hazırlanması

Biyolojik deneylerde kullanılmak üzere, *Acidithiobacillus Ferrooxidans* (20273) bakteri türü Amerikan Bakteri Bankasından (ATCC) elde edilmiş ve özel kimyasal bileşimli çözelti içerisinde büyütülmüştür.

Bu tür çözeltinin 1 litresi aşağıda belirtilen kimyasalları içermektedir: 0.6 g NH_4Cl , 0.2 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g K_2HPO_4 ; 7.1 g FeCl_2 ve 1.5 g FeSO_4 ve 5 mL Wolfe mineral solüsyonu (1.5 g nitrotriacetik asit, 3 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 g NaCl , 100 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 100 mg CaCl_2 , 100 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mg $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 10 mg H_3BO_3 , 10 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,).

Yaklaşık 12 günlük bakteri Whatman 1'nolu filtre kullanılarak süzölmüş ve daha sonra santifüj edilerek konsantre hale getirilmiştir. Hazırlanan bakteri kültürü aynı gün biyolojik deneylerde kullanılmıştır.

Aerobik deneyler

Piritin oksijene doygun ortamda oksidasyon şeklini ve moleküler oksijenin sülfatın oksijenine olan katkısını ortaya koymak amacıyla, biyolojik ve kimyasal deneyler aerobik koşullar altında yapılmıştır. Deneyler için başlangıç pH'sı 3 olarak seçilmiştir. $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ değerlerinin zaman içerisinde muhtemel değişimlerini saptamak için, deneyler kısa ve uzun süreli olmak üzere iki farklı şekilde yapılmıştır. Kısa süreli deneyler, pH 2.7'ye, uzun süreli deneyler ise pH 2.1'e ulaşınca sona erdirilmiştir.

Biyolojik deneyler için sülfat ve Fe (II) içermeyen çözelti hazırlanmıştır (NH_4Cl , 0.6 g; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g; K_2HPO_4 , 0.1 g; Wolfe mineral solüsyonu, 5 mL) ve pH'sı 6M HCl kullanılarak 3'e ayarlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiden 250 mL, 500 mL'lik erlenmeyer beherler içine konulmuş ve 121 °C'de 25 dakika süreyle steril edilmiştir. Bu sterilizasyon işleminden sonra, erlenmeyer beherler 25 dakika süreyle yüzeyi temizlemek amacıyla UV radyasyonuna tabii tutulmuştur. 500 mg yüzeyi temizlenmiş, steril hale getirilmiş pirit ve 5mL *A. Ferrooxidans* bakterisi ($\sim 2.7 \times 10^7$ bakteri) steril koşullar altında beherlere eklenerek, deneylere başlanmıştır. Deneylerin tümü, 25 °C sabit sıcaklıklarda ve sallantılı masalarda (150 rpm) yapılmıştır.

Sülfatın oksijen kaynağını (su ve/veya moleküler O_2) ve oksitlenme sırasında oksijen izotoplarının ayrışma miktarını (ϵ) tespit etmek için, oksijen izotop değeri birbirinden farklı dört su örneği kullanılmıştır (% -15.3, % -2.5, % 1.8 ve % 13). Her su örneği için deney tekrarlanmış ve 8 erlenmeyer beher kısa süreli, 8 erlenmeyer beher ise uzun süreli deneylerde olmak üzere toplam 16 deney düzeneği oluşturulmuştur (Şekil 1)



Şekil 1. Aerobik koşullar altında deney düzeneği

Deneylerde kullanılan beher ağzları giriş ve çıkış noktaları bulunan kauçuk tıplarla kapatılmıştır. Deney süresince oksijene doygun bir ortam yaratılmıştır. Beherler çıkış noktalarından geçirilen teflon tüpler yardımıyla, hava tankından taşınan hava ile havalandırılmıştır.

Buharlaşmayı ve mikrobiyolojik kirlenmeyi engellemek amacıyla teflon tüp ve beherlerin birleşim noktalarına 0.2 mikron boyutunda filtreler yerleştirilmiştir.

Kimyasal deneyler, biyolojik deneyler ile aynı koşullar altında fakat bakteri eklenmeksizin gerçekleştirilmiştir.

Deneyler sonunda, çözelti 0.1 mikron boyutunda filtre kullanılarak süzülüş, oksijen izotop analizi ve sülfat ölçümü için 50 mL örnek kullanılmıştır. Çözeltinin geri kalan kısmı (200 mL) çözünmüş sülfatı elde etmek için kullanılmıştır. Bu amaçla, ~ 100 µL HCl ve % 10'luk 10 mL BaCl₂ çözeltiye eklenerek sülfat BaSO₄ olarak çöktürülmüştür. Daha sonra bu çökeltim, 0.2 mikron boyutunda filtre kullanılarak süzülüş ve BaSO₄ filtre üzerinde toplanmıştır. BaSO₄ katısı, 100 mL 0.1 N HCl ve 500 mL saf su kullanılarak yıkanmış, 100 °C'de 24 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Son işlem olarak, BaSO₄ tozu 500 °C'de organik malzemelerden temizlenmek amacıyla 2 saat süreyle fırınlanmıştır (Mandernack vd., 2000).

Anaerobik deneyler

Piritin Fe (III) iyonu ile oksidasyonu (reaksiyon 2) sonucu oluşmuş sülfatın oksijen ve sülfür izotop değerlerini incelemek amacıyla, anaerobik deneyler yapılmıştır. Bu tür deneyler, aerobik deneylerde olduğu gibi biyolojik ve kimyasal olarak gerçekleştirilmiştir. Öte taraftan, moleküller oksijenin etkisini ortadan kaldırmak amacıyla, deneyler anaerobik koşullar altında da yürütülmüştür. Deneyler için, 100 mL daha önce kimyasal bileşimi verilen deneysel çözelti, 200 mL'lik serum şişelerine konarak, pH'sı HCl ilavesiyle 2'ye ayarlanmıştır. Düşük pH, Fe (III) iyonlarının çözeltide tutulması için gerekmektedir. Serum şişeleri 121 °C'de 25 dakika süreyle steril edilmiş ve moleküller oksijeni ortadan kaldırmak için 30 dakika nitrojen gazı ile havalandırılmıştır. Bu işlemlerden sonra, serum şişeleri mikrobiyolojik anaerobik oda içerisinde 24 saat süreyle bekletilmiştir. Deneylerde oksitleyici olarak kullanılan Fe (III) iyonunu hazırlamak için saf suyun pH'sı HCl asidi eklenerek 2'ye ayarlanmış ve FeCl₃ içerisinde çözülmüştür.

FeCl₃ içeren bu çözelti daha sonra 0.2 mikron boyutunda filtreden süzülerek steril hale getirilmiştir. Son aşama olarak, 1 M stok Fe (III) çözeltisi 30 dakika süreyle nitrojen gazı ile havalandırılmış ve deneylerde kullanana kadar anaerobik koşullarda tutulmuştur. 100 mL deneysel çözelti, 10 mL Fe (III) çözeltisi ve 200 mg pirit ve 1 mL *A. Ferrooxidans* bakterisi, 200 mL'lik serum şişesi içerisine eklenerek deneylere başlanılmıştır. Aerobik deneylerde olduğu gibi, oksijen izotop bileşimi birbirinden farklı su burada da kullanılmıştır. Kimyasal anaerobik deneyler, aynı koşullar altında, ortamda bakteri olmaksızın tekrar edilmiştir.

Sülfatın izotop analizleri

Sülfatın oksijen ve sülfür izotop oranları, sürekli akış kütle spektrometresi (CF-IRMS) kullanılarak, Calgary üniversitesi (Kanada) Jeoloji bölümünde yapılmıştır. $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$ ve $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ değerlerinin standart sapması ‰ ± 0,5 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, sülfür ve oksijen izotop sonuçları δ notasyonuna göre ifade edilmiştir. δ notasyonu, örneklerin oksijen izotopu için standart Mean Ocean'a (SMOW) ve sülfür izotopu için Canyon Diablo Trioilit (CDT) standartlarına oranla binde (‰) cinsinden ifadesidir ve aşağıdaki şekilde verilmiştir:

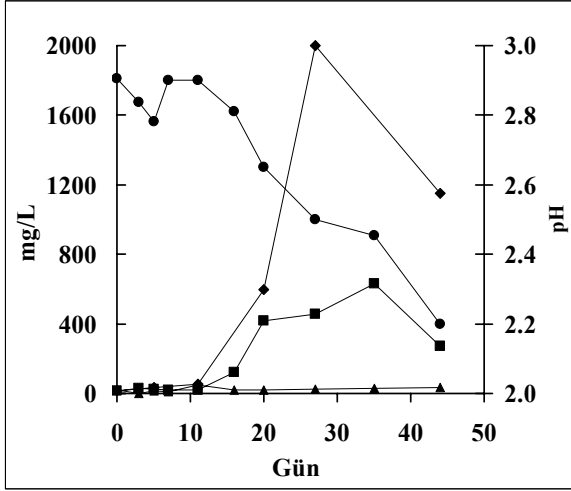
$$(\delta^{18}\text{O}_{(\text{SMOW})})_{\text{örnek}} = \left[\frac{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{örnek}}}{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{SMOW}}} - 1 \right] \times 10^3 \quad (4)$$

Aerobik deney sonuçları

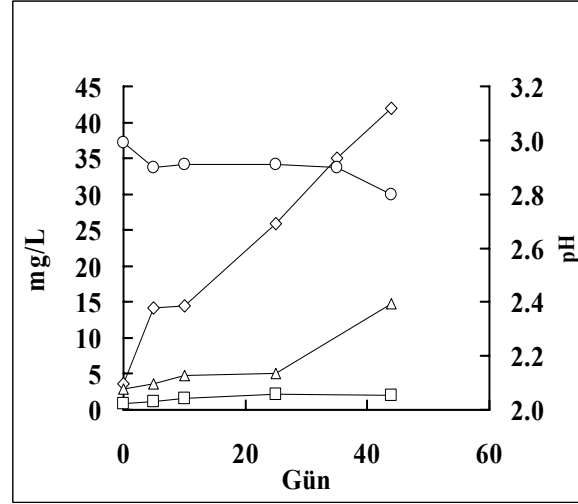
Piritin oksitlenme ürünleri olan, sülfat ve Fe (III) konsantrasyonları göz önüne alındığında, *A. Ferrooxidans* bakterisinin, piriti kimyasal reaksiyona oranla daha hızlı oksitlediği saptanmıştır. Kimyasal deneylerde, sülfatın konsantrasyonu deney süresince artmasına rağmen, bu artış biyolojik deneylere oranla oldukça azdır (Şekil 2, 3). Deneyler sonunda (45 gün) sülfat konsantrasyonu biyolojik deneylerde ~1150 mg/L ölçülürken, aynı değer kimyasal deneylerde 42 mg/L olarak ölçülmüştür. Fe (III) konsantrasyonu biyolojik deneylerde 271 mg/L, kimyasal deneylerde 2 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar, *A. Ferrooxidans* bakterisinin Fe (II) iyonunu (pH <3) hızla oksitlediği gerçeği ile

uyumludur (Nordstrom, ve Southam, 1999). Kısa süreli biyolojik deneyler (20 gün) pH 2.7'de, uzun süreli biyolojik deneyler (45 gün) ise pH 2.1'de sona erdirilmiştir. Kimyasal deneyler, biyolojik deneyler ile aynı süre (45 gün) tutulmasına rağmen, 45 günden sonra deneysel çözeltilinin pH'sı ancak 2.8'e ulaşmıştır (Şekil 3).

şijenden elde edildiğini ortaya koymaktadır. Uzun süreli biyolojik deneyler ise sülfatın oksijeninin % 94'ünün sudan sağlandığını göstermiştir. Kimyasal pirit oksitlenmesi sonucu oluşan sülfatın oksijeninin % 89'unun sudan, geriye kalan % 11'lik kısmının ise moleküler oksijenden sağlandığı saptanmıştır.



Şekil 2. Biyolojik pirit oksidasyonu süresince çözelti kimyasındaki değişimler, (◆) sülfat, (■) Fe(III), (▲) Fe(II), (●) pH



Şekil 3. Kimyasal pirit oksidasyonu süresince çözelti kimyasındaki değişimler, (◇) sülfat, (□) Fe(III), (△) Fe(II), (○) pH

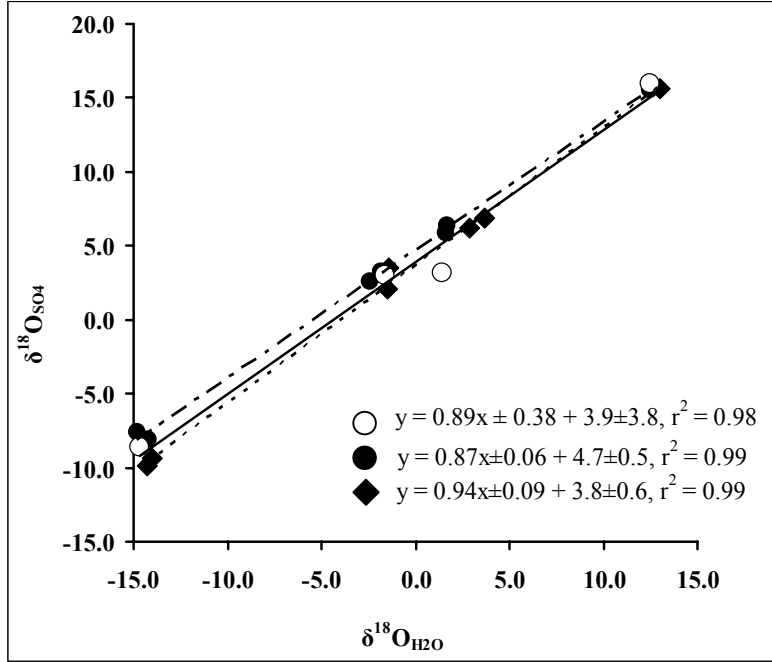
Bütün bu sonuçlar, piritin asit koşullar altında oksitlenmesinin biyolojik deneylerle kontrol edildiğini göstermektedir.

Sülfatın oksijen ve sülfür izotop analiz sonuçları

Biyolojik ve kimyasal olarak piritin oksitlenmesi sonucu oluşan sülfatın oksijen ve sülfür izotop sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Her iki deneyde de sülfatın oksijen izotop değerlerinin ($\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$) oksidasyonun meydana geldiği suyun oksijen izotop ($\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$) değerleriyle doğru orantılı olduğu saptanmıştır (Şekil 4). Şekil 4'de kısa süreli biyolojik deneyler (pH 2.7) sonucunda elde edilen $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ değerleri ile $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$ değerleri arasındaki lineer ilişki görülmektedir. Bu ilişkienden elde edilen doğrunun eğimi 0.87 ± 0.09 olarak hesaplanmıştır.

Bu sonuç, piritin pH 2.7'de biyolojik olarak oksitlenmesi sonucunda oluşan sülfatın oksijeninin % 87'sinin sudan, % 13'ünün ise moleküler ok-

Sülfat ve suyun oksijen izotop değerleri arasındaki izotopik ayrılma katsayısı ($\epsilon_{18\text{O}_{\text{SO}_4-\text{H}_2\text{O}}}$), Mandernack ve diğerleri (1995) tarafından belirlenen yöntemler kullanılarak hesaplanmıştır. $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ ve $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$ değerleri ve matris analizleri kullanılarak hesaplanan bu değerler sırasıyla şöyledir: Kısa süreli biyolojik deneyler için, $\epsilon_{18\text{O}_{\text{SO}_4-\text{H}_2\text{O}}}$ değeri ‰ 5.3, uzun süreli biyolojik deneyler için, ‰ 3.9 ve kimyasal deneyler için ‰ 3.2'dir. Sülfatın sülfür izotop değerleri kısa süreli biyolojik deneyler için $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4} = \text{‰} 2.3$, uzun süreli biyolojik deneyler için, ‰ 2.4 ve kimyasal deneyler için ‰ 2.2 olarak ölçülmüştür. Her değer, verilen deney seti için yapılan 6 analizden ortalamasıdır. Bu sonuçlar, sülfatın sülfür izotop değerinin, piritin sülfür izotop değerini ($\delta^{34}\text{S}_{\text{FeS}_2} = \text{‰} 2.3$) yansıttığını ortaya koymuştur. Sülfat ve pirit arasındaki sülfür izotopu ayrılma katsayısı ($\epsilon^{34}\text{S}_{\text{SO}_4-\text{FeS}_2}$) biyolojik ve kimyasal deneyler için ‰ ± 0.1 , olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. Piritin aerobik koşullar altında oksitlenmesiyle oluşan sülfatın oksijen izotop değeri ile suyun oksijen izotop değeri arasındaki ilişki, (○) kimyasal deneyler (pH 2.8, 44 gün), (●) kısa süreli biyolojik deneyler (pH 2.8, 20 gün), (◆) uzun süreli biyolojik deneyler (pH 2.1, 44 gün)

Anaerobik deney sonuçları

Anaerobik deneyler, piritin Fe (III) iyonu tarafından oksitlenme sonuçlarını göstermektedir. Bu sonuçlara göre, biyolojik ve kimyasal deneylerde sülfat konsantrasyonu oldukça benzerdir ve piritin Fe (III) tarafından kimyasal olarak oksitlenmesinin, biyolojik reaksiyonlara göre daha baskın olduğunu işaret etmektedir (Şekil 5).

Ayrıca, sülfat üretim oranının zaman içerisinde düştüğü tespit edilmiştir. Sülfat konsantrasyonundaki bu düşüş, Fe (III) içeren sülfat mineral oluşumunu (jarosite) ve/veya sülfat dışındaki farklı sülfür türlerinin (S⁰) oluşmasını, yani sülfata tamamlanmayan pirit oksidasyonunu işaret edebilir.

Sülfatın oksijen ve sülfür izotop analiz sonuçları

δ¹⁸O_{SO₄} ve δ¹⁸O_{H₂O} değerleri arasındaki lineer ilişkinin eğimi biyolojik deneyler için 0.99, kimyasal deneyler için ise 0.97 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, piritin Fe (III) ile oksidasyonu sonucu oluşan sülfatın tüm oksije-

ninin (%100) sudan sağlandığını göstermektedir (Şekil 6). Anaerobik koşullar altında, sülfatın oksijen kaynağı yalnızca su olduğu için, oksijen izotopu ayırılma katsayıları (ε¹⁸O_{SO₄-H₂O}), δ¹⁸O_{SO₄} ve δ¹⁸O_{H₂O} değerleri arasındaki doğrusal ilişkiden elde edilmiştir. Söz konusu değerler, biyolojik deneyler için ‰ 4.2, kimyasal deneyler için ‰ 3.5 olarak saptanmıştır (Şekil 6).

Biyolojik ve kimyasal deneyler arasındaki bu benzerlik, oksijen izotoplarının her iki reaksiyon için aynı davranışı gösterdiğine işaret etmektedir. Ayrıca, anaerobik koşullar altında elde edilen oksijen izotopu ayırılma katsayısı, aerobik deneylerle benzerlik göstermektedir. Bu benzer değerler, piritin her iki koşul altında da aynı reaksiyon şekliyle oksitlendiğini ortaya koymaktadır.

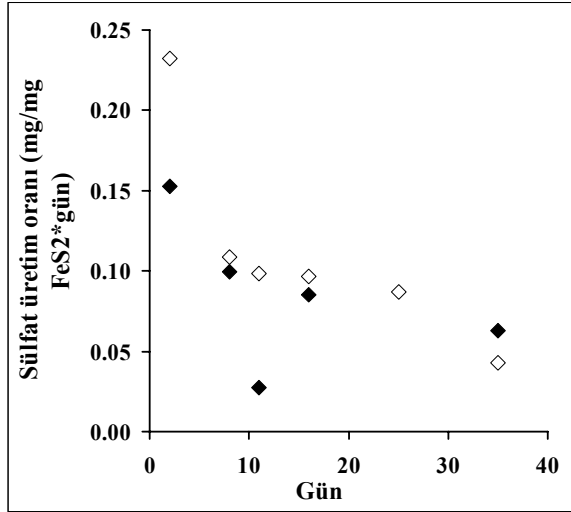
Piritin Fe (III) ile anaerobik koşullarda oksitlenmesi sonucu elde edilen δ³⁴S_{SO₄} değerlerine bakıldığında, piritin sülfür izotop değerine (% 2.3) oranla yaklaşık ‰ 1.0 düzeyinde ³²S açısından zenginleştiğini ortaya koymuştur. Bu de-

ğerler, aerobik deneylerden farklılık sergilemektedir (Tablo 1).

Tablo 1. Aerobik ve anaerobik koşullar altında oluşan sülfatın sülfür izotop değerleri¹

Anaerobik Deneyler		Aerobik Deneyler	
$\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}(\text{‰})$		$\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}(\text{‰})$	
Biyolojik	kimyasal	Biyolojik	kimyasal
1.6	1.6	2.3	2.1
1.6	1.7	2.4	2.5
1.6	1.5	2.4	2.1
1.7	1.7	2.4	2.1
1.0	1.5	2.3	

1:Piritin sülfür izotop değeri $\text{‰} 2.3 \pm 0.5$

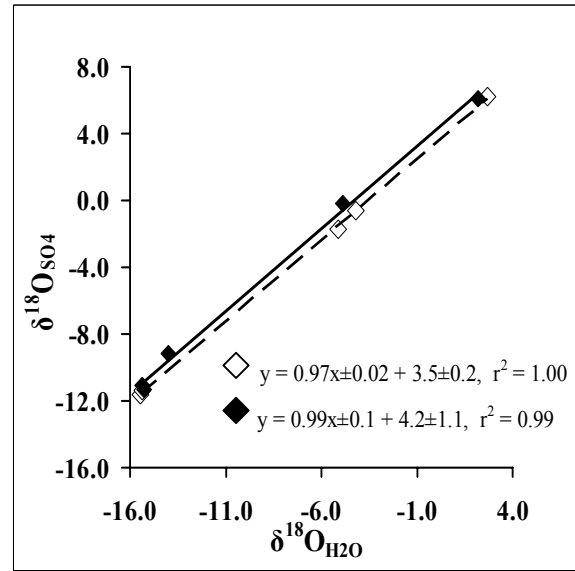
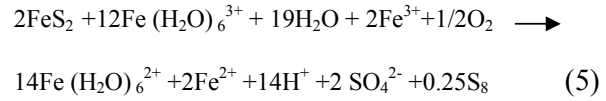


Şekil 5. Piritin anaerobik oksidasyonu süresince sülfat üretim oranı

Piritin aerobik koşullarda oksitlenme reaksiyonu

Piritin oksijene doymuş ortamda oksitlenmesi sonucu oluşan sülfatın oksijen izotop değerleri, sülfatın oksijeninin ana kaynağının su olduğunu göstermiştir. Ayrıca, sülfatın oksijen izotop değerleri biyolojik ve kimyasal deneyler için oldukça benzerdir. Kısa süreli biyolojik deney sonuçlarına göre; sülfat oksijeninin % 87'sini sudan, kimyasal deneylerde ise % 89'unu sudan elde etmiştir ve bu sonuçlar literatür değerleriyle

le uyumludur (Taylor vd., 1984ab; Krouse vd., 1991, Van Stempvoort ve Krouse, 1994; Van Everdingen ve Krouse, 1985; Van Everdingen vd., 1985) (Şekil 4). Bu değerler, Reaksiyon 1 ve 2'nin aerobik ve asit ($\text{pH} < 3$) koşullar altında piritin oksitlenme reaksiyonu olmadığını göstermektedir. Eğer pirit Reaksiyon 1'e göre oksitlenseydi, sülfatın oksijeninin % 87.5'inin moleküler oksijenden sağlanması gerekirdi. Elde edilen deney sonuçlarına dayanarak, aşağıda belirtilen reaksiyon, piritin oksitlenme reaksiyonu olarak önerilmiştir:



Şekil 6. Piritin anaerobik koşullar altında oksitlenmesiyle oluşan sülfatın oksijen izotop değeri ile suyun oksijen izotop değeri arasındaki ilişki, (◆) biyolojik deneyler, (◇) kimyasal deneyler

Reaksiyon 5'in stokiyometrisine göre, bu reaksiyon sonucu oluşmuş sülfatın oksijeninin % 87.5'inin sudan, % 12.5'inin moleküler oksijenden sağlanması gerekir. Bu değerler, deneylerden elde edilen sonuçlar ile oldukça uyumludur (Şekil 4). Önerilen reaksiyonda ana oksitleyici Fe (III) iyonudur. Bu nedenle *A. Ferrooxidans* bakterisinin oksitlenmedeki ana rolü, piritin oksitlenmesi sonucu oluşan Fe (II)'yi Fe (III)'e oksitleyerek, Reaksiyon 4 için gerekli olan Fe

(III)'ü sağlamaktır. Kimyasal deney sonuçları da Fe (III)'ün piritin ana oksitleyicisi olduğu sonucu ile uyumluluk göstermektedir. Asidik koşullar altında, bakteri olmaksızın Fe (II)'nin Fe (III)'e oksitlenmesi oldukça yavaştır (Nordstrom, 1982). Bu nedenle, kimyasal deneylerde Fe (III) konsantrasyonu düşük, buna bağlı olarak ta piritin oksitlenmesi yavaş olarak gelişmektedir. Sonuç olarak, sülfat konsantrasyonu kimyasal deneylerde oldukça düşüktür (Şekil 2, 3).

Piritin anaerobik koşullarda oksitlenme reaksiyonu

Pirit moleküler oksijenine ilave olarak, Fe (III) iyonu tarafından da oksitlenmektedir. Anaerobik koşullar altında yapılan deneylerde piriti oksitleyici olarak yalnızca Fe (III) kullanılmıştır. Anaerobik koşullar altında, biyolojik ve kimyasal olarak oluşan sülfat, Reaksiyon 2'ye uyumlu olarak oksijeninin tümünü sudan elde etmiştir. Sülfatın oksijen izotop sonuçları, Reaksiyon 2'nin piritin oksitlenme reaksiyonu olduğunu göstermektedir. Sülfat ve suyun arasındaki oksijen izotopu ayrışma katsayısının biyolojik ve kimyasal deneyler için benzer olması, piritin Fe (III) iyonu tarafından kimyasal olarak hızla oksitlendiğini ve bakterilerin reaksiyonda herhangi bir etkisinin olmadığına işaret etmektedir.

Sülfatın sülfür izotop değerleri, aerobik koşullarda oluşan sülfatın değerlerine oranla ‰ ~1.0 oranında ³²S açısından zenginleşme göstermektedir (Tablo 1). Bu zenginleşme piritin oksidasyonu sırasında sülfatın yanı sıra, elementer sülfür gibi diğer sülfür bileşiklerinin oluşumunu yansıtmaktadır (Goldhaber, 1983).

Sonuçlar

Piritin biyolojik ve kimyasal olarak asit koşullar altında oksitlenmesi sonucu oluşan sülfatın oksijen ve sülfür izotop sonuçlarının incelenmesiyle aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Biyolojik reaksiyonlar piriti, kimyasal reaksiyonlara oranla daha hızlı oksitlemiştir. Biyolojik reaksiyon sonucu oluşan sülfat ve asidite miktarı, kimyasal reaksiyonlara oran-

la oldukça yüksektir. Bu sonuçlar, asit maddenin oluşmasında ana etkinin biyolojik reaksiyonlar olduğunu ortaya koymuştur.

2. Sülfatın oksijen izotop değerleri, kimyasal ve biyolojik olarak oluşan sülfatın oksijeninin ana kaynağının moleküler oksijene oranla su olduğunu göstermiştir. Kısa süreli pirit oksidasyon deneyleri (20 gün, pH 2.7) sonucu oluşan sülfat oksijeninin % 87'sini sudan elde etmiştir. Uzun süreli deneylerde (45 gün, pH 2.1) ise bu değer % 94 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar, piritin oksitlendiği ortamın pH'sının sülfatın oksijen kaynağını (H₂O, O₂) belirlemede de etkili olduğunu göstermektedir.
3. Piritin aerobik ve anaerobik koşullar altında biyolojik ve kimyasal oksitlenmesi sonucu oluşan sülfatın oksijen izotop değerleri oldukça benzerdir. Bu nedenle sülfatın oksijen izotop değerleri, piritin oksidasyonu sırasında biyolojik izleri tayin etmekte kullanılamaz.
4. Sülfatın oksijen izotop değerleri, aerobik koşullar altında piritin Reaksiyon 4'e göre oksitlendiğini göstermiştir. Bu sonuç, piritin oksidasyonu için literatürde yaygın olarak kullanılan Reaksiyon 1'in doğru olmadığına işaret etmektedir.
5. Sülfatın sülfür izotop değerleri, piritin sülfür izotop değerlerini yansıtmaktadır. Bu sonuçlar, sülfatın sülfür izotop değerinin sülfatın kaynağı olan sülfür mineralini tayin etmekte kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Teşekkür

Çalışmayı destekleyen NSF (National Science Foundation USA) ve TÜBİTAK teşekkürle anılır.

Kaynaklar

- Garrels, R.M ve Thompson, M.E., (1960). Oxidation of pyrite by iron sulfate solution, *American Journal of Science*, **258A**, 57-67.
- Goldhaber, M.B., (1983). Experimental study of metastable sulfur oxyanion formation during

- pyrite oxidation at pH 6–9 and 30 °C. *American Journal of Science*, **283**, 193 - 217.
- Krouse, H.R., Gould, W.D., McCready, R.G.L. ve Rajan, S., (1991). ^{18}O incorporation into sulphates during the bacterial oxidation of sulphide minerals and the potential for oxygen isotope exchange between O_2 , H_2O and oxidized sulphur intermediates. *Earth and Planetary Science Letters*, **107**, 90-94.
- Mandernack, K.W., Fogel, M. L., Tebo, B. M. ve Usui, A., (1995). Oxygen isotope analyses of chemically and microbially produced manganese oxides and manganates. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **59**, 21, 4409-4425
- Mandernack, K. W., Lynch, L., Krouse, H. R. ve Morgan, M. D., (2000). Sulfur cycling in wetland peat of the New Jersey Pinelands and its effect on stream water chemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **64**, 23, 1 3949-3964.
- McKibben, M.A. ve Barnes, H.L., (1986). Oxidation of pyrite in low temperature acidic solutions: Rate laws and surface textures. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **50**, 1509 - 1520.
- Moses, C.O., Nordstrom, D.K., Herman, J.S., ve Mills, A.L., (1987). Aqueous pyrite oxidation by dissolved oxygen and ferric iron. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **51**, 1561– 1571.
- Nordstrom, D.K., ve Southam, G., (1999). Geomicrobiology of sulfide mineral oxidation. In Eds., J.F. Banfield ve K.H. Nealson, *Geomicrobiology: Interactions between microbes and minerals*, Mineralogical Society of America **35**, 361-390.
- Nordstrom, D.K., ve Alpers, C.N., (1999). Geochemistry of acid mine waters. In eds., Plumlee, G.S., ve Logsdon, M.B. *The Environmental Geochemistry of Mineral Deposits*, 6. *Reviews in Economic Mineralogy. Part A. Processes, Methods and Health Issues*, **6**, 133– 160.
- Nordstrom, D.K., (1982). Aqueous pyrite oxidation and the consequent formation of secondary iron minerals. In ed., Nordstrom, D.K. *Acid Sulphate Weathering. Soil Science Society American Special Publications* **10**, 37– 56.
- Rimsdit, J.D. ve Vanguah, D.J., (2003). Pyrite oxidation: a state-of-the art assessment of the reaction mechanism. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**, 873-880.
- Singer, P.C. ve Stumm, W., (1970). Acidic mine drainage: The rate-determining step. *Science* **167**, 1121 - 1123.
- Taylor, B.E. ve Wheeler, M.C., (1994). Sulfur and Oxygen-isotope geochemistry of Acid mine drainage in the Western United States Environmental Geochemistry of Sulfide Oxidation. *American Chemical Society*, **482-514**.
- Taylor, B.E., Wheeler, M.C., ve Nordstrom, D.K., (1984a). Isotope composition of sulphate in acid mine drainage as measure of bacterial oxidation. *Nature* **308**, 538– 541.
- Taylor, B.E., Wheeler, M.C., ve Nordstrom, D.K., (1984b). Stable isotope geochemistry of acid mine drainage: experimental oxidation of pyrite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **48**, 2669– 2678.
- Van Everdingen, R., Shakur, M.A. ve Micheal, F.A., (1985). Oxygen and sulphur isotope geochemistry of acidic ground water discharge in British Columbia. *Canadian Journal of Earth Science*. **22**, 1689-1695.
- Van Everdingen, R. O. ve Krouse, H. R., (1985). Isotope composition of sulphates generated by bacterial and abiological oxidation. *Nature* **315**: 395-396.
- Van Stempvoort, D. R. and Krouse, H. R. (1994). Controls of $\delta^{18}\text{O}$ in sulfate: Review of experimental data and application to specific environments; in Alpers, ed., *Environmental Geochemistry of Sulfide Oxidation*, American Chemical Society, 447-479.