



ارزیابی استحصال دو مرحله ای میکروبی طلا از کانی سولفیدی موته گلپایگان

سید منصور میبدی^{۱*}، مریم اصغر حیدری^۲، مسعود مبینی^۲

^۱ استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، ^۲ کارشناس ارشد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن.

چکیده

سابقه و هدف: روش های زیستی مانند فروشویی زیستی روش های سازگار با محیط هستند که می توانند جایگزین روش های شیمیایی و فیزیکی استخراج فلزات شوند. این مطالعه با هدف استحصال کامل طلا در دو فاز میکروبی از سنگ معدن سولفیدی موته انجام شد.

مواد و روش ها: برای جداسازی باکتری های اکسید کننده آهن نمونه های معدنی در محیط کشت مایع 9K کشت شد. در فاز اول فروشویی سنگ معدنی با قطر ذره ای مختلف، تهیه و به میزان ۱٪ به محیط استاندارد افزوده شد. پس از مدت ۷ روز با روش پراش اشعه ایکس از نظر وجود کانی های سولفیدی ارزیابی گردید. برای جداسازی باکتری های تولید کننده سیانید از محیط جامد تربیتیکاز سوی آگار استفاده شد. در فاز دوم ماده فروشویی شده حاصل از مرحله اول تحت اثر باکتری های سیانوزن قرار گرفت. در نهایت رسوبات و مایع باقی مانده با روش اسپکتروسکوپی ICP ارزیابی شد.

یافته ها: بر اساس نتایج حاصله، باکتری جدا شده از معدن سرچشمه از قدرت بالایی در اکسیداسیون آهن برخوردار بود. به طوری که پس از ۷ روز پیریت را از سنگ معدن حذف نمود. در فاز دوم باکتری جدا شده از خاک زراعی تنکابن، توانست طلا را به میزان ۰/۰۲۳ میلی گرم بر لیتر بازیابی نماید. بهترین میزان بازیابی طلا در اسیدیته برابر با ۷ گزارش شد.

نتیجه گیری: باکتری های جدا شده در این پژوهش قادر بودند طلا را در یک فرایند میکروبی دو فازی، از سنگ معدن سولفیدی جدا و با تولید سیانید، آن را به صورت محلول در محیط بازیابی کنند.

واژگان کلیدی: استخراج دو مرحله ای، طلا، کانی سولفیدی، موته.

پذیرش برای چاپ: مهر ماه ۹۴

دریافت مقاله: مرداد ماه ۹۴

مقدمه

در نتیجه برای انحلال در سیانور، طلا باید به صورت آزاد درآید. این عمل با استفاده از روش های مختلفی مانند تشویه، راکتورها یا اکسیداسیون تحت فشار و روش اکسیداسیون زیستی صورت می گیرد. به واسطه امتیازهای اقتصادی فروشویی زیستی و مشکلات زیست محیطی ناشی از تشویه کانسنگ های گوگردی، در سال های اخیر این روش نسبت به روش های معمول بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۲). روش های زیستی به معنای استفاده از قابلیت میکروارگانیسم ها در عملیات انحلال سولفیدهای فلزی به منظور بازیابی و تولید فلزات می باشد. این فرایند به عنوان معدن کاری زیستی

سیانید متداول ترین ماده شیمیایی مورد استفاده در معادن برای استخراج طلا از سنگ معدن است. سیانید، ذرات ریز طلا را به شکل کمپلکس های سیانیدی طلا قابل حل در آب جذب می کند که در مراحل بعدی قابل بازیابی هستند. در نتیجه همیشه باطله ها محتوی مقادیری از ترکیبات سیانیدی هستند (۱). کانسارهای طلائی مقاوم، شامل طلائی موجود در کانسارهای سولفیدی، به ویژه پیریت و آرسنوپیریت است. این نوع طلا حتی با خردایش بسیار زیاد در سیانور حل نمی شود.

(* آدرس برای مکاتبه: تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی.

تلفن: ۰۹۱۲۶۶۰۵۷۷۶ پست الکترونیک: s.m.meybodi@gmail.com

برای جداسازی باکتری های کمولیتوتروف اکسید کننده آهن جمع آوری شدند. همچنین نمونه های مختلف خاک مناطق مختلف جنگلی و زراعی تنکابن و خاک دامپ باطله مجتمع طلای موته گلپایگان، به منظور جداسازی انواع سیانوژن جمع آوری گردید. دما و اسیدیته نمونه ها در مکان نمونه گیری اندازه گیری شد. نمونه ها در شرایط استریل در جعبه یخ نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) PTCC 1647 از سازمان پژوهش های علمی صنعتی و سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*) سویه میگولا (ATCC BAA477 Migula) از مرکز ذخائر ژنتیک ایران، به عنوان سویه های استاندارد خریداری شدند.

ب) غنی سازی، جداسازی و تخلیص سویه های اکسید کننده آهن: به منظور غنی سازی باکتری های اسیدوفیل، از محیط کشت 9k مایع استفاده شد (۸ و ۹). بنابراین به میزان ده درصد حجمی محیط مایع، از نمونه های مربوطه به ارلن مایه های ۲۵۰ میلی لیتری تلقیح و به مدت ۱۴ روز در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس و شدت تکان ۱۸۰ دور بر دقیقه قرار داده شدند. برای بررسی پرگنه های جدا شده و تخلیص نهایی آنها از محیط کشت ۲:۲ آگار استفاده گردید. ۰/۱ میلی لیتر از محلول غنی شده باکتری به محیط کشت جامد ۲:۲ منتقل و به صورت خطی کشت داده شد. دوره گرمخانه گذاری ۷-۱۰ روز در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس بود (۸).

ج) شناسایی باکتری: پس از انجام رنگ آمیزی گرم، برای بررسی اکسیداسیون آهن فرو و شناسایی اولیه باکتری های کمولیتوتروف، ارلن های ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط آهن دار تهیه و به میزان ۱۰ درصد مایع تلقیحی باکتری به آنها اضافه شد و در کنار شاهد منفی بدون باکتری به کار رفت. تمامی نمونه ها در گرمخانه هم زن دار (۱۸۰-۲۰۰ دور در دقیقه، ۳۰ درجه سلیسیوس) قرار داده شدند. یک ساعت پس از آغاز فرایند، اولین نمونه گیری به عنوان زمان صفر و پس از آن هر ۴ تا ۸ ساعت یک بار، نمونه گیری صورت گرفت. برای ارزیابی میزان یون فرو، از

(Biomining)، اکسیداسیون زیستی، بازیابی زیستی و استخراج زیستی نیز شناخته می شود. با این روش، کان سنگ با عیار پایین فلزاتی مانند طلا، نقره، مس، کبالت، نیکل و غیره از کانی بی ارزشی مانند پیریت قابل استحصال هستند (۳ و ۴).

در نهایت پس از انجام فروشویی زیستی، آزادسازی طلا برای انحلال در سیانور تسهیل خواهد شد. مسایل مختلف زیست محیطی مرتبط با سیانیداسیون طلا مانند عدم موفقیت این روش در فرآوری کانسنگ های مقاوم طلا و نیز غیر اقتصادی شدن این فرآیند برای فرآوری برخی کانسنگ های خاص به دلیل قیمت بالای سیانور، موجب شده است که تحقیقات وسیعی در زمینه جایگزینی دیگر مواد شیمیایی به جای سیانور انجام شود. هرچند نتایج این تحقیق نشان می دهد که جایگزین های مربوطه اغلب قابلیت ها و مزایای سیانور را ندارند، اما گاه در مورد کانسنگ های خاص می توانند بهتر از سیانور عمل کنند. علاوه بر این در برخی موارد از نظر آلاینده گی زیست محیطی شرایطی بدتر از این ماده دارند (۱). گیاهان مختلف، برخی بی مهرگان و بعضی از باکتری های موجود در خاک می توانند به طور طبیعی سیانور تولید کنند. البته سیانور به ندرت در مقادیر مضر برای محیط زیست، در طبیعت یافت می شود. توانایی تولید سیانید توسط انواعی از باکتری ها، قارچ ها و جلبک ها به اثبات رسیده است. هر چند نقش مشتقات با منشاء قارچی و جلبکی کاملاً مشخص نشده است. در مقابل توانایی تولید هیدروژن سیانید توسط باکتری ها و نقش و اثرات متقابل این متابولیت در ریزوسفر تا حدود زیادی مطالعه شده است. به نظر می رسد که تولید سیانید بیشتر در انحصار باکتری های متعلق به شاخه پروتئوباکتری ها مانند گونه کروموباکتریوم ویولاسئوم و بسیاری از گونه های سودوموناس به ویژه سودوموناس فلورسنس و سودوموناس آئروژینوزا است (۷-۵). هدف از این پژوهش ارزیابی استحصال دو مرحله ای میکروبی طلا از کانی سولفیدی موته گلپایگان بود.

مواد و روش ها

الف) نمونه گیری: نمونه های معدنی رامسر و مس سرچشمه

نیم مک فارلند اضافه شد. برای بررسی تأثیر غلظت یون فرو در اکسیداسیون زیستی کانی، از دو محیط کشت ۰/۹ کا (حاوی ۰/۴ گرم در لیتر یون فرو) و محیط کشت صفر کا فاقد یون فرو استفاده گردید. فلاسک‌ها به مدت ۷ روز در گرمخانه همزن دار با دمای ۳۰ درجه سلیسیوس و ۱۸۰ دور در دقیقه در کنار شاهد بدون باکتری قرار داده شدند (۸). تمامی آزمون‌ها، با سه بار تکرار انجام گرفت. یک ساعت پس از شروع فرایند (زمان صفر)، فلاسک‌ها از گرمخانه خارج و ۳۰ دقیقه در حالت سکون قرار گرفتند. از مایع رویی هر فلاسک برای بررسی میزان یون فرو استفاده شد. سپس هر ۲۴ ساعت، تغییرات غلظت یون فرو در هر یک از نمونه‌ها ارزیابی گردید. پس از گذشت یک هفته، مرحله اول فرایند به اتمام رسید و ارلن‌های حاوی نمونه، با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شدند. رسوبات باقی مانده با آب مقطر اسیدی سه بار شستشو و سپس خشک شدند و برای بررسی حضور پیریت در آنالیز پراش اشعه ایکس، به سازمان زمین‌شناسی کشور فرستاده شدند. همچنین برای استحصال طلا در مرحله دوم پژوهش نیز مورد استفاده قرار گرفتند. در مرحله دوم، برای بررسی میزان بازیابی طلا از سنگ معدنی، به ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری محتوی ۹۰ میلی لیتر محیط کشت مناسب، ۱۰ درصد حجمی از کدورت معادل نیم مک فارلند باکتری تلقیح شد. یک گرم سنگ معدنی حاصل از مرحله اول (صفر کا شامل رسوبات باقیمانده از فروشویی فاز اول در محیط فاقد آهن شامل فلاسک‌های شماره ۷۰ و ۹۰ و ۰/۹ کا شامل رسوبات باقی مانده از فروشویی فاز اول در محیط ۰/۹ کا شامل فلاسک‌های شماره ۷۹ و ۹۹) به محیط اضافه شد. برای بررسی اثر اسیدیتته در میزان تولید سیانید و بازیابی طلا، دو اسیدیتته ۷ (فلاسک شماره ۷۰ و ۷۹) و ۹ (فلاسک شماره ۹۰ و ۹۹) به عنوان متغیر آزمون در نظر گرفته شدند. میزان تولید یون سیانید، در مدت ۷ روز بررسی شد. تمامی فلاسک‌ها به مدت ۷ روز، در گرمخانه همزن دار با دمای ۳۰ درجه سلیسیوس و ۱۸۰ دور بر دقیقه در کنار شاهد قرار داده شدند. هر ۲۴ ساعت، فلاسک‌ها از دستگاه خارج و پس از مدت زمان ۳۰ دقیقه سکون، یک میلی لیتر از

روش رنگ سنجی با ارتوفنانترولین در ۵۰۹ نانومتر استفاده شد (۸).

د) جداسازی و غربال‌گری باکتری‌های تولیدکننده سیانید: مقدار ۱۰ گرم از نمونه‌های خاک به ۱۰۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰ دور بر دقیقه قرار داده شد. سپس با تهیه رقت‌های متوالی، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های 10^{-9} تا 10^{-6} در محیط تریپتیکاز سوی آگار به صورت سطحی کشت داده شد (۱۰). برای تکثیر سودوموناس فلورسنس سویه میگولا، از محیط کشت کینگ بی (King-B) (مرک، آلمان) استفاده شد. برای بررسی تولید هیدروژن سیانید توسط جدایه‌ها، کاغذهای صافی خیس‌انده شده در سدیم پیکرات (مخلوط پیکریک اسید ۰/۵٪ در سدیم کربنات ۲٪) در قسمت داخلی درب هر پلیت گذاشته و در پلیت‌ها با نوار پارافیلیم کاملاً بسته شدند تا از خروج گاز هیدروژن سیانید جلوگیری شود. پلیت‌ها به مدت ۱۲۰ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس نگهداری شدند (۱۱).

ه) سنجش میزان سیانید تولید شده: برای این منظور، از روش دروچیویو (Drochioiu) و همکاران در سال ۲۰۱۳ استفاده شد. مقدار ۱ میلی لیتر از محلول استاندارد یا نمونه مورد نظر به ۰/۵ میلی لیتر محلول نین هیدرین (۲۵۰ میلی گرم نین هیدرین در ۵۰ میلی لیتر سدیم کربنات ۲ درصد) اضافه گردید. سپس جذب نمونه در کنار شاهد در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. برای تهیه نمونه شاهد، ۱ میلی لیتر از محلول سدیم کربنات ۲ درصد به ۰/۵ میلی لیتر محلول نین هیدرین اضافه گردید (۱۲).

و) شناسایی سویه تولیدکننده سیانید: برای این منظور، از رنگ آمیزی گرم، آزمون‌های اکسیداسیون گلوکز، تخمیر گلوکز، حرکت، کاتالاز، اکسیداز، تولید سولفید هیدروژن، واکنش TSI، ذوب ژلاتین، متیل رد و ورژپرسکوئر استفاده شد.

ز) استحصال طلا: در این فرایند دو مرحله ای برای تسهیل آزاد سازی طلا، عملیات حذف پیریت از کانسنگ آغاز شد. بنابراین به فلاسک‌های ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۹۰ میلی لیتر محیط کشت، ۱ گرم سنگ معدنی، با اندازه مش ۱۰۰، و به میزان ۱۰ درصد حجمی باکتری اکسیدکننده آهن با کدورت برابر با

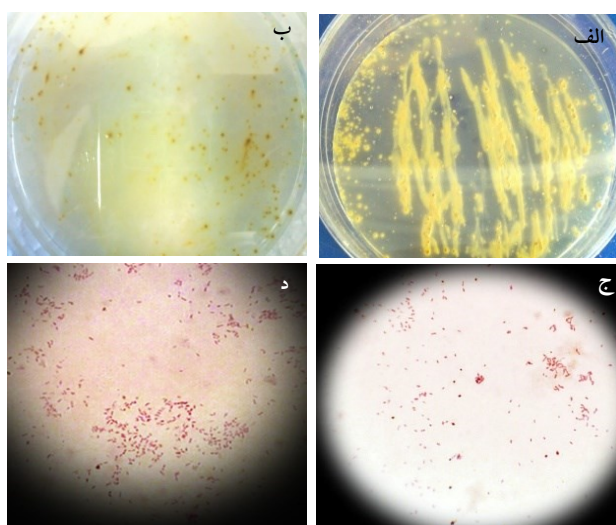
شدند (شکل ۱). رشد این باکتری ها در شرایط اسیدی (اسیدیته برابر با ۱/۸) و در محیط معدنی و اکسیداسیون یون فرو نشان داد که باکتری های یاد شده اسید دوست، اتوتروف و اکسید کننده آهن هستند. بر این اساس با توجه به رشد باکتری های K.O.C.B و F.O.C.B در محیط کشت مایع 9K و تغییر رنگ محیط، شکل و ساختار پرگنه در محیط جامد ۲:۲ و شکل میکروسکوپی (میله ای کوتاه گرم منفی، تکی یا دو تایی) احتمالاً اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس هستند. در شکل ۱، تصویر میکروسکوپی و رنگ آمیزی گرم این باکتری ها نشان داده شده است. نتایج سنجش قدرت اکسیداسیون یون فرو نشان داد که باکتری K.O.C.B در مدت سه تا چهار روز میزان این یون را از ۰/۶۸ به ۰/۰۱۴ میلی گرم در لیتر رسانده است و قدرت بالای در اکسیداسیون این یون دارد. از طرفی باکتری F.O.C.B توانایی کمتری در اکسیداسیون یون فرو داشت. به طوری که این یون را از ۰/۶۹ به ۰/۴ میلی گرم در لیتر کاهش داد. بنابراین K.O.C.B برای انجام فروشویی زیستی در فلاسک انتخاب شد.

ب) جداسازی باکتری های تولید کننده هیدروژن سیانید: در مجموع، از نمونه های خاک سد باطله معدن موته ۲۴ باکتری و از خاک های جنگلی و زراعی تنکابن ۲۶ باکتری جداسازی و در محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار تخلیص شد. این باکتری ها بر اساس محل جداسازی، به ترتیب به صورت M₁₋₂₄ (موته) و T₁₋₂₆ (تنکابن) نامگذاری شدند. ارزیابی اولیه تولید هیدروژن سیانید در باکتری های جدا شده، ۱۱ جدایه را از نظر تولید هیدروژن سیانید، مثبت ارزیابی نمود. مثبت بودن جدایه ها از نظر تولید هیدروژن سیانید با تغییر رنگ کاغذ صافی از زرد روشن به قهوه ای مشخص شد (شکل ۲). شدت رنگ کاغذ صافی، تعیین کننده مقدار ماده تولید شده است. دسته بندی جدایه ها بر اساس میزان تولید سیانید هیدروژن و شدت رنگ تولید شده، در جدول ۱ مشاهده می شود. بر این اساس، بیشترین شدت رنگ تولید شده که نشان دهنده بیشترین میزان تولید هیدروژن سیانید است، توسط باکتری T₁₇ حاصل شد. از این رو باکتری یاد شده در مرحله دوم فرایند فروشویی

مایع رویی برداشت و از نظر مقدار سیانید تولیدی ارزیابی شد (۱۲). در پایان آزمون، مایع رومانند هر فلاسک ساتریفیوژ و با استفاده از صافی ۰/۲ میکرون پالایش گردید. این محلول برای بررسی میزان طلای محلول شده با سیانید، در مجتمع آزمایشگاهی فناوری نانو کفا، تحت آنالیز ICP (Inductively Coupled Plasma) قرار گرفت و رسوبات باقیمانده نیز پس از خشک شدن از نظر مقدار طلا با آنالیز ICP ارزیابی شدند.

یافته ها

الف) جداسازی و شناسایی باکتری های کمولیتوتروف اکسید کننده آهن: محیط کشت ۹ کا حاوی نمونه های رامسر و کرمان پس از گذشت ۷ تا ۱۰ روز از نظر حضور باکتری های اکسید کننده آهن مثبت ارزیابی شدند. به طوری که از سبز روشن و شفاف به قهوه ای متمایل به قرمز تغییر رنگ دادند. پرگنه های این باکتری بر روی محیط جامد ۲:۲ پس از ۴ تا ۷ روز، گرد با قطر ۱ میلی متر و به رنگ قهوه ای آجری با هاله زرد رنگ دیده شد. یک باکتری اکسید کننده آهن از مجتمع مس سرچشمه و یک باکتری اکسید کننده آهن از لجن آب معدنی رامسر جداسازی گردید که به ترتیب K.O.C.B و F.O.C.B نامیده



شکل ۱: سویه های جداسازی شده اکسیدکننده آهن. پرگنه بر روی محیط ۲:۲ جامد. الف) K.O.C.B، ب) F.O.C.B، رنگ آمیزی گرم: ج) K.O.C.B، د) F.O.C.B

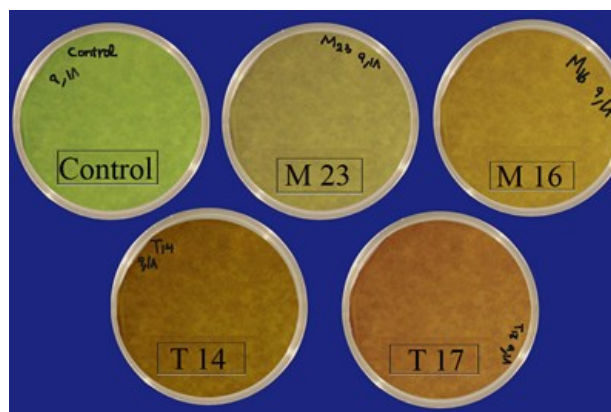
شد که در جدول ۲ برخی از آنها مشخص شده است. (ج) ارزیابی توانایی باکتری در استحصال طلا از سنگ طلائی موته - مرحله اول:

۱- تغییرات اسیدیته در محیط کشت $0.9K$ (۰/۹ کا) و صفر کا در مدت ۷ روز فروشویی زیستی کانی: نتایج تغییرات اسیدیته در محیط ۰/۹ کا نشان داد که اسیدیته روز صفر ۱/۸ است. در روز اول کاهش اسیدیته محیط کشت مشاهده شد و سپس افزایش ناگهانی اسیدیته در مورد هر دو باکتری K.O.C.B. و سویه استاندارد از روز دوم آغاز و تقریباً تا روز ششم ادامه یافت. بیشترین میزان کاهش pH (۱/۵) در مورد باکتری K.O.C.B. و در روز ششم اتفاق افتاد. این درحالی است که در نمونه شاهد، تغییر محسوسی در اسیدیته طی ۷ روز، مشاهده نشد. در محیط صفر کا فاقد آهن، pH روز صفر ۱/۸ بود. حداکثر رشد باکتری ها و کاهش pH محیط در مقایسه با شاهد، در مورد باکتری K.O.C.B. در روز چهارم اتفاق افتاد و پس از آن تا روز هفتم با تغییرات نوسانی همراه بود. در مورد سویه استاندارد، کاهش ناگهانی در pH در روز سوم اتفاق افتاد و تا روز هفتم ادامه یافت. با این وجود در نمونه شاهد پس از روز اول، تغییر محسوسی در میزان اسیدیته مشاهده نشد.

۲- تغییرات یون فرو در محیط کشت ۰/۹ کا و صفر کا در مدت ۷ روز فروشویی زیستی کانی: تغییرات یون فرو در محیط ۰/۹ کا در نمودار ۱ آورده شده است. کاهش میزان یون فرو در مورد هر دو باکتری استاندارد و K.O.C.B. از روز دوم شروع شده و تا روز چهارم ادامه داشت. بیشترین میزان کاهش یون فرو در روز چهارم اتفاق افتاد و از حدود ۱۶ میلی گرم در لیتر

جدول ۲: برخی آزمون های ریخت شناسی و فیزیولوژیک سویه T17.

نتیجه	ویژگی
مبله ای کوتاه گرم منفی	شکل میکروسکوپی
+	حرکت
+	کانالاز
+	اکسیداز
قرمز / قرمز	واکنش در محیط تربیل شوگر آبرون آگار
-/+	تخمیر / اکسیداسیون گلوکز
+	ژلاتین
-/-	MR-VP

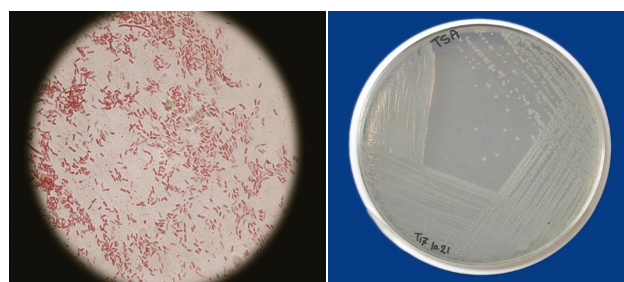


شکل ۲: ارزیابی تولید سیانید هیدروژن توسط باکتری ها بر اساس تغییر رنگ کاغذ صافی آغشته به معرف پیکرات قلیایی.

جدول ۱: مقایسه قدرت تولید سیانید هیدروژن توسط جدایه ها بر اساس شدت رنگ تولید شده.

نام اختصاری جدایه	رنگ تولید شده	شدت رنگ تولید شده
M23	زرد تیره	+
M8	زرد تیره	+
M16	نارنجی	++
M5	نارنجی	++
M13	زرد تیره	+
T15	نارنجی	++
T18	نارنجی	++
T2	زرد تیره	+
T14	قهوه ای	+++
T17	قرمز آجری	++++
T15	نارنجی	++

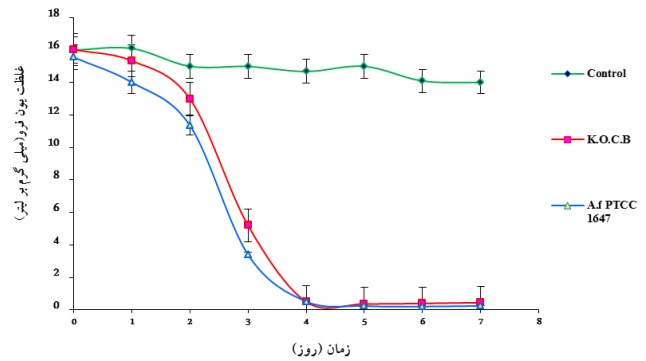
زیستی، برای استحصال طلا از سنگ معدن انتخاب شد. شکل ۳، پرگنه های باکتری T17 را بر روی محیط کشت جامد تربیتیکاز سوی آگار نشان می دهد. سویه T17 با آزمون های رایج میکروب شناسی به عنوان جنس سودوموناس شناسایی



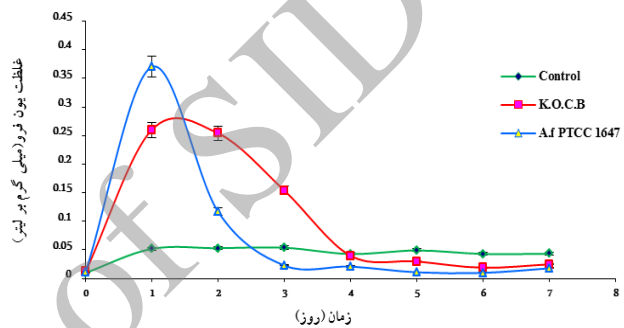
شکل ۳: سمت راست) پرگنه های باکتری T17 بر روی محیط کشت جامد TSA، سمت چپ) رنگ آمیزی گرم باکتری T17.

در روز صفر به ۰/۵۲ میلی گرم در لیتر رسید. این میزان تقریباً در هر دو باکتری مشابه بود. در نمونه شاهد، کاهش معنی داری در میزان یون فرو مشاهده نشد. در محیط صفر کا فاقد آهن، در روز اول، افزایش غلظت یون فرو در نمونه های حاوی باکتری در مقایسه با نمونه کنترل، مشاهده شد. کاهش شدید میزان آهن فرو، در نتیجه افزایش حداکثری تعداد K.O.C.B. در روز دوم اتفاق افتاد. غلظت آهن فرو از ۰/۲۵۴ میلی گرم در لیتر، در روز چهارم به کمترین مقدار خود یعنی ۰/۰۴ میلی گرم در لیتر رسید و پس از آن با افت و خیز اندکی همراه بود. در مورد سویه استاندارد، این کاهش از روز اول (۰/۳۷ میلی گرم در لیتر) آغاز شد و تا روز پنجم (۰/۱۱ میلی گرم در لیتر) ادامه یافت. اما پس از آن تا روز هفتم مجدداً به تدریج با افزایش اندکی روبرو بود. در نمونه شاهد تغییر معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۲).

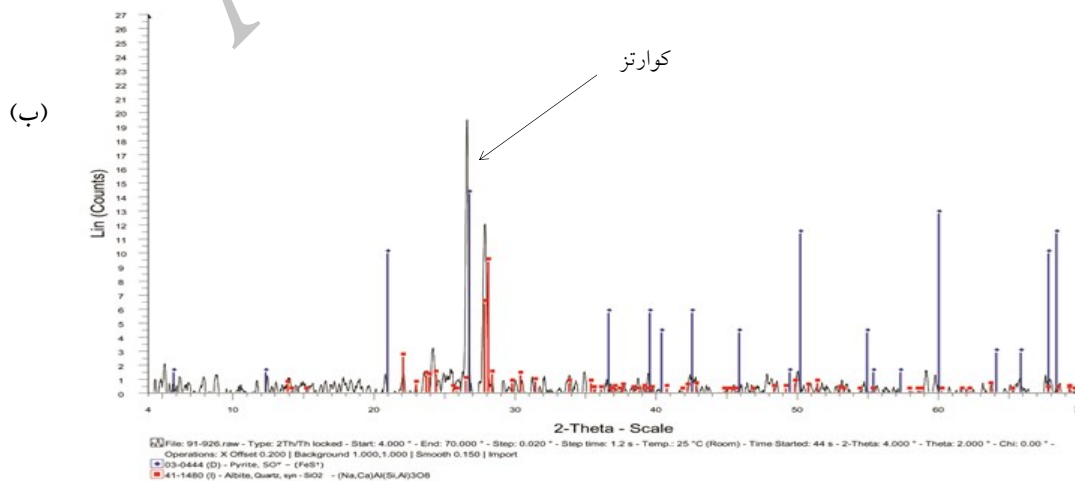
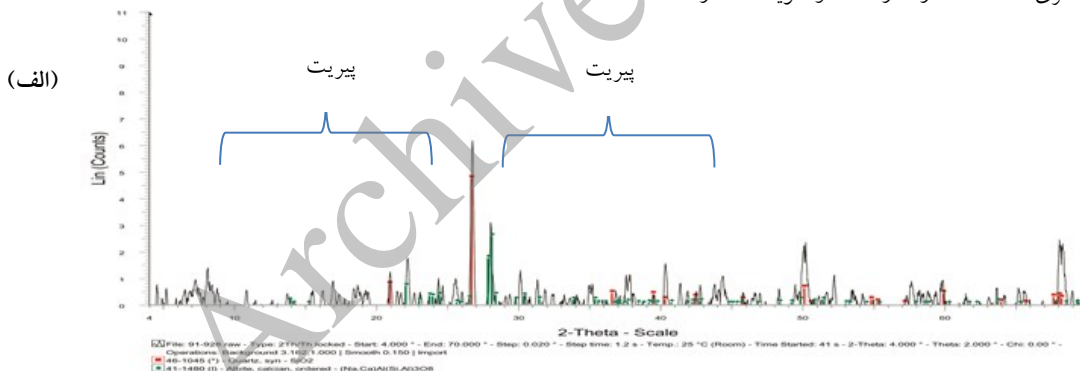
۳- بررسی میزان حذف پیریت: شکل ۴ نتیجه آنالیز نسبی پراش اشعه ایکس سنگ معدن موته پس از مدت ۷ روز فروشویی در



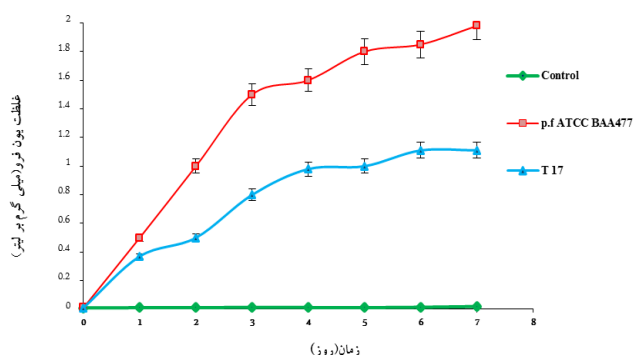
نمودار ۱: تغییرات یون فرو در محیط ۰/۹ کا در مدت ۷ روز فروشویی کانی با استفاده از باکتری K.O.C.B. در کنار شاهد و سویه استاندارد.



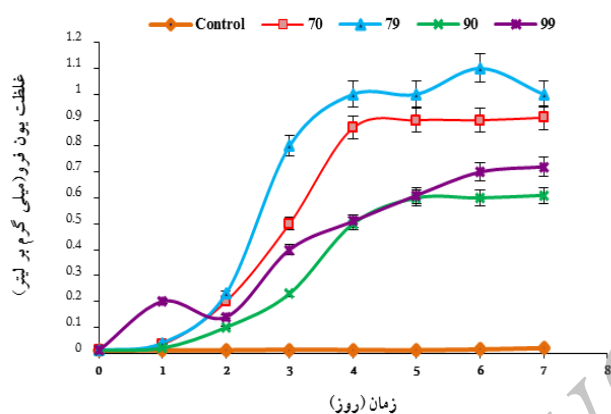
نمودار ۲: تغییرات یون فرو در محیط صفر کا، در مدت ۷ روز فروشویی کانی با استفاده از باکتری K.O.C.B. در کنار شاهد و سویه استاندارد.



شکل ۴: نتایج آنالیز پراش اشعه ایکس کانی سولفیدی موته. الف) قبل و ب) پس از مرحله اول فروشویی زبستی.



نمودار ۳: میزان تولید سیانید توسط باکتری های سیانوژن در مقایسه با شاهد در مدت ۷ روز فروشویی زیستی در مرحله دوم.



نمودار ۴: میزان تولید سیانید توسط T17 در محیط King B در شرایط متغیر از نظر pH و نوع کانی طی ۷ روز فروشویی زیستی مرحله دوم.

جدول ۳: نتایج آنالیز ICP نمونه مایع رویی محیط مایع King B پس از ۷ روز فروشویی با باکتری T17 در پایان مرحله دوم.

کد نمونه	Au(mg ⁻¹)	Ag(mg ⁻¹)	Fe(mg ⁻¹)
۷۹	۰/۰۲۳	≤۰/۰۱	۵/۱۰۴
۷۰	۰/۰۰۶	≤۰/۰۱	۶/۶۰۹
۹۰	≤۰/۰۰۲	≤۰/۰۱	۲/۱۳۷
۹۹	≤۰/۰۰۲	≤۰/۰۱	۳/۳۳۶

جدول ۴: نتایج آنالیز ICP رسوبات فروشویی شده در محیط مایع King B پس از ۷ روز فروشویی با باکتری T17 در پایان مرحله دوم.

کد نمونه	Au(mg ⁻¹)	Ag(mg ⁻¹)	Fe(mg ⁻¹)
۷۹	≤۰/۱	≤۰/۵	۱۳۰۶۹۹
۷۰	۰/۲	≤۰/۵	۹۸۰۲۳
۹۰	۰/۳	≤۰/۵	۷۵۹۵۱
۹۹	۰/۳	≤۰/۵	۱۴۰۲۱۹
شاهد	۰/۵	≤۰/۵	۸۱۷۱۰

فلاسک لرزان، در محیط صفر کا، قبل و پس از فروشویی زیستی در مرحله اول را نشان می دهد. نتایج حاکی از فروشویی زیستی پیریت و حذف تقریبی این کانی از سنگ معدن تحت اثر باکتری های جدا شده در این پژوهش است. (د) ارزیابی توانایی باکتری در استحصال طلا از سنگ طلای موته - مرحله دوم:

۱- بررسی میزان تولید یون سیانید توسط باکتری های سیانوژن: بر اساس نتایج، در روز اول، افزایش در میزان سیانید در فلاسک های حاوی T17 و سویه استاندارد، در مقایسه با کنترل، مشاهده شد. این روند افزایش تا روز هفتم ادامه یافت. با این وجود مقدار سیانید تولید شده در سویه استاندارد در مقایسه با سویه T17 بیشتر و روند افزایش سریع تر بود. به طوری که میزان سیانید تولید شده از ۰/۵ میلی گرم در لیتر در روز اول به ۱/۹۸ میلی گرم در لیتر در روز هفتم رسید. این در حالی است که در محیط کشت حاوی باکتری T17، میزان سیانید تولید شده از ۰/۳۷ میلی گرم در لیتر در روز اول به ۱/۱۱ میلی گرم در لیتر در روز ششم رسید. در نمونه شاهد، تغییری در میزان یون سیانید مشاهده نشد (نمودار ۳).

۲- بررسی اثر اسیدیته بر میزان تولید سیانید: همانطور که در نمودار ۴ نشان داده شده است، از روز اول تا روز چهارم، میزان تولید یون سیانید در همه فلاسک ها با افزایش زمان افزایش یافت. به جز فلاسک ۹۹، بقیه فلاسک ها پس از روز پنجم افزایش چشمگیری در میزان تولید سیانید نداشتند. بر اساس نتایج حاصل، در فلاسک ۷۹، بیشترین افزایش در میزان تولید یون سیانید در روز ششم و معادل ۱/۱ میلی گرم در لیتر مشاهده شد.

۵) آنالیز ICP: پس از انجام فروشویی در مرحله دوم، بررسی مقدار طلای موجود در مایع رویی کشت مایع و رسوبات باقی مانده در فلاسک ها با استفاده از آنالیز ICP انجام شد. نتایج این آنالیز در جداول ۳ و ۴ آورده شده است. بر اساس نتایج حاصل از آنالیز ICP، بیشترین میزان طلا در فاز مایع به ترتیب در نمونه های ۷۹ و ۷۰ مشاهده شد. فلاسک های ۹۰ و ۹۹ با کمترین میزان احتمالی حضور طلا در فاز مایع (۰/۰۰۲ میلی

بالا حساس هستند. این امر می تواند به این دلیل باشد که مولکول های قند درون عامل ژل، تحت هیدرولیز اسیدی واقع می شوند و قند آزاد شده از رشد سلول جلوگیری می کنند.

این مطلب در کار بسیاری از محققان مانند داس (Das) و همکاران در سال ۱۹۸۹، راهب (Raheb) و همکاران در سال ۲۰۰۷ بیان شده است (۱۵ و ۱۶). همچنین خان (Khan) همکاران در مطالعه خود استفاده از محیط کشت Gelrite-FeSO₄ را در جداسازی اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس موثر اعلام نمودند (۱۷). باکتری اکسید کننده آهن و گوگرد جدا شده از مجتمع مس سرچشمه کرمان (K.O.C.B) پس از مدت زمان ۴ تا ۷ روز در محیط مایع 9K رشد نمود. این در حالی است که در بیشتر تحقیقات انجام گرفته مانند زیلویی (Ziloui)، منافی (Manafi) و سالاری (Salari) متوسط زمان رشد باکتری های اکسید کننده آهن و گوگرد ۱۰ تا ۱۴ روز گزارش گردید (۲۰-۱۸). این مطلب نشان می دهد که گونه شناسایی شده در این مطالعه دارای سرعت رشد بالایی می باشد. این باکتری از نظر ریخت شناسی و خصوصیات فیزیولوژیکی کاملاً مشابه با اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس های جدا شده توسط سایر محققین است. این باکتری در محیط دارای آهن، با اکسیده کردن آن، رنگ سبز محیط را به قرمز قهوه ای تبدیل می کند.

غلظت آهن فرو در محیط، عامل مهم اثر گذار بر میزان حذف در فرایندهای مختلف است. در حضور اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس میزان واکنش تولید Fe³⁺ به طور قابل ملاحظه ای سرعت می یابد و سپس یون فریک حاصله پیریت را اکسید می کند. در مطالعه حاضر در باکتری K.O.C.B، افزایش اسیدیته محیط و کاهش شدید یون فرو در مقایسه با شاهد در محیط کشت ۰/۹ کا در روز دوم شروع و تا روز چهارم ادامه داشت. این امر نشان دهنده حداکثر رشد باکتری و فاز لگاریتمی است. در حالی که این تغییر در محیط کشت صفر کا فاقد آهن، در روز چهارم اتفاق افتاد و پس از آن تا روز هفتم با تغییرات نوسانی همراه بود. دلیل این تفاوت در فاز تاخیری را می توان به میزان غلظت یون فرو موجود در محیط پایه نسبت داد.

گرم در لیتر) در جایگاه بعدی قرار داشتند. از آنجایی که کمترین میزان طلای باقیمانده در رسوبات، به ترتیب در فلاسک های ۷۹ (به میزان ۰/۱ میلی گرم در لیتر)، ۷۰ (۰/۲ میلی گرم در لیتر)، ۹۰ و ۹۹ (۰/۳ میلی گرم در لیتر) به دست آمد، می توان نتیجه گرفت که بهترین فعالیت باکتری و بالاترین میزان تولید سیانید که منجر به انحلال طلا و انتقال آن از فاز جامد به فاز مایع شده است، در محیط با اسیدیته برابر با ۷ صورت گرفته است. همچنین کانی فروشویی شده حاصل از محیط ۰/۹ کا، در فاز دوم فروشویی نتایج بهتری را نسبت به کانی صفر کا نشان داد.

بحث

سنگ معدن موته یکی از سنگ های معدنی طلا دار ایران است. این عنصر گران بها در کانی های سولفیدی آن محبوس شده است. کاهش میزان گوگرد در این کانسنگ که به دنبال فروشویی میکروبی حاصل می شود، به عریان سازی طلا در ساختار کریستالی آن کمک می کند. استفاده از باکتری های سیانوژن، موجب کاهش مصرف ترکیبات شیمیایی سیانید شده و با انحلال این فلز به استخراج آن کمک می نمایند.

برای جداسازی باکتری کمولیتوتروفی که قابلیت حذف پیریت از طلا را داشته باشد، بهترین مکان، آب های معدنی و لجن های اطراف سنگ معدن است. زیرا در چنین محیط هایی شرایط ویژه اسیدیته بالا و دمای مناسب برای رشد و تکثیر این باکتری ها مهیا می باشد. بنابراین برای جداسازی باکتری های مناسب، از مکان های مختلف مانند مجتمع طلای موته و مس سرچشمه و آب های معدنی رامسر نمونه گیری انجام شد. نتایج تحقیقات هاردینگ (Harding) و سینگلتون (Singleton) مبنی بر حضور باکتری های اکسید کننده آهن و گوگرد در خاک، گل و لای و لجن چشمه های گوگردی این مطلب را تأیید می کند (۱۳ و ۱۴). مطالعه بر روی باکتری های کمواتوتروف با مشکلات زیادی همراه است. زیرا در محیط جامد به سختی رشد می کنند و نسبت به مقادیر بسیار کم مواد آلی و قندهای موجود در مواد قوام دهنده مانند آگار و آگاروز با خلوص بسیار

فروشویی می شود. بنابراین کاهش pH محیط و افزایش پتانسیل احیا نشان دهنده فعالیت باکتری است.

در محیط کشت ۰/۹ کا به طور میانگین اسیدیته روز صفر، حدوداً ۱/۸ بود و در روز اول افزایش pH محیط کشت مشاهده شد. اما افزایش ناگهانی اسیدیته که نشان دهنده رشد باکتری ها و شروع فاز لگاریتمی است، در مورد دو باکتری K.O.C.B از روز دوم آغاز شده و تقریباً تا روز ششم ادامه داشت. بیشترین میزان کاهش pH (۱/۵) در مورد باکتری K.O.C.B و در روز ششم اتفاق افتاد. این در حالی است که در نمونه شاهد، تغییر محسوسی در اسیدیته در مدت ۷ روز، مشاهده نشد. این نتیجه با نتایج حاصل از پژوهش الزکی و همکاران هم خوانی دارد.

متابولیت های ضد میکروبی مانند سیدروفور، هیدروژن سیانید و پروتاز به عنوان عوامل مهم در کنترل زیستی و کاهش بسیاری از بیماری های گیاهی شناخته شده اند. تعدادی زیادی از این ترکیبات بوسیله سودوموناس فلورسنس تولید می شود. همچنین تأثیر مثبت این باکتری بر روی سایر میکروارگانیسم های مفید خاک و میکوریزا و همچنین کمک به قدرت جذب مواد معدنی بخصوص فسفر و ازت توسط گیاه از دیگر مکانیسم های مؤثر در افزایش رشد گیاه است. از این رو منطقی به نظر می رسد که بتوان باکتری های تولید کننده سیانید هیدروژن، به ویژه سودوموناس فلورسنس را از ریزوسفر جداسازی نمود (۲۵).

احمد زاده (Ahmadzadeh) و همکاران در سال ۲۰۰۴، تولید برخی از متابولیت های ضد میکروبی را به وسیله تعدادی از سودوموناس های فلورسنس بررسی کردند. در این پژوهش از بین ۱۹ باکتری جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان، ۱۰ جدایه سودوموناس فلورسنس، قادر به تولید سیانید هیدروژن بودند (۲۶). در پژوهش حاضر ۲۶ جدایه از خاک های نواحی جنگلی و زراعی ناحیه تنکابن جداسازی گردید. از این میان ۱۱ سویه قادر به تولید هیدروژن سیانید بودند. باکتری T₁₇ که از ریزوسفر جنگلی تنکابن جدا شد، بیشترین میزان تولید سیانید هیدروژن را نشان داد و در مرحله دوم فروشویی زیستی استفاده شد.

نتایج شناسایی اولیه نشان داد که این باکتری به احتمال قوی سودوموناس است. در بسیاری از پژوهش ها مانند مطالعه ویلنر

در این مطالعه مشاهده شد که سرعت رسیدن باکتری به حداکثر رشد، در محیط کشت ۰/۹ کا، از محیط فاقد آهن بیشتر است. بر اساس مطالعات نیاوور (Nyavor) و لیو (Liu) غلظت کم یون فریک، جذب اکسیژن توسط اسیدی تیوباسیلوس فروکسیدانس را افزایش می دهد. در غلظت بالا، با رقابت یون فریک، اکسیداسیون آهن فرو محدود می شود و در غیاب سایر منابع انرژی، حضور محلول فریک رشد باکتری را محدود می کند (۲۱ و ۲۲).

زیلوی و همکاران در سال ۲۰۰۳ جدایه های مناطق مختلف را برای بررسی توان بیولیچینگ آنها در فروشویی زیستی مس مقایسه کردند. نتایج آنها نشان داد که میزان غلظت اولیه آهن نقش تعیین کننده در واکنش استخراج مس دارد (۱۸). از آنجایی که سنگ معدن موته حاوی مقادیر زیادی آهن است (۳۴/۶۶٪)، احتمالاً با شروع تجزیه سنگ معدن و اکسیداسیون پیریت موجود در آن توسط یون فریک، مقدار یون های آهن افزایش می یابد. از سویی در محیط فاقد آهن، مقدار آهن مورد نیاز در محیط، کمتر از مقدار لازم برای شروع سریع فاز لگاریتمی است. در نتیجه نسبت به محیط ۰/۹ کا، از نظر سرعت شروع فاز لگاریتمی، در مرتبه دوم قرار دارد. این نتیجه مطابق با نتایج حاصل از پژوهش های نیاوور، لیو و زیلوی است. اسیدیته محیط اثر مشخصی بر فعالیت و رشد اسیدی تیوباسیلوس فروکسیدانس دارد. آمارو (Amaro) و همکاران در سال ۱۹۹۱ گزارش کردند که این باکتری به تغییرات اسیدیته خارجی با تنظیم سنتز چند ترکیب سلولی پاسخ می دهد (۲۳).

الزکی (Elzky) و همکاران در سال ۱۹۹۵ بیان کردند که افزایش pH ابتدایی با فاز رشد باکتری مرتبط است (۲۴). در این حالت متابولیسم میکروارگانیسم ها با حالت های محیط مجدداً سامان دهی می شود. افزایش pH محیط در اثر آزاد شدن مواد قلیایی ناشی از اثر باکتری بر کانسنگ طلا پدید می آید.

زیرا باکتری ها با فعالیت اکسیدکنندگی خود موجب آزاد شدن این مواد در محیط می شوند و به دنبال آن افزایش pH محیط اتفاق می افتد. در ادامه فرایند، شرایط اسیدی ناشی از اکسیداسیون آهن فرو، سبب افزایش اسیدیته محیط در سیستم

کردند. نتایج آنها نشان داد که روش ICP از دقت بالاتری در تشخیص یون طلا نسبت به روش دیگر برخوردار است. اما برای تشخیص کانی هایی مانند پیریت و آرسنوپیریت، تکنیک پراش اشعه ایکس مناسب تر است (۳۰). در پژوهش حاضر نیز از دو روش یاد شده، به منظور آنالیز دقیق نمونه ها استفاده شد.

نتیجه گیری

با توجه به اینکه سنگ معدن موته یکی از سنگ های معدنی طلا دار ایران اتلاق می شود و این عنصر در کانی های سولفیدی آن محبوس است، کاهش میزان گوگرد در این سنگ معدن که به دنبال فروشویی میکروبی حاصل می شود، می تواند با مساعد کردن شرایط برای استحصال طلا، به آزاد شدن این عنصر در کانی کمک کند. همچنین استفاده از باکتری های سیانژن در بازیابی طلا، موجب کاهش مصرف ترکیبات شیمیایی سیانید شده و این فرایند را به یک فرایند کاملاً میکروبی و دوست دار محیط تبدیل می کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهش و فناوری و پرسنل آزمایشگاه تحقیقات میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

(Willner) و همکاران در سال ۲۰۱۳، فرامرزی (Faramarzi) و همکاران در سال ۲۰۰۸ و تای (Tay) و همکاران در سال ۲۰۱۳ از ضایعات الکترونیکی، به منظور بازیابی طلا استفاده شده است (۲۷-۲۹).

همچنین، میکروارگانسم های متداول برای بازیابی طلا بر اساس نتایج حاصل از پژوهش های یاد شده، سودوموناس فلورسنس و کروماتیوم ویولاسئوم بودند. از آنجایی که میزان طلا در ضایعات الکترونیکی بالاتر از سنگ معدن است، این نوع ماده برای مطالعات میکروبی بازیابی طلا مناسب تر خواهد بود. با این وجود در پژوهش حاضر برای اولین بار، به دلیل عدم دسترسی به چنین ضایعاتی از یک فرایند دو مرحله ای برای بازیابی کامل طلا از سنگ معدنی موته استفاده شد.

به علت میزان پایین طلا در سنگ معدن (در حد میلی گرم بر کیلوگرم)، آنالیز مقدار دقیق طلای بازیابی شده بسیار دشوار بود. در پژوهش حاضر نیز از بین سویه های جدا شده، باکتری T₁₇، که نوعی سودوموناس می باشد، بالاترین قدرت تولید سیانید را داشت و در فروشویی زیستی در مقابل سویه استاندارد (سودوموناس فلورسنس سویه میگولا ATCCBB774) از قدرت کمتر اما قابل قبولی برخوردار بود. فانتوزی (Fantauzzi) و همکاران در سال ۲۰۱۱ از روش های پراش اشعه ایکس و ICP برای بررسی فروشویی زیستی کانی سولفیدی پیریت و آرسنو پیریت طلا توسط اسیدی تیویاسیلوس فراکسیدانس استفاده

References

1. Cummings S, Baxter J. The current and future applications of microorganism in the bioremediation of cyanide contamination. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2006; 90: 1-17.
2. Prabhakar S, Bhaskar Raju G, Subba Rao S, Vijaya Kumar T. Flotation and cyanidation of a semi-refractory gold ore. *Europe J Mineral Process Environ Protec*. 2004; 4(1): 36-42.
3. Mohseni M. 1995. Isolation and identification of pyrite degrading microorganism's activity from some region in Iran. M.Sc. thesis. College of Science. Tehran University. [In Persian]
4. Acevedo F, Gentina JC, Garcia N. CO₂ supply in the biooxidation of an enargite-pyrite gold concentrate. *Biotechnol Lett*. 1998; 20(3): 257-259.

5. Abdollahi MJ, Karimpour MH, Kheradmand A, Saki A. Petrology and geochemistry of rock hosted Muteh gold mine Isfahan. J Sci Shahid Chamran Uni. 2008; 20: 39-53. [In Persian]
6. Acevedo F. Bio hydrometallurgy. Biotechnol. 2000; 10: 1-7.
7. Knowles C. Microorganisms and cyanide. Biol Rev. 1976; (40): 652-680.
8. Meybodi SM, Nouhi AS, Ghaemi N, Mazaheri Assadi M, Hashemi SR, Ghomi MR. Isolation and characterization of iron oxidizing "Leptospirillum like" bacterium, from Zirab coal mine & evaluation of Bama sulfidic ore leaching by this strain. Iran J Biological Sci. 2007. 2(1): 9-27.
9. Silverman MP, Lundgren DG. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cellular yields. J Bacteriol. 1959; 77: 642-647.
10. Brandl H, Lehmann S, Faramarzi MA, Martinelli D. Biomobilization of silver, gold, and platinum from solid waste materials by HCN-forming microorganisms. Hydrometallurgy. 2008; 94(1-4): 14-17.
11. Alstrom S. Factors associated with detrimental effects of rhizobacteria on plant growth. Plant Soil. 1987; 102: 3-9.
12. Surleva A, Zaharia M, Ion L, Gradinaru RV, Drochioiu G, Mangalagiu I. Ninhydrin-based spectrophotometric assays of trace cyanide. Acta Chemica IASI. 2013; 21: 57-70.
13. Harding E, Holbert E. Enrichment and isolation of *Thiobacillus*. Copyright: Lynda Harding, California state University. 2000.
14. Singleton P. Bacteria: In: Biology biotechnology and medicine. 6th Edition. Chi Chester, West Sussex PO19 8SQ. England; 2005
15. Das A, Modak JM, Natarajan KA. Surface chemical studies of *Thiobacillus ferrooxidans* with reference to copper tolerance. Antonie van Leeuwenhoek. 1998; 73(3): 215-222.
16. Raheb J, Khoshroo H, Azimi A, Nasernejad B, Sanati MH, Naghdi S, Arabnezhad M. Isolation and characterization of a new *Acidithiobacillus ferrooxidans* from the Aliabad Copper Mine in Yazd using 16s-23s spacer gene nucleotide sequencing method. J Sci, I Rep Iran. 2007; 18(3): 209-213.
17. Khan S, Haq F. Isolation and characterization of acidophilic sulphur and iron oxidizing *Acidithiobacillus ferrooxidans* from Black Shale. Int J Biosci. 2012; 2(2): 85-94.
18. Ziloui H. 2001. Isolation and identification of mesophilic bacteria involved in biological leaching process of sulfide ore and survey of kinetic parameters. M.Sc. thesis in Biotechnology. Trbiat Modaress University. [In Persian]
19. Zandvakili S, Ranjbar M, Manafi Z. 2005. Evaluate the performance of microbial extract of copper from waste Sarcheshmeh copper complex. 4th National Conference on Biotechnology of the Islamic Republic of Iran. Kerman. [In Persian]
20. Salari H, Mozafari H, Torkzadeh M, Moghtader M. Pyrite oxidation by using *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* in pure and mixed cultures. Biodivers Conserv. 2008; 2: 115-123.

21. Nyavor K, Egiebor NO, Fedorak PM. The effect of ferric ion on the rate of ferrous oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl Microbiol Biotechnol. 1996; 45(5): 688-691.
22. Liu MS, Branion RMR, Duncan DW. The effects of ferrous iron, dissolved oxygen, and inert solids concentrations on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. Can J Chem Eng. 1988; 66(3): 445-451.
23. Amaro AM, Chamorro DO, Seeger M, Arredondo RE, Peirano IR, Jerez CA. Effect of external pH perturbations on in vivo protein synthesis by the acidophilic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. J Bacteriol. 1991; 173(2): 910-915.
24. Elzeky M, Attia YA. Effect of bacterial adaptation on kinetics and mechanisms of bioleaching ferrous sulfides. Chem Eng J. 1995; 56(2): 115-125.
25. Jayaprakashvel M, Mutheshilan R, Srinivasan R, Jaffar Hussain A. Hydrogen cyanide mediated biocontrol potential of *Pseudomonas* Sp. AMET1055 isolated from the rhizosphere of Coastal Sand Dune Vegetation. Advanced Biotech. 2010; 9(10): 39-42.
26. Ahmadzadeh M, Sharifi Tehrani A, Talebi Jahromi K. Survey of antimicrobial metabolites production by some of *Pseudomonas fluorescens*. Agr Sci Iran. 2004; 35(3): 731-739. [In Persian]
27. Willner J, Fornalczyk A. Extraction of metals from electronic waste by bacterial leaching. Environ Protec Engineer. 2013; 39(1): 197-208.
28. Faramarzi MA, Brandl H. Mobilization of copper and nickel from coins by HCN-forming *Pseudomonas plecoglossicida* and *Chromobacterium violaceum*. J Biotechnol. 2008; 136: S703.
29. Tay SB, Natarajan G, bin Abdul Rahim MN, Tan HT, Chung MCM, Ting YP, Yew WS. Enhancing gold recovery from electronic waste via lixiviant metabolic engineering in *Chromobacterium violaceum*. Scientific Reports. 2013; 1: 3.
30. Fantauzzi M, Licheri C, Atzei D, Loi G, Elsener B, Rossi G, Rossi A. Arsenopyrite and pyrite bioleaching: evidence from XPS, XRD and ICP techniques. Analytic Bioanalytic Chem. 2011; 401(7): 2237-2248.



Evaluation of diphasic microbial gold extraction from Muteh sulfidic ore, Golpayegan

Seyed Mansour Meybodi¹, Maryam Asghar Heidari², Masoud Mobini²

¹Assistant Professor, Department of Biology, Tonekabon branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

²MS.c., Young Researchers and Elite Club, Tonekabon branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Since biological methods for metal extraction, such as bioleaching, are environmental friendly, there are high demands to be replaced with the chemical and physical methods. The aim of this study was to extract gold from Muteh sulfide ore by two microbial phases.

Materials & Methods: Isolation of iron oxidizing bacteria was performed by adding mineral samples into 9k medium. At the first phase of the mineral bioleaching process, the ores were cut into different diameters, and after adding the rocks to the standard medium (1%), they were assessed after 7 days by x-ray diffraction method to study the existence of sulfide minerals. The cyanide producer bacteria were isolated by growing into TSA solid medium. In the second phase, the materials obtained from first phase were exposed to cyanogen bacteria, and the sediments were investigated by ICP.

Results: Based on the results, the isolated bacteria from Sarcheshmeh mining were able to oxidize strongly ferrous and to remove pyrite from ore after 7 days. In the second phase, the isolated bacteria from Tonekabon arable soil could remove gold of (0.023 mg/l). The best range of Au recovery was produced in pH 7.

Conclusion: The isolated bacteria in this study were able to separate Au in two phases of microbial process, consisting of sulfide mineralization and recovery from aqueous form by cyanide bacteria.

Keywords: Diphasic extraction, Gold, Sulfidic ore, Muteh.

Correspondence to: Seyed Mansour Meybodi

Tel: +98 9126605676

E-mail: s.m.meybodi@gmail.com

Journal of Microbial World 2016, 9(3): 186-198.