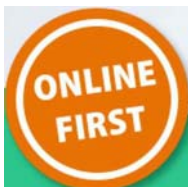


تاثیر غلظت‌های مختلف کانسنگ اورانیوم در فرآیند بیولیچینگ از طریق آنالیز بیان ژن

سیتوکروم A1 باکتری اسیدیتیبوسیلوس گونه FJ2

سمانه جهانی^۱، فائزه فاطمی^{۲*} و سبا میری^۳^۱ قم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم، گروه میکروبیولوژی^۲ تهران، سازمان انرژی اتمی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده چرخه سوخت^۳ تهران، دانشگاه الزهرا (س)، دانشکده زیست‌شناسی، گروه بیوتکنولوژی

تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۸

چکیده

فرایند اکسیداسیون و احیاء کانسنگ اورانیوم توسط باکتری اسیدیتیبوسیلوس فرواکسیدانس، با کمک زنجیره انتقال الکترون انجام می‌گیرد که یکی از مهم‌ترین اجزاء این زنجیره که در فرایند اکسیداسیون آهن دخیل است، ژن *cydA* می‌باشد. در این پروژه، جهت افزایش راندمان بیولیچینگ اورانیوم، بیان ژن *cydA* در باکتری اسیدیتیبوسیلوس فرواکسیدانس در حضور چگالی‌های مختلف از کانسنگ اورانیوم، بررسی شده است. بدین منظور، باکتری مورد نظر در حضور چگالی پالپ‌های مختلف از کانسنگ اورانیوم (۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۵٪)، کشت داده شد. در توالی‌های ۲۴ ساعته میزان استخراج اورانیوم، تغییرات pH، Eh و آهن فریک آنها اندازه‌گیری شد. زمانی که بازده استخراج اورانیوم به ۱۰۰٪ رسید، بیان ژن *cydA* باکتری با استفاده از روش Real-time PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد، با افزایش میزان چگالی پالپ، سرعت استخراج اورانیوم و فعالیت اکسیداسیونی باکتری کاهش پیدا کردند. همچنین، بیان ژن *cydA* در حضور کانسنگ اورانیوم به نسبت نمونه عاری از کانسنگ افزایش می‌یابد و با افزایش بیشتر چگالی پالپ، به دلیل سمیت اورانیوم، روند کاهشی مشاهده شد. نتایج حاصل از آزمایشات نشان می‌دهد تغییرات pH، Eh و استخراج اورانیوم در فرایند بیولیچینگ توسط باکتری اسیدیتیبوسیلوس با چگالی پالپ بالای کانسنگ نسبت به باکتری‌های کشت یافته با چگالی پالپ پائین‌تر به تأخیر افتاده است. نتایج حاصل از بررسی بیان ژن *cydA* باکتری در غلظت‌های مختلف کانسنگ نشان داد که غلظت کانسنگ بر روی بیان ژنهای مذکور موثر بوده است.

واژه‌های کلیدی: باکتری اسیدیتیبوسیلوس فرواکسیدانس، سیتوکروم A1، اکسیداسیون آهن، بیولیچینگ اورانیوم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۲۱۶۶۹۰، پست الکترونیکی: ffatemi@aeoi.org.ir

مقدمه

گرفته می‌شوند، را فراهم می‌کند. این فرایند بسیار مهم است و تا حد زیادی به ارزش فلزی که بازیابی می‌شود بستگی دارد (۳۱). استخراج اورانیوم از کانسنگ‌های معدنی کم‌عیار و پسماندهای هسته‌ای، از نظر تولید انرژی هسته‌ای حایز اهمیت می‌باشد. اکسید اورانیوم چهارظرفیتی (UO₂) که در کانسنگ وجود دارد، نامحلول می‌باشد که این ماده را می‌توان به وسیله اکسیداسیون شیمیایی با یون

بیولیچینگ، فرآیندی را توصیف می‌کند که در آن انحلال فلزات از منبع معدنی آنها، توسط میکروارگانیسم‌های طبیعی معینی، صورت می‌گیرد (۷). در این فرآیند، باکتری‌های اکسیدکننده فلزات با واکنش‌های اکسیداسیون، باعث بازیابی فلزات از کانسنگ کم‌عیار می‌شوند. به علاوه، امکان بازیابی فلزات، حتی فلزاتی که به میزان کمی در کانسنگ معدن وجود دارند و به طور معمول باطله در نظر

سیتوکروم c دریافت نموده و آنها را به کوئینون پول منتقل می‌نمایند (۱۹). نوع این سیتوکروم، سیتوکروم c₄ پیشنهاد شده است که توسط ژن *cycAI* کد می‌شود (۳۰، ۸). از آنجائیکه در بیولیچینگ مهمترین واکنشی که باکتری در آن دخیل می‌باشد، اکسیداسیون آهن فرو می‌باشد (۲۴، ۱۳) و به علاوه، چگالی پالپ در فرایند فروشویی زیستی تأثیر بسیار زیادی در فعالیت باکتری‌ها دارد (۳۹). بررسی ژنهای دخیل در این مسیر و تأثیر چگالی پالپ بر آنها حائز اهمیت فراوانی می‌باشد. در واکنش اکسیداسیون آهن فرو، بیان ژن *cycAI* به عنوان اولین آنزیم در مسیر تولید NADH در زنجیره انتقال الکترون است. بنابراین، یکی از اهداف اصلی در این پروژه، تأثیر اکسیداسیون چگالی مختلف پالپ‌های اورانیوم بر روی بیان این ژن است بطوریکه راندمان بیولیچینگ اورانیوم، افزایش یابد. قابل ذکر است که تاکنون بیان این ژن در چگالی پالپ‌های مختلف کانسنگ اورانیوم مورد بررسی قرار نگرفته است.

مواد و روشها

کانسنگ مورد استفاده در تحقیق: کانسنگ استفاده شده در این تحقیق، از معدن ساغند (آنومالی ۲ ساغند) با اندازه 106µm انتخاب گردید (۱۶). کانسار اورانیوم ساغند در شمال شرقی استان یزد و در فاصله ۱۸۵ کیلومتری شهرستان یزد و در منطقه ای به طول جغرافیائی "۳۰' ۵۵°۲۵ و عرض "۳۰' ۳۲°۳۰ در کویر مرکزی ایران قرار گرفته است. به منظور اطلاع از ترکیبات شیمیایی نمونه، نمونه کانسنگ خرد شده برای آنالیز XRF ارسال گردید.

سازگار کردن باکتری اسیدیتیبواسیلوس فرواکسیدانس با غلظت های متفاوت پودر کانسنگ معدن اورانیوم: باکتری بومی اسیدیتیبواسیلوس فرواکسیدانس اس. پی FJ2 (۴۲)، در محیط کشت اختصاصی ۹K، تلقیح گردید. ترکیبات تشکیل دهنده این محیط کشت در جدول ۱ نشان داده شده است. سپس، با استفاده از اسید سولفوریک ۱۰ نرمال، سود ۱۰ نرمال و دستگاه pH متر

فریک بصورت اورانیوم ۶ ظرفیتی که محلول است، درآورد. البته، دستیابی به این اکسیدکننده‌ها هزینه زیادی را در بر دارد که می‌توان با استفاده از باکتری اسیدیتیبواسیلوس فرواکسیدانس با هزینه کمتری، اکسیدکننده‌ای مانند آهن فریک را تولید کرد (۲۳).

اسیدیتیبواسیلوس فرواکسیدانس (با نام سابق تیوباسیلوس فرواکسیدانس) اولین بار در سال ۱۹۴۷ توسط Kolmer و Hinkel از آب اسیدی یک معدن ذغال کانسنگ جدا شد و اولین میکروارگانیسم اکسیدکننده سولفید فلزی است که خصوصیاتش شرح داده شده و بیشترین مطالعات مربوط به آن می‌باشد (۱۲). اسیدیتیبواسیلوس فرواکسیدانس یک شیمیولیتواتوتروف است که از انرژی حاصل از اکسیداسیون مواد معدنی شامل آهن و گوگرد برای رشد استفاده می‌کند (۳۶). این باکتری، یکی از معدود میکروارگانیسم‌هایی است که انرژی خود را از طریق اکسیداسیون آهن فرو در محیط‌های اسیدی به دست می‌آورد و از pH پایین محیط طبیعی استفاده می‌کند تا جریان معکوس الکترون، از آهن فرو به NADH را ایجاد کند (۳۷). وجود یک جریان معکوس الکترون از سیتوکروم c، از طریق سیتوکروم bc₁ به کوئینون و NAD(P)H دهیدروژناز به صورت واضح در باکتری اسیدیتیبواسیلوس فرواکسیدانس ATCC19859 شناسایی شده است. همچنین، ویژگی‌های اپرون کدکننده کمپلکس bc₁ مربوط به سویه‌های ATCC19859 و ATCC33020 باکتری اسیدیتیبواسیلوس فرواکسیدانس مشخص شده است. القاء این ژن در باکتریهای اکسیدکننده آهن نسبت به باکتری های اکسیدکننده گوگرد، بیشتر است (۳۰، ۸). این اپرون علاوه بر سه زیرواحد از کمپلکس bc₁ (PetA1B1C1)، یک سیتوکروم c (*CycAI*) و یک آنزیم ریبتول گلوگز دهیدروژناز (*SdrA1*) را کد می‌نماید که عملکرد آخرین پروتئین ناشناخته است (۲۲) و سیتوکروم c₄ کدشده توسط ژن *cycAI* نیز شناسایی شده است (۱۸). در مسیر معکوس انتقال الکترون، کمپلکس bc₁ الکترون‌ها را از یک

برای تعیین زمانی که میزان استخراج اورانیوم به ۱۰۰٪ رسیده است، در توالی‌های ۲۴ ساعته میزان ۵cc از لیچ-لیکور برداشته شد و با فیلتر ۰/۲ میکرون، فیلتر شد و محلول حاصل از آن برای آنالیز طیف‌سنجی نشر اتمی یا ICP (Inductively Coupled Plasma) فرستاده شد. در نهایت میزان لیچ‌لیکور برداشته شده با آب مقطر pH=2 جبران شد. در نهایت، در هر چگالی پالپ، زمانی که میزان استخراج اورانیوم به ۱۰۰٪ رسید، باکتری‌ها برای بررسی بیان ژن *cycAI* جمع‌آوری شدند و برای فرایند استخراج RNA مورد استفاده قرار گیرند.

جدول ۱- ترکیبات محیط کشت ۹K

مقادیر	مواد مورد نیاز
۳ g	(NH ₄) ₂ SO ₄
۰/۵ g	K ₂ HPO ₄
۰/۵ g	MgSO ₄ .7H ₂ O
۰/۱ g	KCl
۰/۰۱ g	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O
۴۴/۷ g	FeSO ₄ .7H ₂ O
۱۰۰۰ cc	Distilled Water

استخراج RNA و ساخت cDNA: به منظور استخراج RNA از کیت استخراج RNA شرکت Thermo Scientific (#K0731) استفاده شد. سپس، برای حذف DNA از RNA استخراج شده، از آنزیم DNase شرکت Thermo Scientific استفاده شد. لازم به ذکر می‌باشد که به جهت یکسان بودن غلظت RNA مصرفی در ساخت cDNA، غلظت RNA موجود در نمونه‌های تیمار شده با Dnase، توسط دستگاه نانودراپ (NanoDrop 2000) خوانده شد. در نهایت، میزان معینی از RNA برای ساخت تمامی cDNAها استفاده گردید. برای ساخت cDNA از RNA استخراج شده، از کیت شرکت Thermo Scientific (#K1622) استفاده شد.

انجام واکنش PCR: واکنش زنجیره ای پلیمرز و Real time PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *cycAI* و *I6s* در باکتری *اسیدیتیبویاسیلوس فرواکسیدانسانس* انجام

pH محیط کشت به روی ۲ تنظیم گردید (Metrohm827). در مرحله بعدی، به میزان ۹۰ میلی لیتر از محیط کشت در داخل ارلن ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شد و ۱۰ میلی لیتر از باکتری *اسیدیتیبویاسیلوس فرواکسیدانسانس* به آن افزوده گردید (۱۰٪ مایه تلقیح) و در نهایت مجدداً pH محلول بوسیله اسیدسولفوریک ۱۰ نرمال و pH متر، بر اساس بهینه pH باکتری، تنظیم و سرارلن پنبه گذاشته شد. سپس، ارلن حاوی باکتری و محیط کشت، در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و در انکوباتور شیکر دار با دور همزن ۱۸۰ rpm انکوبه شدند (۳۵). در این تحقیق، از غلظت‌های متفاوت کانسنگ اورانیوم (۰/۵٪، ۱/۰٪ و ۲/۵٪) برای سازگاری باکتری استفاده شد. پس از آماده سازی محیط کشت ۹k (۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت مایع)، تلقیح با باکتری مورد نظر به میزان ۱۰٪ صورت گرفت و محیط کشت با 0.5 g/L پپتون، 1.0 g/L تریپتیک سوی براث و 0.01% عصاره مخمر غنی گشت (۲۸، ۱۵). سپس، به این سوسپانسیون ۲/۵٪ کانسنگ معدن اورانیوم افزوده گردید و در نهایت نمونه در انکوباتور با دمای ۳۵°C و دور همزن ۱۵۰ rpm انکوبه شد (۱۴). زمانیکه استخراج اورانیوم در حضور ۲/۵٪ کانسنگ اورانیوم به صورت کامل انجام شد، ارلنی مشابه با این غلظت تهیه ولی از ۵٪ کانسنگ استفاده شد و از باکتری سازگار شده با ۲/۵٪ کانسنگ اورانیوم به عنوان مایه تلقیح استفاده گردید. به همین ترتیب، هنگامی که میزان تخلیص اورانیوم در غلظت ۵٪ به ۱۰۰٪ رسید میزان پودر کانسنگ معدن به تدریج افزایش یافت و از باکتری سازگار شده با غلظت پایین تر به عنوان مایه تلقیح استفاده شد. لازم به توضیح می‌باشد که غلظت باکتری استفاده شده در تمامی غلظت‌های کانسنگ معدن، ثابت در نظر گرفته شد (۱۰^۸×۱).

نمونه گیری و آنالیز: در توالی‌های ۲۴ تغییرات pH و Eh اندازه گیری گردید و pH بر روی ۲ تنظیم گشت. میزان آهن فرو با اندازه گیری آهن فریک و آهن کل به روش کالرومتریکی اندازه گیری و محاسبه گشت (۲۰). همچنین،

نتایج برای تمام نمونه‌ها گذشته شد. نرمالایز کردن برای تصحیح و حذف اختلافها در بازده تکثیر، شرایط تخلیص و مقدار حجم اولیه نمونه می‌باشد. همچنین، برای اطمینان حاصل کردن از عدم آلودگی و خطاهای حاصل از آن، برای هر ژن سه کنترل منفی در نظر گرفته شد که میزان الگوی مورد نظر (cDNA) با آب مقطر جایگزین گردید. در نهایت، از چرخه حرارتی ذکر شده در جدول ۳ استفاده شده و برای محاسبه میزان تغییرات بیان ژن *CycAI* از روش $\Delta\Delta CT$ استفاده گردید.

جدول ۳- چرخه حرارتی واکنش Real-Time PCR

مرحله	دما	زمان	تعداد سیکل
۱	۹۵ °C	۳۰"	۱
۲	۹۵ °C	۱۵"	۴۰
	۶۰ °C	۲۰"	
	۷۲ °C	۲۰"	
۳	۹۵ °C	۱۵"	۱
	۶۰ °C	۶۰"	
	۹۵ °C	۱۵"	

آنالیز آماری: تفاوت‌های بین داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و تست ANOVA تعیین گردید. با استفاده از این نرم افزار P-value داده‌ها، محاسبه گردید و $P < 0.05$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

استخراج اورانیوم توسط باکتری *اسیدیتوباسیلوس فرواکسیدانس*: نتایج حاصل از آنالیز XRF در جدول ۴ قابل مشاهده می‌باشد.

جدول ۴- ترکیبات کانسنگ اورانیوم با استفاده از آنالیز XRF (کانسنگ مورد استفاده دارای میزان قابل قبولی اورانیوم جهت فرایند بیولیچینگ می‌باشد. به علاوه، میزان آهن و گوگرد موجود در سنگ به فعالیت باکتری در زمینه اکسیداسیون آهن و گوگرد کمک شایانی می‌کند)

MgO	Al ₂ O ₃	SiO ₂	P ₂ O ₅	S	Cl	K ₂ O	CaO	TiO ₂	V ₂ O ₅	Cr ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	IO ₂
19.03	1.49	24.83	0.23	0.75	0.26	0.34	1.03	0.11	0.37	500	49.67	465
Wt %	Wt %	Wt %	Wt %	Wt %	Wt %	Wt %	Wt %	Wt %	Wt %	ppm	Wt %	Ppm

شد و محصول آن بر روی ژل آگارز ۱٪ بارگذاری گردید. پرایمر مورد نظر با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژن NCBI طراحی و پس از اطمینان، پرایمرهای مورد نظر جهت سنتز به شرکت تکاپوزیست ارسال شدند. جدول ۲ مشخصات پرایمرهای مورد استفاده را نشان می‌دهد.

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده

ژن توالی پرایمرها (5'→3')

F= GCTCCCTATCTGGTCAAACAACACT *cycAI*
R= GGTGGAGTCTGGGTAGAGAAGT

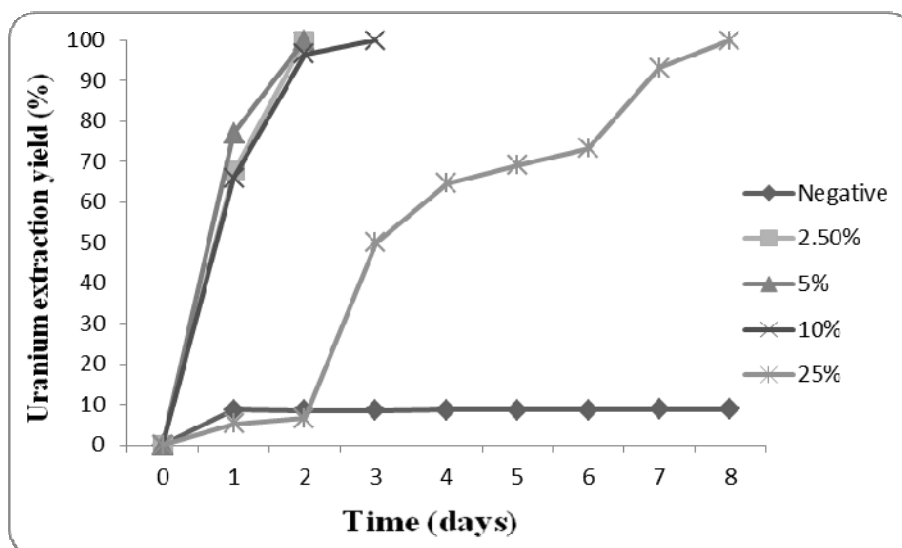
F= CCTACGGGAGGCAGCAG *16s*
R= CGGTGCTTCTTCTGGATTCAGC

انجام واکنش Real time PCR : واکنش Real time PCR

با استفاده از پرایمر اختصاصی و کیت مخصوص SYBER TaqTM II Premix Ex TaqTM (TaKaRa) انجام پذیرفت. این کیت حاوی تمام مواد لازم برای انجام واکنش PCR (آنزیم Taq، بافر همراه با MgCl₂ و dNTPs) و رنگ سایبرگرین می‌باشد که به عنوان مستر میکس مورد استفاده قرار می‌گیرد. هر واکنش Real time PCR (حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر) حاوی ۵ μl مستر میکس، ۰/۴ μl پرایمرهای Forward و Reverse (جدول ۲)، ۰/۵ μl cDNA، ۰/۲ μl رنگ ROX و ۳/۹ μl آب عاری از Nuclease می‌باشد. پس از مخلوط کردن مواد مذکور، به جهت اطمینان از صحت انجام واکنش، نمونه‌های حاوی ژن مورد آزمایش (*CycAI*) و نمونه حاوی ژن کنترل داخلی (۱۶s) در پلیت‌ها به صورت سه تایی ریخته شد. لازم به توضیح می‌باشد که ژن کنترل داخلی به جهت نرمالایز کردن تمامی

فرایند بیولیچینگ اورانیوم برای چگالی‌های پالپ مختلف کانسنگ معدن اورانیوم، در شکل ۱ مشخص شده است، همانطور که مشاهده می‌شود، باکتری *اسیدیتویاسیلوس فرواکسیدانس* در حضور چگالی پالپ ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۵٪ از کانسنگ معدن اورانیوم توانسته به ترتیب طی ۲، ۲، ۳ و ۸ روز اورانیوم را به طور کامل (۱۰۰٪) استخراج کند.

استفاده از باکتریهای اکسیدکننده آهن و گوگرد در فروشویی زیستی فلزات موجود در کانیهای سولفیدی، ضمن به کارگیری کانسنگهای کم عیار در استخراج فلزات، هزینه کمتری در بردارد و اثرات زیست محیطی منفی روشهای مرسوم استخراج فلزات را نیز در بر ندارد و کاربرد فروشویی زیستی، در آینده، رو به فزونی خواهد گذاشت (۱).



شکل ۱- میزان استخراج اورانیوم توسط باکتری *اسیدیتویاسیلوس فرواکسیدانس* در حضور چگالی‌های مختلف کانسنگ معدن اورانیوم.

فرآیند می‌باشند، که بر روی فعالیت باکتری تاثیرگذارند (۷). عناصر کانسنگین به شدت اثر مهاری روی رشد میکروارگانیسم‌ها دارند و می‌توانند برای میکروارگانیسم‌ها مرگ آور باشند. این فلزات شامل توریوم (Th)، اورانیوم (U)، جیوه (Hg) و نقره (Ag) می‌باشند که متابولیت‌های سلول را مهار می‌کنند و اثر سمی برای باکتری‌ها دارند (۷). میزان مقاومت به فلزات سنگین در هر باکتری، به سویه بستگی دارد. تجربه نشان می‌دهد که با اعمال فشار انتخابی بر جمعیت میکروارگانیسم‌ها برای رشد در حضور یون فلزی، میزان مقاومت آنها به میزان قابل توجهی نسبت به اغلب فلزات افزایش می‌یابد؛ هر چند که ممکن است این فرآیند در برخی موارد زمان زیادی طول بکشد (۳۳).

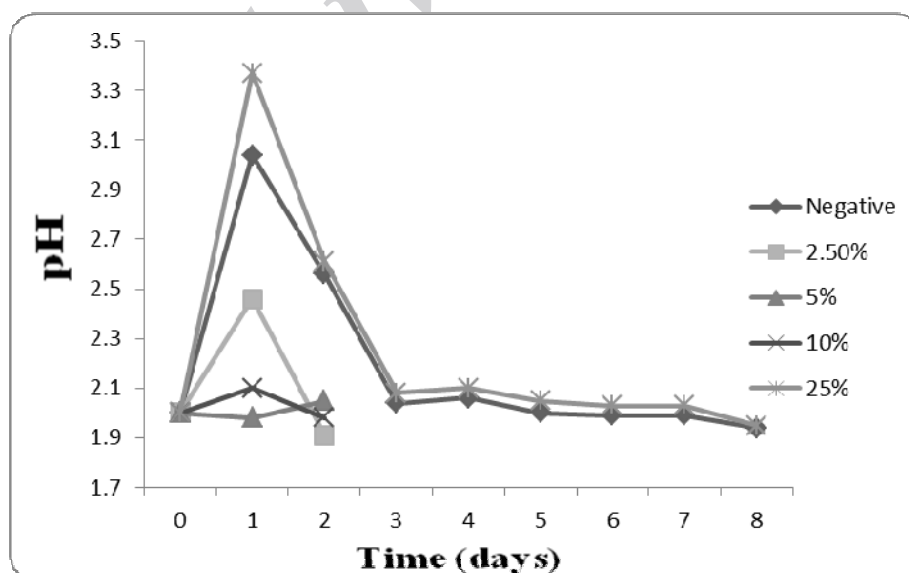
نتایج این آزمایشات حاکی از آن است که کاهش نرخ استخراج اورانیوم با افزایش چگالی پالپ رخ می‌دهد. به بیان دیگر، هر چه میزان چگالی پالپ افزایش پیدا کند توانایی استخراج اورانیوم رو به کاهش است و مدت زمان بیشتری جهت استخراج کامل نیاز می‌باشد ($P < 0.05$) به طوریکه، باکتری در حضور چگالی پالپ ۲۵٪ توانسته طی ۸ روز، اورانیوم را به طور کامل استخراج کند.

تحقیقات مختلفی نشان داده است که عوامل متعددی بر سرعت و کیفیت فرآیند فروشویی فلزات تاثیر می‌گذارند. برخی از این عوامل با توجه به محدوده عملکرد بهینه خود، باعث مهار یا بهبود بیولیچینگ می‌شوند و مواردی نظیر چگالی پالپ و اندازه ذرات، متعلق به فلز درگیر در

تغییرات pH در حضور چگالی پالپ‌های مختلف از کانسنگ معدن اورانیوم: تغییرات pH محیط کشت توسط باکتری اسیدیتیبوباسیلوس فرواکسیدانس در حضور غلظت‌های مختلف از کانسنگ معدن اورانیوم در شکل ۲ قابل مشاهده می‌باشد. همانطور که در تحقیقات مختلف نشان داده شده است باکتری مورد بررسی در این مطالعه اسیددوست می‌باشد (۲). در شکل ۲ کاملاً مشخص می‌باشد، میزان pH در حضور غلظت‌های مختلف از کانسنگ معدن، در روزهای ابتدایی روند افزایشی داشته است. به گونه‌ای که، در چگالی پالپ ۲۵٪ بعد از گذشت یک روز میزان pH به ۳/۴ رسیده است که این میزان برای چگالی پالپ‌های ۵، ۲/۵ و ۱۰٪ به ترتیب ۲/۴۵، ۲ و ۲/۱۱ می‌باشد. با گذشت زمان این روند افزایشی رو به کاهش رفته و میزان pH دارای روند کاهشی شده است. بدین صورت که در روز هشتم در حضور چگالی پالپ ۲۵٪ میزان pH تا ۱/۹۷ کاهش داشته است. لازم به ذکر می‌باشد که این روند در حضور تمامی چگالی پالپ‌های کانسنگ معدن اورانیوم مشاهده شده است.

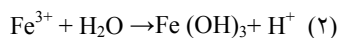
یکی از دلایل دیگری که در چگالی پالپ‌های پایین، میزان استخراج اورانیوم نرخ بالایی دارد و سریعتر انجام می‌شود این است که O_2 یکی از اساسی‌ترین مواد مغذی برای رشد باکتری‌ها محسوب می‌شود و با افزایش چگالی پالپ میزان O_2 کاهش می‌یابد. در چگالی پالپ‌های پایین، میزان انتقال جرمی اکسیژن بین تولید و مصرف آن متعادل است در حالی که برای چگالی پالپ‌های بالا نرخ اکسیژن مورد نیاز با میزان اکسیژن تولید شده طی انتقال آن بین گاز و مایع کمتر می‌باشد (۲۶، ۶).

همچنین، در تحقیقاتی مشخص شد که کاهش میزان اکسیژن، سبب کاهش غلظت باکتری‌های مؤثر در فرایند فروشویی زیستی و همین‌طور کاهش غلظت یون فریک و در نهایت کاهش استخراج مس می‌گردد. زمانی که غلظت اکسیژن به کمتر از ۱۵ درصد برسد، رشد باکتری‌ها نیز محدود خواهد شد (۳۸). در این مطالعه نیز با توجه به نتایج استخراج اورانیوم مشاهده می‌شود که با افزایش چگالی پالپ در روند استخراج، کاهش قابل توجهی صورت گرفته است.



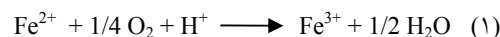
شکل ۲- میزان تغییرات pH توسط باکتری اسیدیتیبوباسیلوس فرواکسیدانس در حضور چگالی پالپ‌های مختلف کانسنگ معدن اورانیوم.

ها می‌توانند باعث کاهش pH محیط در مراحل بعدی فرآیند شوند (۱۳).



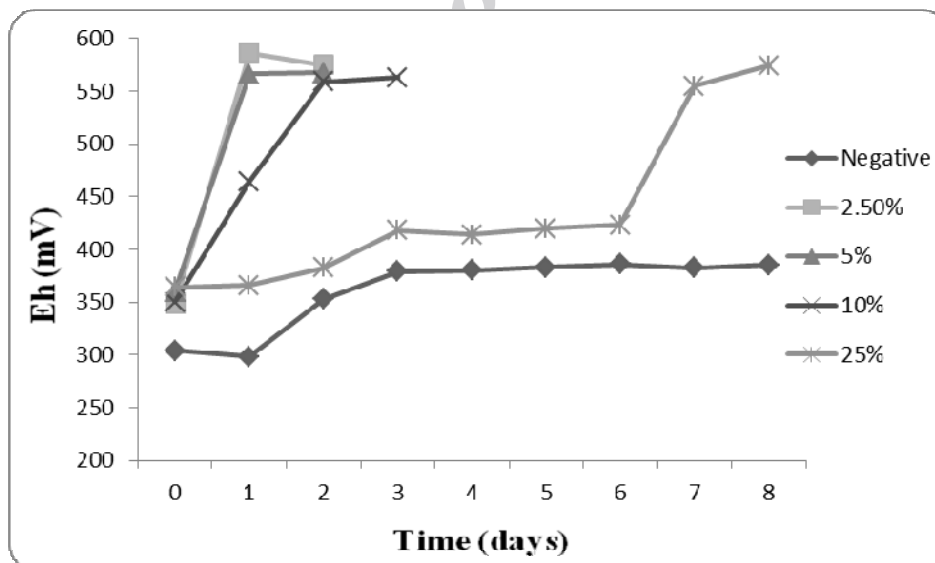
تغییرات Eh در حضور چگالی پالپ‌های مختلف از کانسنگ معدن اورانیوم: شکل ۳ میزان تغییرات Eh توسط باکتری اسیدیتئوباسیلوس فرواکسیدانس در حضور چگالی پالپ‌های مختلف از کانسنگ معدن اورانیوم را نشان می‌دهد. همانگونه که قابل مشاهده است، میزان Eh، با افزایش میزان چگالی پالپ کاهش معنی‌دار پیدا کرده است ($P < 0.05$). به بیانی دیگر، هر چه میزان چگالی پالپ افزایش پیدا کرده، میزان پتانسیل اکسیداسیون و احیا باکتری اسیدیتئوباسیلوس فرواکسیدانس کاهش یافته است. به طور مثال، در روز اول در حضور چگالی پالپ ۲/۵٪ از کانسنگ معدن اورانیوم، میزان Eh به ۵۸۶ میلی‌ولت رسیده است، در حالی که در همین روز، در حضور چگالی پالپ ۲۵٪، میزان Eh ۳۶۶ میلی‌ولت می‌باشد.

افزایش pH در حضور باکتری اسیدیتئوباسیلوس فرواکسیدانس را می‌توان درگیر با واکنش‌هایی دانست که مصرف‌کننده اسید هستند (واکنش ۱) (۱۳، ۲۴). مکانیسم اصلی باکتریایی دخیل در انحلال سولفیدهای معدنی، اکسیداسیون آهن فرو می‌باشد، در این واکنش اکسیژن گیرنده الکترون می‌باشد (۲۹، ۲۷، ۲۱).



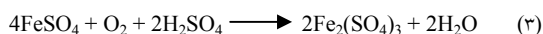
در طی فرآیند فروشویی زیستی، آهن فریک و اسید سولفوریک به منظور استحصال اورانیوم ضروری هستند. آهن فریک یک عامل اکسیدکننده مؤثر U(IV) می‌باشد و زمانی که به کانسنگ معدن‌های اورانیومی که تحت شرایط اسیدی هستند اضافه شود، اورانیوم را به صورت محلول یا U(VI) تبدیل می‌کند.

با پیشرفت زمان، میزان آهن فریک در محیط افزایش می‌یابد و این آهن در واکنش‌های هیدرولیزی که منجر به تولید H^+ می‌شود شرکت می‌کند (واکنش ۲) که این واکنش



شکل ۳- میزان تغییرات Eh توسط باکتری اسیدیتئوباسیلوس فرواکسیدانس در حضور چگالی پالپ‌های مختلف کانسنگ معدن اورانیوم.

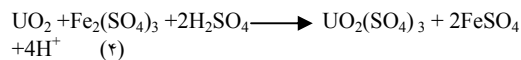
(IV) که به صورت ترکیب با مواد معدنی وجود دارد حمله می‌کند (واکنش ۴) و آنرا به اورانیوم (VI) که محلول در اسید سولفوریک رقیق است تبدیل می‌کند (۳۴).



در فروشویی اورانیوم، باکتریها مستقیماً به کانسنگ معدن اورانیوم حمله نمی‌کنند، بلکه این میکروارگانیسم‌ها پیریت و آهن فرو را اکسید می‌کنند و باعث تولید آهن فریک (واکنش ۳) می‌شوند. سپس، آهن فریک براحتی به اورانیوم

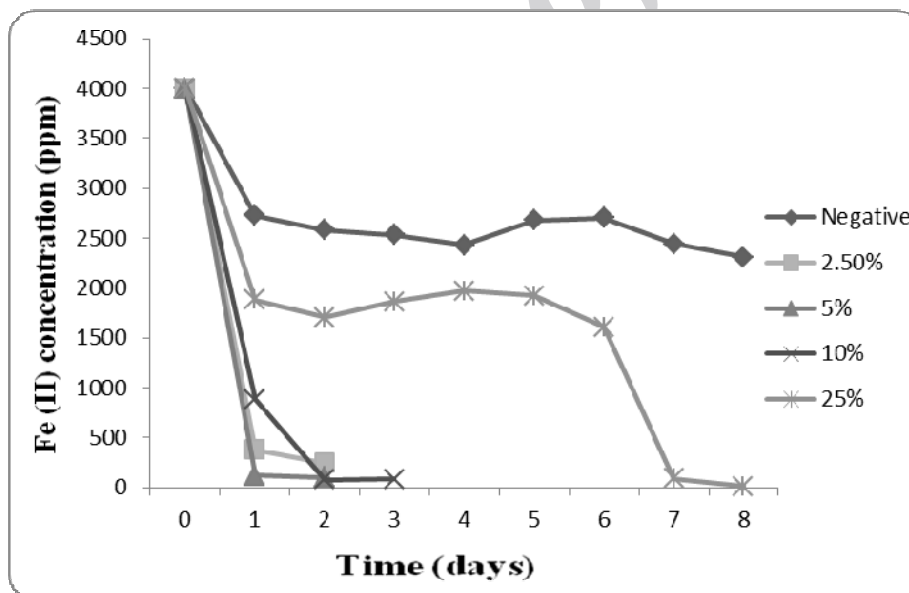
عدم وجود باکتری در محیط، تغییرات Eh کمتر می‌باشد و افزایش اندک Eh به دلیل اکسیداسیون یون فرو توسط هوا می‌باشد (۴).

تغییرات آهن فرو در حضور چگالی پالپ های مختلف از کانسنگ معدن اورانیوم: شکل ۴ نشان دهنده تغییرات آهن فرو در فرآیند بیولیچینگ اورانیوم توسط باکتری *اسیدیتوباسیلوس فرواکسیدانس* می‌باشد. نتایج حاصل نشان دهنده این است که میزان آهن فرو در حضور کانسنگ اورانیوم با پیشرفت زمان روند کاهشی داشته است و با افزایش میزان چگالی پالپ، روند تغییرات کاهشی با تاخیر انجام شده است ($P < 0.05$). به طوریکه در روز دوم در حضور چگالی پالپ ۲/۵٪ از کانسنگ معدن اورانیوم، میزان آهن فرو به ۲۵۰ ppm رسیده است، در حالی که در همین روز، در حضور چگالی پالپ ۲۵٪، میزان آن ppm ۱۰۷۰۵ می‌باشد.



آهن فریک از اکسیداسیون پیریت که اغلب همراه با کانسنگ معدن اورانیوم است و یا در طی فروشویی زیستی اضافه می‌گردد، تولید می‌شود. در تحقیقات پیشین نشان داده شده است که مهمترین عامل استخراج اورانیوم در بیولیچینگ، یون فریک تشکیل شده از اکسیداسیون یون فرو توسط باکتری می‌باشد. بنابراین، افزایش Eh در استخراج اورانیوم دارای نقش تعیین کننده‌ای می‌باشد (۴). چگالی پالپ در فرآیند فروشویی زیستی تأثیر بسیار زیادی در فعالیت باکتری‌ها دارد، به این صورت که هر چه چگالی پالپ افزایش یابد، فعالیت باکتری‌ها کاهش می‌یابد (۳۹)، بنابراین، تاخیر در افزایش Eh در چگالی پالپ‌های بالا را می‌توان اینگونه توضیح داد.

همانطور که در نمودارهای مربوط به تغییرات Eh، قابل مشاهده می‌باشد (شکل ۳) در نمونه کنترل منفی به دلیل



شکل ۴- میزان تغییرات آهن فرو توسط باکتری *اسیدیتوباسیلوس فرواکسیدانس* در حضور چگالی پالپ های مختلف کانسنگ معدن اورانیوم.

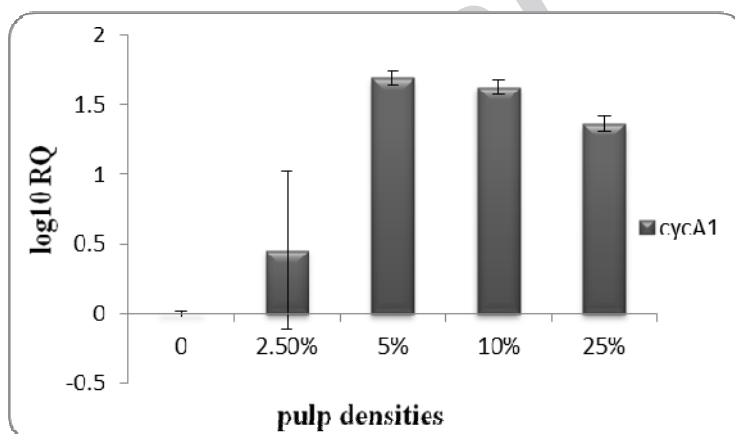
میزان چگالی پالپ، روند تغییرات کاهشی با تاخیر انجام می‌پذیرد. مطالعات و آزمایشات مختلفی در رابطه با تأثیر چگالی پالپ بر روی فرآیند فروشویی زیستی روی و منگنز انجام شده است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که استخراج روی، در چگالی پالپ ۱ درصد به میزان ۱۰۰

همانطور که در واکنش ۳ و ۱ قابل مشاهده می‌باشد، باکتری در طی فرآیند بیولیچینگ، آهن فرو را به آهن فریک اکسید می‌کند و به طوریکه میزان آهن فرو محیط کشت با پیشرفت فرآیند کاهش می‌یابد که این کاهش نشان دهنده فعالیت اکسیداسیونی باکتری می‌باشد اما، با افزایش

فروشویی غیرمستقیم که به واسطه آهن فریک انجام می‌شود، آهسته خواهد بود (۳).

تغییرات بیان ژن *cycA1* باکتری اسیدیتیبوباسیلوس فرواکسیدانس در حضور چگالی پالپ‌های مختلف از کانسنگ معدن اورانیوم: شکل ۵ نمودار ترسیم شده مربوط به بیان ژن *cycA1* باکتری اسیدیتیبوباسیلوس فرواکسیدانس در حضور غلظت‌های مختلف کانسنگ معدن اورانیوم (۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۵٪ پودر کانسنگ معدن اورانیوم کم عیار ساغند یزد آنومالی ۲) را نشان می‌دهد. همانگونه که از نتایج مشخص می‌باشد، بیان ژن مورد نظر با افزایش میزان چگالی پالپ نسبت به نمونه کنترل (بدون چگالی پالپ) افزایش پیدا کرده است. همچنین، در چگالی پالپ ۵٪ بیشترین میزان بیان ژن و در چگالی پالپ ۲/۵٪ کمترین میزان بیان ژن مشاهده شده است ($P < 0.05$).

درصد است و اگر چگالی پالپ به ۸ درصد افزایش یابد، میزان استخراج روی به ۲۹/۹ درصد کاهش پیدا می‌کند. در رابطه با استخراج منگنز، در چگالی پالپ ۱ درصد، میزان استخراج ۹۴ درصد است و با افزایش چگالی پالپ به ۸ درصد، این میزان به ۲/۵ درصد کاهش می‌یابد که کاهش چشم‌گیری است (۳۹). در این مطالعه نیز با توجه به نتایج استخراج اورانیوم مشاهده می‌شود که با افزایش چگالی پالپ در روند استخراج، کاهش قابل توجهی صورت گرفته است. در نمونه کنترل منفی به دلیل عدم وجود باکتری در محیط، کاهش آهن فرو کمتر از سایر نمونه‌های حاوی باکتری می‌باشد که این کاهش اندک به دلیل اکسیداسیون یون فرو توسط هوا می‌باشد (۴). تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که در یک محلول اسیدی که فاقد باکتری است، مقدار آهن فرو ثابت می‌ماند و سرعت



شکل ۵- میزان تغییرات به بیان ژن *cycA1* باکتری اسیدیتیبوباسیلوس فرواکسیدانس در حضور چگالی پالپ‌های مختلف کانسنگ معدن اورانیوم.

نتایج حاصل از بیان این ژن (شکل ۵) نشان دهنده این امر است که در فرآیندهای ابتدایی فروشویی که با درصد کانسنگ کمتری آغاز می‌شود، باکتری، سعی در تطبیق خود با محیط دارد و بیان ژن مورد نیاز برای اکسیداسیون آهن بالا می‌رود و با افزایش چگالی پالپ افزایش بیشتری مشاهده می‌شود (از چگالی پالپ ۲/۵ به ۵٪). اما با پیشرفت فرآیند و افزایش بیشتر کانسنگ اورانیوم محیط، ژنهای دخیل در اکسیداسیون آهن در اثر مواجهه شدن با عوامل تنشی که از حد آستانه تحمل باکتری بیشتر می‌باشد،

روند کاهشی نشان می‌دهند (چگالی پالپ‌های ۱۰ و ۲۵٪) که این تغییرات کاهشی نیز به طور واضح در نتایج استخراج اورانیوم مشهود می‌باشد. به طوریکه، باکتری در چگالی پالپ‌های پائین‌تر (۲/۵ و ۵٪) توانسته اورانیوم را در طی دو روز به طور کامل استخراج کند ولی در چگالی پالپ‌های بالاتر (۱۰ و ۲۵٪) نیاز به روزهای بیشتری برای استخراج کامل اورانیوم دارد.

در طی فرآیند اکسیداسیون آهن، *cyc2* الکترون‌ها را

اند که فعالیت /اسیدیتویواسیلوس فرواکسیدانس در معادن اورانیوم در غلظت ۱۲ گرم بر لیتر اورانیوم (U_3O_8) می باشد، در حالی که ابنز و شوارتز مقدار اورانیوم ۰/۷۵ Kg/m^3 را گزارش کرده اند. آقایان تووینز و کلی اظهار داشتند سمیت اورانیوم باعث ضعیف شدن پیوند و اتصال بین سطوح و سلولها می شود که در نتیجه باعث کاهش CO_2 و اکسیداسیون یون فرو می گردد. به علاوه، بیان کردند که غلظت های اورانیوم بالای 10^{-3} - 10^{-4} mol/dm^3 برای /اسیدیتویواسیلوس فرواکسیدانس سمی است (۵×۱۰). در این مطالعه نیز، نتایج نشان می دهد که باکتری تا چگالی پالپ ۵٪ قادر به تحمل سمیت اورانیوم می باشد ولی در چگالی پالپ های بیشتر، سمیت اورانیوم تاثیرات منفی در فعالیت این باکتری دارد.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از آن است که تغییرات بیان ژن *cycAI* که نقش مهمی را در فرایند اکسیداسیون آهن و در نتیجه میزان استخراج اورانیوم دارد، در حضور کانسنگ معدن اورانیوم به نسبت نمونه عاری از کانسنگ معدن افزایش می یابد و با افزایش بیشتر چگالی پالپ به دلیل سمیت اورانیوم روند کاهشی نشان می دهد. در نتیجه، با افزایش میزان چگالی پالپ سرعت استخراج اورانیوم و فعالیت اکسیداسیونی باکتری کاهش پیدا کردند و باکتری برای استخراج کامل اورانیوم نیاز به مدت زمان بیشتری دارد.

مستقیماً از آهن فرو می پذیرد و با جایگاهی که در غشای خارجی دارد، اولین مرحله در اکسیداسیون آهن فرو را انجام می دهد (۴۰). تصور می شود که این پروتئین یک سوپر کمپلکس تنفسی را شکل می دهند که غشاهای داخلی و خارجی را فرا گرفته و الکترون ها را از آهن (یا پیریت) به اکسیژن منتقل می کند (۵، ۹، ۱۷). بر اساس مطالعات ژنتیکی و متابولیکی، مشخص شد که الکترون های حاصل از اکسایش آهن فرو از طریق *cyc2* به راستی سیانین منتقل می شوند. از آنجا، برخی الکترون ها مسیر سرازیری الکترون را از طریق سیتوکروم *cycI* به سیتوکروم اکسیداز *aa3* طی کرده و برخی نیز مسیر سربالایی الکترون را طی می کنند که در این مسیر، دهنده عمومی الکترون، یعنی *NADH* توسط جریان معکوس الکترون از طریق سیتوکروم *cycAI* (اولین گیرنده سربالایی) به کمپلکس *bc1* و سپس به منبع یوبی-کینون و در نهایت *NAD* دهیدروژناز، تولید می شود (۳۶).

از سوی دیگر، افزایش بیان این ژن در حضور چگالی پالپ کانسنگ معدن اورانیوم یک مکانیسم برای تولید *NADH* از طریق انتقال الکترون از *Fe(II)* به *NAD(P)* می باشد که باکتری را قادر به مواجهه با عوامل تنش زای اکسیداتیو می کند، زیرا *NADH* برای این مبارزه در مقابل عوامل تنشی مثل اورانیوم، ضروری می باشد (۱۱).

همچنین، سمیت اورانیوم برای /اسیدیتویواسیلوس فرواکسیدانس توسط محققان زیادی بررسی شده است. آقایان دان کن و بروینستین در طی تحقیقاتی مشاهده کرده

منابع

- نقوی، ه.، سام، ع و سالاری، ح. ۱۳۹۴. امکان سنجی پیریت زدایی از زغالسنگ با استفاده از بیوفلوتاسیون. مجله پژوهش های سلولی و مولکولی. ۲۸ (۳). ۴۳۰-۴۳۷.
- مهدی صادقی پور مروی، احمد علی پوربابایی، حسینعلی علیخانی، احمد حیدری، زهرا منافی. ۱۳۹۶. ارزیابی عملکرد باکتریهای اکسید کننده گوگردی جدا سازی شده از خاک معدن مس و شناسایی مولکولی آنها بر اساس توالی 16S rRNA. مجله پژوهش های سلولی و مولکولی. ۳۰ (۱).
- Abhilash S, Mehta K.D, Kumar V, Pandey B.D, Tamrakar P. K. 2010. "Biorecovery - An Alternate Uranium Ore Processing Technology for India". Energy Procedia. 7, 158-162.
- Akcil A. 2004. "Technical note: potential bioleaching developments towards commercial reality". Minerals Engineering. 17, 477-480.

5. Appia-Ayme C, Guiliani N, Ratouchniak J, Bonnefoy V. 1999. "Characterization of an operon encoding two c-type cytochromes, an aa3-type cytochrome oxidase and rusticyanin in *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 33020". Appl Environ Microbiol. 65, 4781–4787.
6. Boon M, Heijnen J.J. 1998. Gas-liquid mass transfer phenomena in biooxidation experiments of sulphide minerals: a review of literature data. Hydrometallurgy. 48:187-204.
7. Brandl H. 2008. "Microbial leaching of metals". Wiley-VCH. 8.
8. Bruscella P. 2004. Etude des opérons *petI* et *petII* codant pour deux complexes *bcl* chez la bactérie acidophile chimioautotrophe stricte *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Université de la Méditerranée, Aix-Marseille II.
9. Castelle C, Guiral M, Malarte G, Ledgham F, Leroy G, Brugna M, Giudici-Orticoni M.T. 2008. A new iron-oxidizing/O₂-reducing supercomplex spanning both inner and outer membranes, isolated from the extreme acidophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*. J Biol Chem. 283:25803–25811.
10. Chen P, Yan L, Wang Q, Li Y, Li H. 2012. "Surface alteration of realgar (As₄S₄) by *Acidithiobacillus ferrooxidans*" International microbiology. 15: 9-15.
11. Dekker L, Arsene-Ploetze F, Santini J.M. 2016. Comparative proteomics of *Acidithiobacillus ferrooxidans* grown in the presence and absence of uranium. Research in Microbiology. 167:234–239.
12. Donati E. R, Sand W. 2007. "Microbial processing of metal sulfides". 151-168.
13. Dong Y, Lin H, Wang H, Mo X, Fu K, Wen H. 2011 "Effects of ultraviolet irradiation on bacteria mutation and bioleaching of low-grade copper tailings" Minerals Engineering. 24: 870–875.
14. Fatemi F, Arabieh M, Jahani S. 2016. Application of response surface methodology to optimize uranium biological leaching at high pulp density. Radiochimica Acta. 104 (4): 239–246.
15. Fatemi F, Jahani S, Miri S. 2017. The effect of peptone and Tryptic Soy Broth (TSB) on uranium bioleaching efficiency. In local language, In press.
16. Fatemi F, Rashidi A, Jahani S. 2015. Isolation and Identification of Native Sulfur-Oxidizing Bacterium Capable of Uranium Extraction. Journal of Science University of Tehran. Progress in Biological Sciences. 5:207–221.
17. Fukumori Y, Yano T, Sato A, Yamanaka T. 1988. "FeII oxidizing enzyme purified from *Thiobacillus ferrooxidans*". FEMS Microbiology. 20, 169–172.
18. Giudici-Orticoni M. T, Leroy G, Nitschke W, Bruschi M. 2000. Characterization of a new dihemic c4-type cytochrome isolated from *Thiobacillus ferrooxidans*. Biochemistry. 39: 7205–7211.
19. Griesbeck C, Hauska G, Schütz M. 2000. Biological sulfide oxidation: sulfide-quinone reductase (SQR), the primary reaction. In: Pandalai SG (ed) Recent research developments in microbiology. Research Signpost, Trivandrum. 4: 179–203.
20. Karamanev D.G, Nikolov L.N, Mamartarkova V. 2002. "Rapid simultaneous quantitative determination of ferric and ferrous ions in drainage waters and similar solutions" Mineral Engineering. 15 (5): 341–346.
21. Kupka D, Kupsa'kova' I. 1999. "Iron(II) oxidation kinetics in *Thiobacillus ferrooxidans* in the presence of heavy metals". In: Amils, R., Ballester, A. (Eds.), *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21st century, Part A*, Elsevier Press, Amsterdam. 387–396.
22. Levican G, Bruscella P, Guacunano M, Inostroza C, Bonnefoy V, Holmes D, Jedlicki E. 2002. Characterization of the *petI* and *res* operons of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. J Bacteriol. 184: 1498–1501.
23. McCready R.G.L, Gould W.B. 1990. "Bioleaching of uranium". In: Ehrlich HL, Brierley CL (eds) *Microbial mineral recovery. McGraw-Hill*, New York. 107–125.
24. Meruane G, Vargas T. 2003. "Bacterial oxidation of ferrous iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the pH range 2.5–7.0". Hydrometallurgy. 71 (1–2), 149–158.
25. Meruane G, Vargas T. 2003. "Bacterial oxidation of ferrous iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the pH range 2.5–7.0". Hydrometallurgy. 71 (1–2), 149–158.
26. Moon-Sung C, Kyung-Suk C, Dong-Su K, Hee-Wook R. 2005. Bioleaching of uranium from low grade black schists by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 21:377-380.

27. Nakamura K, Noike T, Matsumoto J. 1986. "Effect of operation conditions on biological Fe²⁺ oxidation with rotating biological contactors". *Water Resources*. 20 (1), 73–77.
28. Patel M, Tipre D, Dave S. 2011. "Isolation, identification, characterization and polymetallic concentrate leaching studies of tryptic soy- and peptone-resistant thermotolerant *Acidithiobacillus ferrooxidans* SRDSM2". *Bioresource Technology*. 102, 1602–1607.
29. Pesic B, Oliver D.J, Wichlacz P. 1989. "An electrochemical method of measuring the oxidation rate of ferrous iron to ferric iron in presence of *Thiobacillus ferrooxidans*". *Biotechnol. Bioengineering*. 33, 428–439.
30. Quatrini R, Appia-Ayme C, et al. 2005. Global analysis of the ferrous iron and sulfur energetic metabolism of *Acidithiobacillus ferrooxidans* by microarrays transcriptome profiling. In: Harrison STL, Rawlings DE, Petersen J (eds) 16th international biohydrometallurgy symposium proceedings, Cape Town. 761–771.
31. Rawlings D.E. 2004. Microbially assisted dissolution of minerals and its use in the mining industry, *Pure and Applied Chemistry*. 76: 847–859.
32. Rossi G. 1990. "Biohydrometallurgy". *McGraw-Hill*, Hamburg.
33. Sand W, Gehrke T, Hallmann R, Schippers A. 1995. Sulfur chemistry, biofilm, and the (in) direct attack mechanism – critical evaluation of bacterial leaching. *App Microbiol Biotechnol*. 43:961–966.
34. Sapsford D.J, Howell R.J, Geroni J.N, Penman K.M, Dey M. 2012. "Factors influencing the release rate of uranium, thorium, yttrium and rare earth elements from a low grade ore". *Minerals Engineering*. 39, 165–172.
35. Shahroz K, Faizul H, Fariha H, Kausar S, Rahat U. 2012. "Growth and Biochemical Activities of *Acidithiobacillus thiooxidans* Collected from Black Shale". *Journal of Microbiology Research*. 2(4): 78-83.
36. Valdés J, Pedroso I, Quatrini R, Dodson R, Tettelin H, Blake R, Eisen J, Holmes D. 2008a. "Acidithiobacillus ferrooxidans metabolism: from genome sequence to industrial applications". *BMC genomics*. 9:597.
37. Valdés J, Pedroso I, Quatrini R, Holmes D.S. 2008b. "Comparative genome analysis of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *A. thiooxidans* and *A. caldus*: Insights into their metabolism and ecophysiology". *Hydrometallurgy*. 94, 180–184.
38. Witne J, Philips A. 2001. "Bioleaching of Ok Tedi copper concentratrni oxygen and carbon dioxide-enriched air". *Minerals Engineering*. 14, 25-48.
39. Xin B, Jiang W, Li X, Zhang K, Liu C, Wang R, Wang Y. 2012. "Analysis of reasons for decline of bioleaching efficiency of spent Zn-Mn batteries at high pulp densities and exploration measure for improving performance". *Bioresource Technology*. 112, 186-192.
40. Yarzabal A, Brasseur G, Ratouchniak j, lund k, lemesle-meunier d. 2002. "The high-molecular-weight cytochrome c Cyc2 of *Acidithiobacillus ferrooxidans* is an outer membrane protein". *J Bacteriology*. 184, 313–317.
41. Zhang Y, Qin W, Wang J, Zhen S, Yang C, Zhang J, Nai S, Qiu G. 2008. "Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed culture" *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*. 18: 1491-1496.
42. Jahani S, Fatemi F, Firoz-e-zare M.A, Zolfaghari M.R. 2015. "Isolation and Characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* Strain FJS from Ramsar, Iran" *Electronic Journal of Biology*. 11(4), 138-146.

Effect of different uranium ore concentration in the bioleaching process by analysis of *Acidithiobacillus* sp. FJ2 cytochrome A1 gene expression

Jahani S.¹, Fatemi F.² and Miri S.³

¹ Microbiology Dept., Faculty of Science, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, I.R. of Iran

² Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, I.R. of Iran

³ Biotechnology Dept., Faculty of Life Science, Alzahra University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The iron and sulfur oxidation process in *Acidithiobacillus ferrooxidans* is performed using an electron transport chain, which *cycA1* as the most important component. Regarding the importance of this protein in the bioleaching process, the study of *Acidithiobacillus ferrooxidans cycA1* gene in the presence of different pulp densities is the one of the main objectives to increase the efficiency of uranium bioleaching. For this purpose, the bacteria cultivated in the presence of different pulp densities of uranium ore (2.5, 5, 10 and 25%). Uranium extraction, variation of pH, Eh and ferrous iron values measured at 24 h intervals. Then, when the uranium extraction yield reached to 100%, gene expressions of *cycA1 Acidithiobacillus ferrooxidans* were analyzed. The results showed, with increasing pulp density, the uranium extraction rate and oxidation activity of bacteria was reduced. In addition, the results of *cycA1* gene expression showed that the target gene expression increases in the presence of uranium ore compare to sample with absence of uranium ore, and with further increase of pulp density, due to the toxicity of uranium, show a decreasing trend. In addition, the changes of Eh, pH and uranium extractions at bioleaching process *Acidithiobacillus* have been delayed in the presence of high pulp density in compare with lower one. The results of *cycA1* gene expressions bacteria in the presence of ore different concentrations showed that mutations and ore concentration has been effective on the expression of this gene.

Key words: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, Cytochrome A1, Iron oxidation, Uranium bioleaching