فصلنامه‌ی زمین شناسی کاربردی
سال ۴ (۱۳۸۷)، شماره‌ی ۱ : ۴۸ ـ ۳۷
www.appliedgeology.ir

جداسازی طلای کم‌عیار کانی‌های سولفیدی چاه‌خاتون و سنجده به روش بیولیچینگ (منطقه‌ی معدنی موته، استان اصفهان)

الهام زاده نیل‌ساز *[۱]، احمد خاکزاد[۲]، نعمت الله رشید نژاد عمران[۳]

۱) دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زمین شناسی Elham2658@yahoo.com
۲) دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زمین شناسی
۳) دانشگاه تربیت مدّرس، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زمین شناسی
* عهده‌دار مکاتبات

چکیده

منطقه‌ی معدنی طلای موته در ۲۹۵ کیلومتری جنوب ـ جنوب غربی تهران و ۷۰ کیلومتری شهر دلیجان قرار گرفته است. در حال حاضر از میان ۹ کانسار اکتشافی، فقط دو کانسار سنجده و چاه‌خاتون در حال بهره‌برداری می‌باشند. یکی از مهمترین مشکلات استحصال طلا در این دو کانسار رو به اتمام نهادن ذخیره‌ی اکسیدی و آغاز شدن کانه‌زایی در بخش سولفیدی می‌باشد. با توجّه به مطالعات کانی‌شناسی و ژئوشیمی، طلا به‌صورت ذرّات بسیار ریز در شبکه‌ی کانیایی پیریت و آرسنوپیریت احاطه گردیده است و از آنجا که روش‌های معمول جهت آزادسازی طلا اقتصادی و موافق مسائل زیست محیطی نمی‌باشد، بنابراین استفاده از تکنیک‌هایی چون لیچینگ بیولوژیکی که هر دو پارامتر اقتصادی بودن و عدم آلودگی زیست محیطی را دارا می‌باشند، امری ضروری به‌نظر می‌رسد. یکی از بهترین گونه‌های باکتریایی مورد استفاده در این متد باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس می‌باشد. با توجّه به این‌که، عیار کانسارهای چاه‌خاتون و سنجده از سه گرم در تن کمتر می‌باشد، نمونه‌ای نرم از هر دو کانسار تهیّه گردید. پس از ۲۰ روز فرآیند بیولیچینگ بر روی نمونه‌ی نرم تهیّه شده، گونه‌ی M_8 با pH =۲/۲ بهترین کارایی را با حذف حدود ۹۶/۳ درصد سولفید نشان داد.

واژه‌های کلیدی: بیولیچینگ، تیوباسیلوس فرواکسیدانس، چاه‌خاتون، سنجده، موته.

Gold extraction from low grade sulfide minerals in Chahkhatoon and Senjedeh mines by bioleaching technique (Muteh mine field, Isfahan State)

E. Zadehnilsaz[1], A. Khakzad[2] & N. RashidneJhadomran[3]

1) Department of Geology, Islamic Azad University, Sciences & Research Campus, Tehran, I.R. Iran
2) Department of Geology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, I.R. Iran

3) Department of Geology, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran

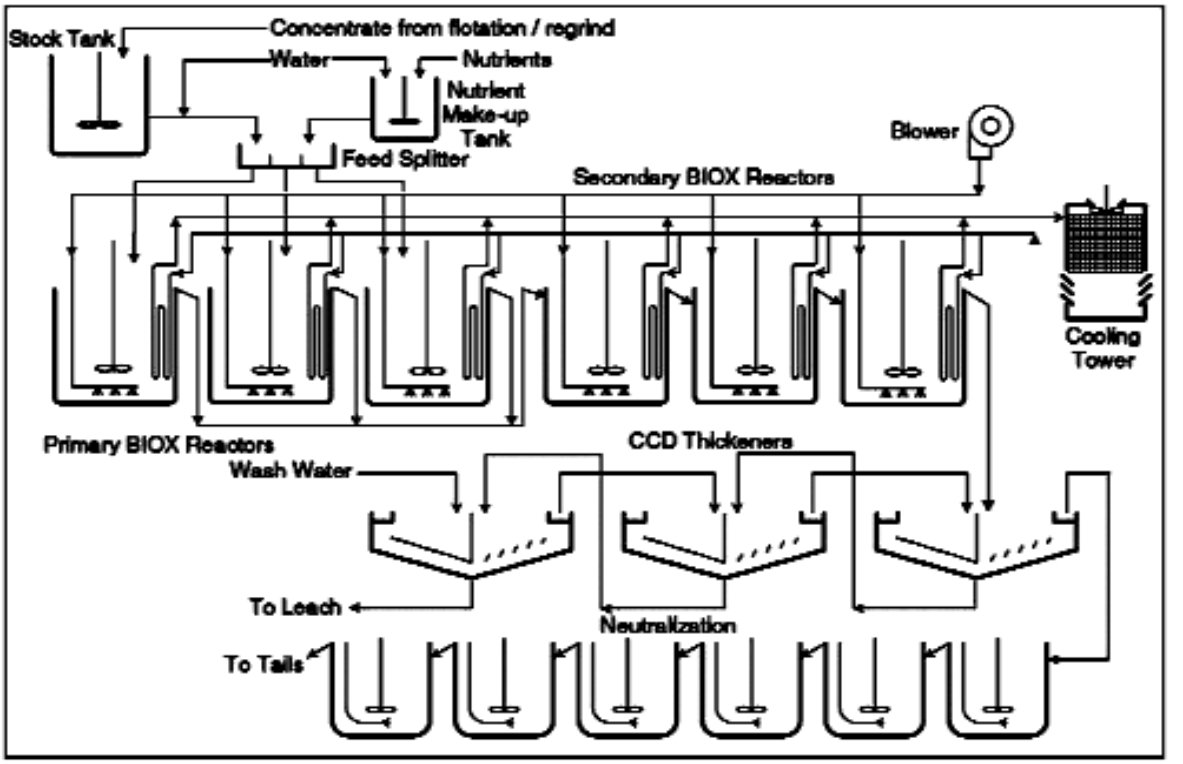
Abstract

Muteh goldfield is located in 295Km S-SW of Tehran and 70 km of Delijan city in central Iran, is very important for Iran's annual gold production rate. There are 9 recognized gold deposits but, according to tonnage, Au grade, economic factors, geologic and engineering parameters, gold is extracted from only 2 deposits: Chahkhatoon and Senjedeh. There is a big problem because the gold reserves of Chahkhatoon and Senjedeh in oxide zones are nearly finished and gold extractions will be continue from sulfide zones. Based on mineralogy and geochemistry studies, sulfide ores are very resisting because the recovered gold of these sulfide resisting ores is less than 80%. In the sulfide resisting deposits of Muteh, very fine gold is surrounded by Pyrite and Arsenopyrite. The common methods for extraction are not economical, therefore these resisting ore deposits should settle in a primary treatment, but the suggested methods are very expensive and the environment is polluted at a high level. In this paper, according to bioleaching advantage, this method was used for gold extraction from sulfide minerals. Thiobacilus Ferrooxidans is a proper microorganism in this method because gold grades from samples of Chahkhatoon and Senjedeh are less than 3 ppm. So, a norm sample was provided from Senjedeh and Chahkhatoon mines. Next, it was used in Stirred tank process. Their search showed that after 20 days of bioleaching process, M8 species with pH=2.2 are very important for the elimination of sulfide (%96.30).

Key words: Muteh, Senjedeh, Chahkhatoon, bioleaching, Thiobacilus Ferrooxidans.

۱- مقدّمه

بیولیچینگ روشی است که در آن از میکروارگانیسم‌ها برای جداسازی فلزات باارزش کم‌عیار از کانسنگ‌هایی که روش‌های معمول برای استحصال فلزات از آن‌ها به‌طور موثّر، جوابگو نمی‌باشد مورد استفاده قرار می‌گیرد (تصویر ۱). این کار توسّط میکروارگانیسم‌های اتوتروف اسیدوفیل اکسیدکننده‌ی آهن و گوگرد انجام می‌گیرد. در این فرآیند میکروارگانیسم‌ها با تجزیه‌ی سنگ‌های معدنی باعث آزادسازی و یا محلول‌سازی فلزات کم عیار می‌گردند که پس از آن با به‌کارگیری از روش‌های متداول می‌توان فلز را از محلول فروشویی شده استخراج نمایند (اولیازاده ۱۳۷۸).



تصویر۱- عملکرد شماتیک روش بیولیچینگ، با استفاده ازمیکروارگانیسم‌ها برای جداسازی فلزات با ارزش کم عیار از کانسنگ‌ها

باکتری‌های مناسب جهت عملکرد بیولیچینگ همگی دارای طبعی اسیدی هستند که اگر در دمای ۴۰-۲۰ درجه فعّالیّت کنند، مزوفیل و اگر در دمای ۷۰-۴۰ درجه فعّالیّت کنند، ترموفیل گویند. تغییر در شرایط بهینه‌ی میکروارگانیسم‌های مورد استفاده جهت فرآیند بیولیچینگ بالطبع عملکرد آنها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد، بنابراین برای بهترین نتیجه از عملکرد میکروارگانیسم‌های مذکور، آگاهی از کلّیه‌ی عوامل موثّر بر شرایط بهینه‌ی رشد، تلقیح، تکثیر و عملکرد آن‌ها ضروری است (اولیازاده ۱۳۷۸).

۲- فعّالیّت‌های بیولیچینگ صورت گرفته در ایران

با اتمام ذخیره‌ی اکسیدی معادن چاه‌خاتون و سنجده استفاده از بخش سولفوری مطرح گردیده است. با توجّه به این که کارخانه‌ی موته برای فرآوری طلا از کانسنگ اکسیدی طرّاحی شده است، انجام مطالعات دقیق کانی‌شناسی و کانه آرایی بر روی کانسنگ سولفوری کانسارهای مذکور باید صورت پذیرد. در این راستا نمونه‌ای نرم از بخش سولفوری چاه‌خاتون و سنجده تهیّه گردید. درگیری و همراهی طلا با کانی پیریت، بازیابی آن را با روش سیانوراسیون کاهش می‌دهد. بازیابی طلا از کانسنگ با سیانوراسیون مستقیم، حدود ۷۷ درصد است. این بازیابی کانسنگ سولفوره چاه‌خاتون و سنجده را در رده‌ی کانسنگ‌های مقاوم قرار می‌دهد. برای استحصال طلا از کانسنگ‌های مقاوم روش‌های متفاوتی مانند تشویه، خردایش خیلی زیاد، اکسیداسیون تحت فشار و میکروبی وجود دارند (اولیازاده و طباطبایی یزدی ۱۳۷۵).

هدف کلّی استفاده از این روش‌ها آزاد کردن ذرّات طلا از متن کانی‌های سولفوری است. از آنجا که در سنگ‌های معدنی سولفیدی مقاوم، طلا به‌صورت ذرات بسیار ریز، توسّط کانی‌هایی چون پیریت و آرسنوپیریت احاطه شده است و استحصال طلا از این کانسنگ‌ها به کمک روش‌های مرسوم نظیر سیانوراسیون، بازده‌ی بسیار کمی دارد، بنابراین ضروری است که این قبیل سنگ‌های معدنی مقاوم قبلاً در معرض یک تیمار اوّلیّه قرار گیرند. به این منظور در صنعت، روش‌های مختلفی از جمله روش‌های تشویه، اکسایش تحت فشار و خردایش زیاد پیشنهاد می‌شود. امّا روش‌های ذکر شده امروزه به دلیل هزینه‌های بسیار بالا و آلودگی محیط زیست کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند، به این ترتیب روش‌های اکسایش بیولوژیکی جایگزین آن‌ها شده است (سبزه‌ای ۱۳۷۵، شاهوردی ۱۳۷۶).

در روش تیمار میکروبی، میکروارگانیسم‌های مختلف، پیریت و آرسنوپیریت را به‌عنوان تنها منبع انرژی مصرف کرده و با تجزیه‌ی آن‌ها سبب آزاد شدن ذرّات طلا می‌شوند و سپس با استفاده از روش‌های معمول سیانوراسیون می‌توان طلای آزاد شده را استحصال نمود. با توجّه به کاربرد آسان بیولیچینگ و هزینه‌ی کمتر آن نسبت به روش‌های دیگر، تیمار اوّلیّه، استفاده از آن را اقتصادی می‌نماید. استفاده از روش‌های تیمار میکروبی کانسنگ‌های مقاوم طلا در اغلب کشورها متداول شده است و بر حسب عیار طلای موجود در کانسنگ‌ها در مقیاس صنعتی از روش فروشویی توده‌ای برای عیار بیشتر از سه گرم در تن و یا فرآیند تانک همزن برای عیار کمتر از سه گرم در تن استفاده می‌شود (اولیازاده ۱۳۷۸ و شاهوردی ۱۳۷۶). از آنجا که عیار اندازه‌گیری شده در هر دو کانسار چاه‌خاتون و سنجده کمتر از سه گرم در تن می‌باشد برای انجام فرآیند بیولیچینگ آزمایشگاهی و استفاده از گونه‌های M_4, M_5, M_7, M_8 باکتری تیوباسیلوس فرو اکسیدانس، به تهیّه‌ی یک نمونه‌ی نرم از دو کانسار نامبرده اقدام گردید. ۲۰ روز پس از فرآیند بیولیچینگ روی نمونه‌های آزمایشگاه‌ی بازیابی طلا حدود ۹۶ درصد حاصل شد. حال به ذکر برخی از فعّالیّت‌های بیولیچینگ انجام شده در ایران پرداخته می‌شود:

مجتمع مس سرچشمه از سال ۱۳۸۰ به استحصال بیولوژیکی مس از سرباره‌ی کوره‌های ریورب مشغول است. اولیازاده (۱۳۷۸) روش‌های فرآوری کانسنگ‌های مقاوم طلا را برّرسی نمود. اولیازاده و طباطبایی یزدی (۱۳۷۵) در مورد فرآوری میکروبی کانسنگ‌های سولفوری طلا گزارشی ارائه دادند. شاهوردی (۱۳۷۶) فرآوری میکروبی کانسنگ طلای موته را در رساله‌ی دکترای خود برّرسی نمود. شاهوردی و همکاران (۱۳۸۲) بیولیچینگ کانسنگ مقاوم معدن طلای موته توسّط باکتری ترموفیل اسیدیانوس بریرلی را ارائه دادند. طباطبایی یزدی (۱۳۸۲) فروشویی میکروبی پیریت معدن طلای موته به کمک تیوباسیلوس فرواکسیدانس جداشده از ایران را مطالعه کردند.

۳- باکتری‌های موثّر در فرآیند بیولیچینگ

۳-۱- باکتری‌های مزوفیل Mesophiles

این باکتری‌ها انرژی لازم برای متابولیسم خود را از اکسیداسیون

گوگرد، یون فرو و ترکیبات گوگرددار به‌دست می‌آورند. مهمترین این باکتری‌ها دسته‌ی تیوباسیلوس فرواکسیدانس، تیوباسیلوس تیواکسیدانس و لپتوسپریلیوم فرواکسیدانس می‌باشند که هر سه گرم منفی، اتوتروف اجباری، اسید دوست اجباری و هوازی هستند. عامل متمایزکننده‌ی باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس در این است که این باکتری می‌تواند در شرایط کمبود اکسیژن مانند سایر گونه‌های مشابه خود انرژی مورد نیازش را جهت رشد و نمو از اکسیداسیون یون فرو، گوگرد عنصری و ترکیبات گوگرددار به‌دست می‌آورد. کاربرد عملی این پدیده در انحلال فلزات در مرکز توده است که هواده‌ی کمتری در آن صورت می‌گیرد. با کاهش دما، زمان دو برابر شدن باکتری لپتوسپریلیوم فرواکسیدانس بیشتر از تیوباسیلوس فرواکسیدانس افزایش می‌یابد و بنابراین در دماهای پایین تیوباسیلوس فرواکسیدانس جمعیّت غالب را تشکیل می‌دهد (شاهوردی و همکاران ۱۳۸۲).

۳-۲- باکتری‌های گرمادوست معتدل (Moderate Thermophiles)

از گونه‌های متفاوت این نوع باکتری‌ها جنس سولفوباسیلوس دارای شرایط هوازی، گرم مثبت و اتوتروف است که از یون فرو، گوگرد عنصری و ترکیبات گوگرددار معدنی مانند پیریت، کالکوپیریت، آرسنوپیریت و... به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کند. بقیّه‌ی باکتری‌های گرمادوست معتدل فقط در حضور عصاره‌ی مخمّر (Yeast extract) به صورت فعّال رشد می‌کنند (شاهوردی و همکاران ۱۳۸۲).

۳-۳- باکتری‌های به شدّت گرمادوست (High Thermophiles)

چهار دسته از این باکتری‌ها ترکیبات سولفیدی را اکسید می‌کنند: سولفولوبوس (Sulfolobus)،اسیدیانوس(Asidianus)، متالوسفرا (Metallosphera)،سولفوروکوکوس (Sulfurococcus). همه‌ی این باکتری‌ها هوازی، کروی شکل و به‌شدّت گرمادوست و اسیددوست هستند. سولفولوبوس و اسیدیانوس در فرآیند بیولیچینگ اهمیّت بیشتری دارند، از طرفی تمامی این گونه‌ها لیتواتوتروف می‌باشند (شاهوردی و همکاران ۱۳۸۲).

۴- عوامل مؤثّر بر فرآیند بیولیچینگ

متغیّرهای زیادی بر سرعت فروشویی و بازیافت در سیستم‌های فروشویی کپه‌ای، توده‌ای و... تأثیر دارند. این متغیّرها در دوسته برّرسی می‌شوند (اولیازاده ۱۳۷۸و شاهوردی ۱۳۷۶ و شاهوردی و همکاران ۱۳۸۲):

الف- متغیّرهایی که بر شیمی فرآیند تأثیرگذارند: اندازه‌ی ذرّات و سطح تماس، اسیدیته، اکسیدکننده، آگلومراسیون، زمان تیمار (Curing Time)، نفوذپذیری

ب- متغیّرهایی که بر فعّالیّت باکتری موثّرند: اسیدیته یا پ هاش محلول، اکسیژن، مواد غذایی، دما

۵- ترکیب مواد معدنی کانسنگ

ترکیب موادّ معدنی و موادّ باطله عوامل اصلی موثّر بر فعّالیّت باکتری هستند. برای هر نوع کانسنگ باید آزمایش‌های جداگانه‌ای انجام شود تا مناسب بودن آن برای فروشویی باکتریایی مشخّص گردد. در فرآیند استخراج یا انحلال فلز علاوه بر ترکیبات سولفیدی فلز مورد نظر، وجود ترکیبات دیگر مانند پیریت که به فعّالیّت کمک می‌کند یا آتاکامیت که فعّالیّت را کاهش می‌دهد از عوامل مهمّ می‌باشند (شاهوردی و همکاران ۱۳۸۲و طباطبایی یزدی ۱۳۸۲).

۵-۱- مقدار موادّ سولفیدی

در مخازن فروشویی، دانسیته‌ی موادّ تغلیظ شده عامل تعیین‌کننده‌ی سرعت محسوب می‌گردد. در شرایط عملیاتی، جمعیت باکتری به دانسیته‌ی مواد معدنی و توزیع اندازه‌ی ذرّات آن بستگی دارد و از طرفی دانسیته‌ی بهینه نیز به توزیع اندازه‌ی ذرّات بستگی دارد. جمعیّت باکتری در فاز محلول و سرعت افزودن موادّ معدنی باید به گونه‌ای باشد که موادّ سولفیدی جدید بدون کاهش سرعت انحلال موادّ سولفیدی و عدم کاهش جمعیت باکتریایی، باکتری‌ها را از محلول به سطح خود جذب نماید (طباطبایی یزدی ۱۳۸۲).

۵-۲- یون‌های فلزی

بسیاری از باکتری‌ها دارای یک حدّ قابلیّت عملکرد مشخّص از یون‌های فلزی با حفظ فعّالیّت اکسیداسیون می‌باشند. این محدودیت بر اساس باکتری مورد استفاده در فرآیند تغییر می‌کند. باکتری‌های گرمادوست معتدل عمدتاً مقاومت بیشتری به غلظت فلزات دارند.

آرسنیک به‌صورت آرسنوپیریت در فروشویی کانسنگ‌های معدنی طلا موجود است و اثر ممانعت‌کنندگی بر سرعت رشد باکتری‌ها دارد. آرسنیک در غلظت‌های ppm۱۰۰-۵۰ برای باکتری سمّی است و حضور کاتیون‌هایی مانند جیوه، نقره، کادمیوم و سرب در غلظت ۱۰/mg ا اکسیداسیون میکروبی یون فرو را متوقّف می‌کند. یکی از اثرات جانبی بیولیچینگ انحلال سایر فلزات سنگین موجود در کانسنگ می‌باشد که در صورت انباشته شدن بر فعّالیّت باکتری تأثیر منفی دارند (طباطبایی یزدی ۱۳۸۲). با افزایش مداوم غلظت یک ماده‌ی سمی در طی فرآیند، سازگاری باکتری نسبت به آن ماده افزایش یافته و می‌تواند برای اهداف مورد نظر استفاده شود. در فرآیند سازگارکردن تیوباسیلوس فرواکسیدانس در غلظت‌های بالای مس، مشاهده شد که گونه‌ی سازگار شده، بازده‌ی بهتری در فروشویی تغلیظ شده‌ی فلزات دارد، ولی این خاصیّت دائمی نبوده و یک خاصیّت وابسته به شرایط می‌باشد.

۵-۳- آهن

فرآیند بیولیچینگ با تبدیل یون فرو به فریک اهمیّت دارد. مطالعات زیادی برای برّرسی آهن مورد نیاز به منظور فروشویی موثّر صورت گرفته ولی محاسبه‌ی مقدار واقعی آهن مورد نیاز مشکل است. برخی از واحدهای فروشویی با غلظت آهن ۱g/۱۰-۲ با موفقیّت کار می‌کنند (طباطبایی یزدی ۱۳۸۲).

۶- تلقیح باکتری

در بسیاری از واحدهای عملیاتی مدرن تلقیح باکتری به درون کپه برای کمک به شروع فرآیند یا تقویت جمعیّت باکتری صورت می‌گیرد و در بعضی واحدها محیط طبیعی برای رشد باکتری وجود داشته و تلقیح صورت نمی‌گیرد. در مورد توانایی باکتری برای سازگار شدن نسبت به تغییر از محیط طبیعی به محیط فروشویی باید برّرسی بیشتری صورت گیرد (Acevedo 2000). اگر کنترل فرآیند مورد نظر باشد باید شرایطی ایجاد گردد که باکتری‌های معیّن تلقیح شده به محیط با سرعتی خیلی بیشتر از گونه‌های بومی موجود رشد کرده و غالب شوند. در غیر این صورت بعد از مدّتی ترکیب باکتریایی تغییر کرده و کنترل فرآیند از دست می‌رود. برای رسیدن به این هدف کنترل مواد غذایی، دما، اسیدیته و توانایی باکتری برای سازگارشدن به غلظت فلزات آزاد شده در فرآیند موردنیاز است (Acevedo 2000, Ahonen & Tuovinen 1993)

۶-۱- مواد فعّال کننده‌ی سطح

در اکثّر مناطق روش معمول برای اقتصادی کردن استخراج فلز از کانسنگ‌های کم عیار روش فلوتاسیون جهت تولید کانسنگ تغلیظ شده می‌باشد. تمام معرّف‌های مورد استفاده در فرآیند فلوتاسیون، مواد فعّال‌کننده‌ی سطح می‌باشند که میزان قابل توجّهی از آن‌ها در کانسنگ تغلیظ شده باقی می‌مانند.

این ترکیبات رشد و فعّالیّت باکتری‌ها و در نتیجه فرآیند بیولیچینگ را متوقّف کرده و بر جذب اکسیژن در سطوح تماس تأثیر می‌گذارند(Ahonen & Tuovinen 1993).

به‌واسطه‌ی طبیعت اتوتروف بودن باکتری‌ها بقایای مواد آلی استفاده شده در واحد استخراج با حلاّل، تأثیر منفی بر فعّالیّت باکتری‌ها و هزینه‌ی فرآیندها خواهند داشت. تأثیر این موادّ آلی از طریق کاهش سرعت اکسیداسیون بیولوژیکی یون فرو و افزایش زمان تأخیر صورت می‌گیرد، عملیات مقدّماتی با استفاده از کربن فعّال به طور کامل اثر ممانعت کنندگی موادّ آلی را حذف می‌کند (Ahonen & Tuovinen 1993, Bentley & Chasteen 2002).

۷- مواد، وسایل و روش کار

۷-۱- محیط‌های کشت

۷-۱-۱- محیط کشت K۹ جامد

k ۹ محیط رشد باکتریایی به دو صورت جامد و محلول می‌باشد و براساس متدهای بین المللی نامگذاری شده است. در این محیط آهن فرو سوبسترای اصلی است و بنابراین یک محیط کشت اقتصادی برای باکتری‌های اکسیدکننده‌ی آهن به‌خصوص تیوباسیلوس فرواکسیدانس می‌باشد. برای تهیّه‌ی این محیط ۳ محلول زیر جداگانه تهیّه، استریل و سپس مخلوط می‌شوند (Boon & Heijnen 1993, Brierley 1995).

۷-۱-۱-۱- محلول I:

موارد ذکر شده در آب مقطّر حل شده و به حجم ۵۰۰cc رسانیده و به مدّت ۱۵ دقیقه در ۱۲۱°c اتوکلاو می‌گردد (Boon & Heijnen).

1993, Brierley 1995)

اجزای موجود در ۵۰۰ میلی لیتر	
K_2HPO_4	۰/۵ گرم
$MgSO_4.7H_2O$	۰/۵ گرم
$(NH_4)_2SO_4$	۰/۵ گرم
H_2SO_4	۵ میلی لیتر (محلول ۱N)

۷-۱-۱-۲- محلول II:

موادّ ذکر شده در آب مقطّر حل و سپس به حجم ۱ لیتر رسانیده، با فیلتر استریل می شود (Boon & Heijnen 1993, Brierley 1995).

اجزای موجود در ۱ لیتر	
$FeSO_4.7H_2O$	۱۶۷ گرم
H_2SO_4	۵۰ میلی لیتر (محلول ۱N)

۷-۱-۱-۳- محلول III:

اجزای موجود در ۱ لیتر	
Agar-Agar	۱۰ گرم

مقدار آگار مورد نیاز را در آب مقطّر حل کرده و به حجم می رسانیم. پس از این که آگار به خوبی حل شد به مدّت ۱۵ دقیقه در ۱۲۱°c اتوکلاو می شود. در شرایط استریل، ۴۰۰cc محلول از محلول های II و III با یکدیگر مخلوط می شوند (Boon & Heijnen 1993, Brierley 1995).

۷-۱-۲- محیط کشت ۹K محلول

روش تهیّه ی محیط کشت ۹K محلول همانند محیط کشت ۹K جامد است، تنها تفاوت در این است که در محلول III آگار اضافه نشده و فقط آب مقطّر استفاده می گردد. از این محیط برای خنثی سازی باکتری های اکسیدکننده ی آهن استفاده می شود (Boon &Heijnen 1993, Brierley 1995, Brierley & Brierley 1997).

۷-۱-۳- محیط کشت جامد ۲/۲

در محیط کشت جامد ۲/۲ یون فرو و تیوسولفات به عنوان موادّ غذایی اصلی در دسترس باکتری اند و لذا یک محیط کشت مناسب جهت جداسازی و نگهداری باکتری های اکسیدکننده ی آهن و گوگرد محسوب می گردد. همچنین برای خالص سازی تیوباسیلوس فرواکسیدانس از این محیط کشت استفاده می شود. محیط کشت ۲/۲ در چهار محلول زیر به صورت جداگانه تهیّه و با هم مخلوط می شوند (Boon & Heijnen 1993, Brierley 1995, Brierley & Brierley 1997).

محلول A: ۲ گرم سولفات آبدار سدیم ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) در ۱۰ میلی لیتر آب مقطّر

محلول B: ۲ گرم سولفات آهن آبدار (FeSO4.7H2O) در ۱۰ میلی لیتر آب مقطّر

محلول C: ۴/۵ گرم دی آمونیوم سولفات ($(NH_4)_2SO_4$)، ۰/۱۵ گرم کلرید پتاسیم (KCl)، ۰/۷۵ گرم سولفات منیزیم آبدار ($MgSO_4.7H_2O$) در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطّر (pH=4/5)

محلول D: ۶ گرم آگار- آگار در ۴۸۰ میلی لیتر آب مقطّر

محلول های C و D به مدّت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۱°c و محلول های A و B با فیلتر استریل شده، بعد از سرد شدن C و D تا دمای ۴۵°c ابتدا محلول های A و D و سپس B و C با یکدیگر مخلوط و در نهایت همه با هم مخلوط می گردند (Brierley & Brierley 1997).

۸- جداسازی باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس

۸-۱- غنی سازی

به منظور غنی سازی باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس، ۱ تا ۲ گرم از نمونه های تهیّه شده از نقاط مختلف معدن موته به صورت خاک خشک، خاک مرطوب، لجن و آب معدنی به محیط کشت اختصاصی ۹K تلقیح و در ۳۰°c بر روی همزن با دور ۲۰۰-۱۸۰ در دقیقه گرماگذاری می شوند. پس از مدّتی که رنگ محلول قهوه ای یا نارنجی شد، محیط غنی شده، دو تا سه مرتبه به صورت متوالی در محلول تازه ی ۹K کشت مجدّد و در شرایط قبلی گرماگذاری می گردند (Oliver & Pesic 1997). در طول عملیّات غنی سازی مشاهده گردید که رنگ برخی از نمونه ها نارنجی و سپس قهوه ای متمایل به قرمز شد که نشان دهنده ی اکسیداسیون یون فرو به فریک و حضور باکتری های اکسیدکننده ی آهن به خصوص تیوباسیلوس فرواکسیدانس می باشد. در برخی نمونه ها تغییر رنگ محلول غنی سازی مشهود نبود که احتمالاً جمعیّت باکتریایی در این نمونه ها کم بوده است. از طرفی به منظور عملیّات جداسازی و خالص سازی نیاز به جمعیّت زیاد باکتریایی می باشد (Debus 1990). همچنین می توان مشاهده نمود که برخی نمونه ها به رنگ کِرِم درآمده، در این

نمونه‌ها رسوب کرم‌رنگ به‌وفور یافت شد که اگر نمونه‌ها به حالت ساکن گذاشته می‌شدند، رسوب در ته آن انباشته می‌شد و درنتیجه محلول شفاف‌تری به‌دست می‌آمد. با مطالعه‌ی رسوب‌ها مشاهده گردید که به‌دلیل فوق اشباع شدن غلظت یون فریک در این محدوده‌ی پ هاش، ژاروسیت رسوب می‌کند.

۸-۲- خالص‌سازی

مقداری از محلول غنی‌شده تیوباسیلوس فرواکسیدانس به وسیله‌ی لوپ استریل به محیط کشت 9K جامد و ۲/۲ منتقل و در دمای ۳۰°c کشت شدند. زمان مورد نیاز برای رشد باکتری‌ها در محیط جامد و تشکیل کلونی ۱۰-۷ روز می‌باشد. عملیّات خالص‌سازی با روش جداسازی و کشت متوالی کلونی‌های منفرد در محیط‌های جامد تازه انجام می‌گیرد (Debus 1990, Konishi et al. 1995).

۸-۳- شناسائی

باکتری‌های خالص شده براساس خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی قابل شناسائی می‌باشند.باکتری‌های تیوباسیلوس فرواکسیدانس گرم منفی و میل‌های شکل با ابعاد ۱ x-۱/۷μ ۰/۵μ-۰/۳ بوده و سلول‌های آن به‌صورت منفرد و جدا از هم و گاهی به‌صورت دوتایی دیده می‌شوند.کلونی تشکیل شده از کشت باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس در محیط 9K جامد دارای یک مرکز قهوه‌ای و پررنگ است که هاله‌ای کم‌رنگ‌تر اطراف آن را فرا گرفته است (Konishi et al. 1995). به منظور برّرسی مورفولوژیکی از نمونه‌های غنی‌شده یا از کلونی‌های خالص، لام تهیّه شد و پس از تثبیت و رنگ‌آمیزی گرم، مشاهدات میکروسکوپی در بزرگنمایی ۱۰۰۰ صورت گرفت (جدول‌های ۱و۲، تصویر ۲).

جدول ۱- خصوصیات مورفولوژیکی باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس مشاهده شده در زیر میکروسکوپ نوری

خصوصیات کلی	کروی، نرم با مرکز قهوه‌ای رنگ و اطراف روشن‌تر
اندازه‌ی سلول	۱ x-۱/۷μ ۰/۵μ-۰/۳
شکل باکتری	کوچک و میله‌ای
جنس دیواره‌ی سلولی	گرم منفی

جدول ۲- خصوصیات فیزیولوژیکی باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس

منبع انرژی	آهن فرو، گوگرد (۲-)، گوگرد عنصری، تیوسولفات، کانی‌های سولفیدی
مصرف اکسیژن	هوازی

تصویر ۲- باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس میله‌ای، بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر توسّط میکروسکوپ الکترونی

۹- روش کار

گونه‌های تیوباسیلوس فرواکسیدانس ابتدا در محیط کشت 9K رشد داده شدند. برای اندازه‌گیری فعّالیّت باکتری‌ها در فرآیند بیولیچینگ محیط پایه‌ی معدنی مهیّا گردید. این محیط عبارت بود از محیط کشت پایه‌ی K ۹ و مقادیر مشخّصی از پیریت که از تغلیظ و آسیا شدن پیریت نمونه‌ی نرم معادن چاه خاتون و سنجده با دانه‌بندی کمتر از ۷۵μm (۲۰۰ مش) به‌دست آمده است. تغلیظ شده‌ی پیریت نمونه‌ی نرم حاوی ۷۹ درصد پیریت و بقیه شامل سیلیس و کانی‌های دیگر بود. مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط پایه‌ی معدنی در داخل ارلن‌های نیم لیتری ریخته شد و به کمک اتوکلاو در دمای ۱۲۱°c به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید. جهت برّرسی تجزیه‌ی باکتریایی پیریت، محیط‌های کشت پیریت با تراکم‌های ۱ درصد، ۲ درصد، ۴ درصد پیریت با پ هاش‌های ۲/۲ و ۱/۷ تهیّه گردید. برای تنظیم پ هاش محیط‌های کشت پایه‌ی معدنی از اسید سولفوریک 2N استفاده شد، سپس حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر از کشت سه روزه‌ی باکتری‌های رشد کرده روی محیط کشت 9Kجامد انتخاب گردید و به کمک سانتریفیوژ و محیط 9K، دوبار شستشو داده و از رسوب آن که حاوی سلول‌های شسته شده و فاقد املاح آهن می‌باشد در محیط 9K سوسپانسیون تهیّه و بعد به محیط کشت پایه‌ی معدنی تلقیح شد، به‌طوری که در زمان تلقیح، تراکم سلول‌های تیوباسیلوس فرواکسیدانس در محیط کشت پایه‌ی معدنی حدود $۲/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در هر میلی‌لیتر بود (Natarajan et al. 1994, Sampson et al. 2000). ارلن‌های

حاوی محیط پایه‌ی معدنی با تراکم‌های مختلف پیریت با پ هاش مختلف و باکتری تیوباسیلوس فرواکسیدانس در دمای ۳۰°c به مدّت ۲۰ روز بر روی همزن با دور ۲۰۰-۱۸۰ دور در دقیقه گرماگذاری شد. سپس در زمان‌های مختلف مقدار مشخّصی محلول از ارلن‌ها برداشته و رشد میکروارگانیسم‌ها، برّرسی قدرت اکسیداسیون یون فرو و برّرسی قدرت اکسیداسیون گوگرد مورد مطالعه قرار گرفت.

در اینجا چند پارامتر از جمله کاهش پ هاش محیط، رشد به کمک پ هاش‌متر و میزان کلّ آهن محلول به کمک روش ارتو- فنانترولین و اسپکتروفتومتری، اندازه‌گیری شد. پیریت شامل عناصر آهن و گوگرد می‌باشد، لذا زمانی که پیریت به کمک میکروارگانیسم‌ها تجزیه شده و به صورت محلول در می‌آید، آهن آن نیز محلول و یا به‌صورت ژاروسیت ته‌نشین می‌شود. گوگرد هم به‌صورت اسید سولفوریک و یا به صورت ترکیب با آهن و ژاروسیت در محیط رها می‌گردد. بنابراین با اندازه‌گیری آهن کلّ محلول شده و رسوب یافته، می‌توان مقدار تجزیه‌ی پیریت، سرعت فروشویی پیریت و درصد پیریت حذف شده را به‌دست آورد (Sampson et al. 2000). برای اندازه‌گیری سرعت فروشویی پیریت، ابتدا منحنی غلظت آهن کلّ محلول نسبت به زمان رسم و سپس شیب منحنی سرعت در قسمت‌های مختلف خطّی اندازه‌گیری می‌گردد.

۹-۱- برّرسی قدرت اکسیداسیون یون فرو

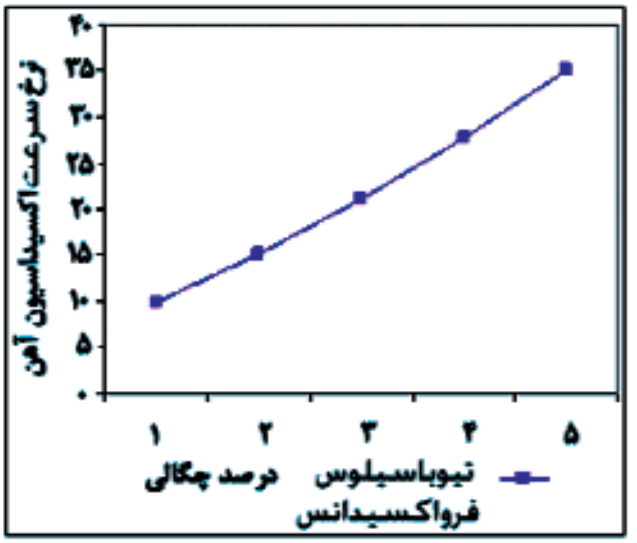
مزیّت عمده و مهمّ فرآیند بیولیچینگ اکسیداسیون یون فرو به فریک و در نتیجه افزایش سهم فروشویی شیمیایی کانسنگ‌های سولفیدی است. یون فریک به‌عنوان اکسیدکننده‌ی مناسب در فرآیند انحلال فلزات از کانسنگ‌های سولفیدی شرکت کرده و به فرو احیا می‌شود. نقش باکتری، اکسیداسیون مجدّد یون فرو به فریک است که به این ترتیب اِ هاش (Eh) محلول در مقدار بالایی حفظ شده و فرآیند انحلال تسریع می‌شود. آزمایش برّرسی قدرت اکسیداسیون یون فرو در محیط کشت 9K به منظور رسیدن به اهداف زیر انجام شد (Sampson et al. 2000):

الف) شناسائی فیزیولوژیکی باکتری‌های خالص جدا شده به خصوص تیوباسیلوس فرواکسیدانس

ب) تعیین قدرت اکسیداسیون یون فرو به‌عنوان یک مشخّصه‌ی مهم برای گونه‌های خالص شده

ج) تعیین مکانیسم فروشوئی در فرآیندهای آزادسازی طلا از کانسنگ سولفیدی

برای انجام آزمایش، ۴ ارلن ۲۵۰cc هر کدام حاوی ۱۰۰cc محلول 9K استریل تهیّه شد. بر اساس هدف مورد نظر تلقیح باکتری به‌صورت کلونی خالص از محیط جامد به دو ارلن صورت پذیرفت. دو ارلن دیگر نیز به‌عنوان شاهد و بدون تلقیح باکتری استفاده شدند. سپس همه‌ی نمونه‌ها در دمای ۳۰°c بر روی دستگاه همزن با سرعت ۲۰۰-۱۸۰ دور در دقیقه گرماگذاری شدند. یک ساعت پس از شروع گرماگذاری اوّلین نمونه‌گیری به‌عنوان زمان صفر و بعد از آن هر ۸-۶ ساعت یک مرتبه نمونه‌گیری انجام گرفت. در هر نمونه‌گیری مقدار ۱cc از هر نمونه با پیپت استریل به بالن حجمی منتقل و با آب مقطّر اسیدی به حجم رسانیده، غلظت یون فرو محلول با روش ارتو- فنانترولین با دستگاه بیناب‌نگار جذب نوری و مقدار اِ هاش و پ هاش محلول با الکترود استریل اندازه‌گیری گردید (تصویر ۳).



تصویر ۳- تغییرات سرعت بیواکسیداسیون آهن پیریتی توسّط تیوباسیلوس فرواکسیدانس

۹-۱-۱- تهیّه‌ی محلول ارتو-فنانترولین

مقدار ۰/۱ گرم ارتوفنانترولین حاوی یک مولکول آب در ۱۰۰cc آب مقطّر حل گردید و در صورت نیاز می‌توان از حرارت برای حل کردن کمک گرفت (Sampson et al. 2000, Silverman Lundgren 1959).

۹-۱-۲- روش اندازه‌گیری

حجم معیّنی از نمونه‌ی مجهول به بالن ۱۰۰cc منتقل شد. ۱۰cc

محلول ارتو- فنانترولین و سپس ۸cc محلول سدیم استات (مقدار ۱۰ گرم سدیم استات در ۱۰۰cc آب مقطر حل شده) به آن اضافه و با آب مقطّر به حجم می‌رسانیم. جذب نور در طول موج ۵/۹nm اندازه‌گیری می‌شود. با قراردادن مقدار جذب نمونه‌ی مجهول در منحنی استاندارد غلظت آهن فرو به دست می آید (Sampson et al. 2000, Silverman & Lundgren 1959).

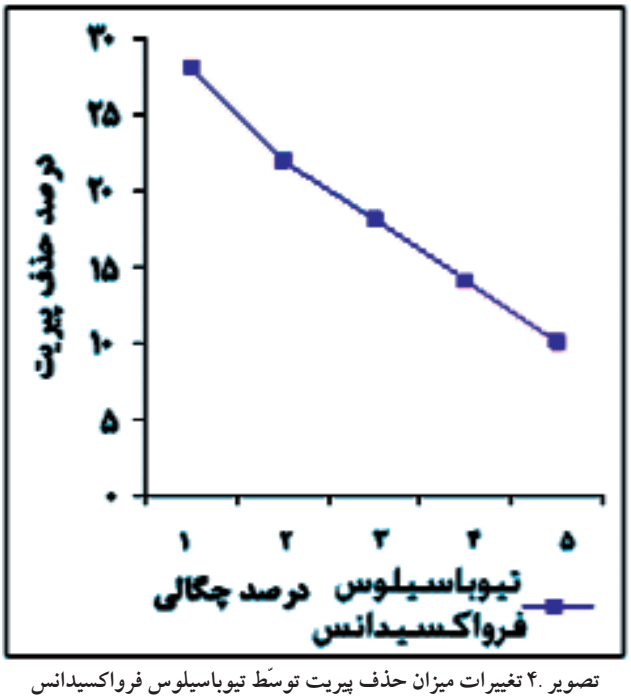
۹-۲- بررّسی قدرت اکسیداسیون گوگرد

در مکانیسم غیرمستقیم بیولیچینگ، اکسیداسیون شیمیایی موادّ سولفیدی با یون فریک به‌صورت ناقص صورت می گیرد و یون فرو و گوگرد تشکیل می‌شوند که در مراحل بعدی توسّط باکتری اکسید می گردند.بنابراین به‌واسطه‌ی تولید گوگرد عنصری و احتمال تشکیل لایه‌ی گوگرد بر روی سطوح موادّ معدنی ممکن است محدودیت نفوذ برای انتقال اکسیدکننده‌های شیمیایی و باکتری‌ها به سطح موادّ معدنی ایجاد شود. ضخامت لایه‌ی گوگرد بر سرعت نفوذ مواد معدنی به سطح تأثیرگذار است و به سرعت تشکیل گوگرد ناشی از اکسیداسیون شیمیایی مواد معدنی و سرعت اکسیداسیون باکتریایی گوگرد بستگی دارد (Silverman & Lundgren 1959). آزمایش بررّسی قدرت اکسیداسیون گوگرد به منظور رسیدن به اهداف زیر انجام شد:

الف) شناسایی فیزیولوژیکی باکتری‌های خالص شده

ب) تعیین قدرت اکسیداسیون گوگرد عنصری به‌عنوان معیار مهم برای باکتری‌های خالص

برای انجام آزمایش، ۴ ارلن ۲۵۰cc هر یک حاوی ۱۰۰cc محیط کشت تهیّه شد. بر اساس هدف مورد نظر تلقیح باکتری به صورت ۳-۲ کلونی خالص از محیط جامد به دو ارلن انجام شد. دو ارلن دیگر بدون تلقیح باکتری و به‌عنوان نمونه‌ی شاهد در نظر گرفته شدند. همه‌ی ارلن‌ها به‌صورت ساکن در دمای ۳۰°c گرماگذاری شدند. دو ساعت پس از شروع گرماگذاری اوّلین نمونه‌گیری به‌عنوان زمان صفر و سپس هر ۴-۲ روز یک مرتبه نمونه‌گیری صورت گرفت. در هر نمونه‌گیری مقدار ۱cc از محلول با پیپت استریل برداشته شد و غلظت سولفات محلول با روش غیرمستقیم اندازه‌گیری باریم با دستگاه بیناب‌نگار جذب اتمی تعیین گردید. روش آ اس تی ام (ASTM) نیز برای اندازه‌گیری غلظت یون سولفات، روش کدورت سنجی است که با افزودن کلرید باریم به محلول و تعیین میزان کدورت ناشی از ذرات معلّق سولفات باریم در دستگاه کدورت سنج (Nephelometer)، غلظت یون سولفات اندازه‌گیری می‌شود. در برخی از مطالعات برای اندازه‌گیری غلظت سولفات از همین خاصیت به روش بیناب‌نگار جذب اتمی استفاده می کنند (تصویر ۴).



تصویر ۴. تغییرات میزان حذف پیریت توسّط تیوباسیلوس فرواکسیدانس

۹-۲-۱- تهیّه‌ی محلول استاندارد

به منظور تهیّه‌ی محلول استاندارد باریم از کلرید باریم حاوی دو مولکول آب استفاده گردید. برای رسم بهترین منحنی کالیبراسیون به استانداردهای حاوی ۱۰،۲۰،۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر باریم نیاز است. این محلول‌های استاندارد با رقیق‌سازی از محلول ۱۰۰۰ppm تهیّه می‌شوند (Sampson et al. 2000, Silverman & Lundgren 1959).

۹-۲-۲- روش اندازه‌گیری

حجم معیّنی از محلول مجهول، به یک بشر ۵۰cc انتقال داده و بر روی صفحه‌ی داغ با دمای در حدود ۶۰-۸۰°c ثابت نگه داشته و به وسیله‌ی همزن مغناطیسی هم‌زده می‌شود. حجم معیّنی از محلول استاندارد ۱۰۰۰ppm باریم به صورت قطره قطره به بشر اضافه می گردد که در این مرحله رسوب سولفات باریم تشکیل می‌شود. به‌وسیله‌ی کاتد صافی واتمن NO.1 رسوب جدا و غلظت باریم در محلول صاف شده، به روش جذب اتمی اندازه‌گیری می‌شود (Sampson et al. 2000, Silverman & Lundgren 1959).

۱۰- مشخّصات کانسنگ معدنی

مقداری از کانسنگ معدنی با دستگاه سنگ شکن تا ذرّات کوچکتر از ۰/۵cm خرد، سپس به‌وسیله‌ی دستگاه آسیاب گلوله‌ای (Mill-Ball) طی چند مرحله‌ی متوالی (تا ذرات کوچک‌تر از ۷۵µm ۲۰۰ˇ<مش) پودر می شود.

۱۱- نتایج حاصل از عملکرد میکرو ارگانیسم‌ها بر نمونه‌ی نرم معادن چاه‌خاتون و سنجده

نتایج به‌دست آمده نشان داد که تمام گونه‌های تیوباسیلوس فرواکسیدانس آزمایش شده، توانایی تجزیه و مصرف پیریت به‌عنوان تنها منبع انرژی را دارا می‌باشند و در طی رشد در محیط کشت پایه‌ی معدنی، بخش آهن کانی به‌صورت یون‌های آهن فریک و بخش گوگرد پیریت، به‌صورت ترکیبات سولفاته، اکسایش می‌یابند. نتایج اصل از تجزیه‌ی میکروبی پیریت را می‌توان در تصاویر ۵ تا ۸ و جدول‌های ۳ و ۴ ملاحظه نمود.

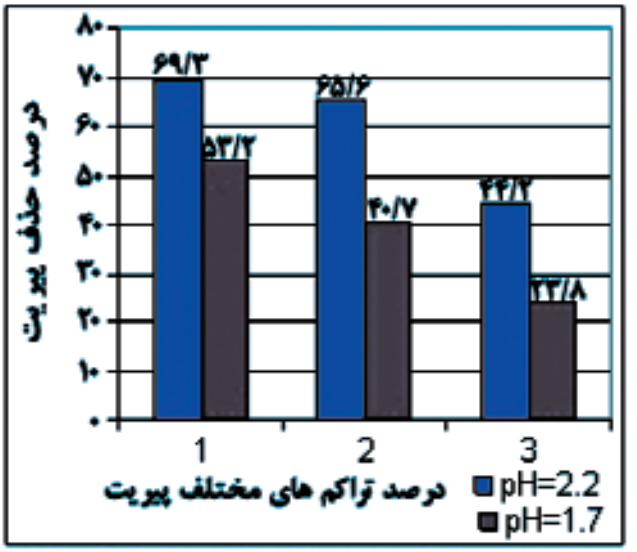
جدول ۳- مقایسه‌ی پیریت حذف شده توسّط گونه‌های M4, M5, M7, M8 در محیط‌های کشت پایه‌ی معدنی با پ هاش‌ها و غلظت‌های متفاوت بعد از ۲۰ روز گرماگذاری

گونه‌های میکروبی	درصد پیریت حذف شده‌ی نمونه‌ی نرم معادن چاه‌خاتون و سنجده					
	محیط کشت پیریت با pH=۲/۲			محیط کشت پیریت با pH=۱/۷		
	پیریت ۱درصد	پیریت ۲درصد	پیریت ۴درصد	پیریت ۱درصد	پیریت ۲درصد	پیریت ۴درصد
M_4	۷۲/۶	۶۵/۶	۴۴/۲	۵۰/۲	۴۰/۷	۲۳/۸
M_5	۷۷/۶	۶۴/۸	۴۶	۶۱	۳۸	۳۴/۲
M_7	۷۵/۹	۷۱/۵	۳۹/۷	۶۱/۵	۳۷/۴	۲۸
M_8	۹۳/۶	۶۶/۲	۳۸/۸	۶۲/۶	۴۱	۲۲/۱

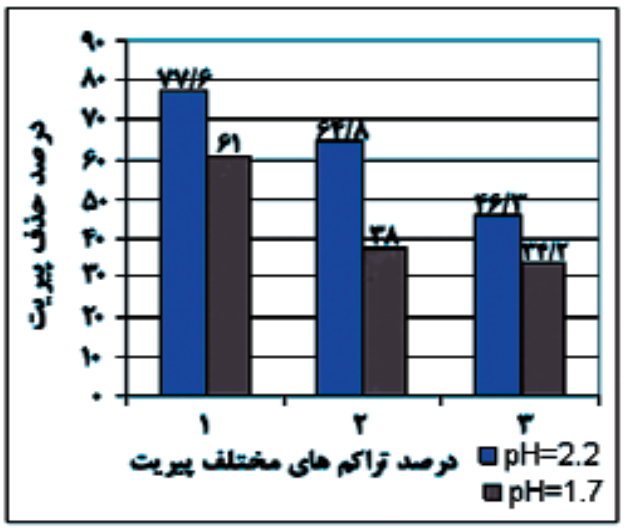
جدول ۴- مقایسه‌ی سرعت فروشویی پیریت توسّط گونه‌های M5, M7, M8 ,M4 در محیط‌های کشت پایه‌ی معدنی با پ هاش‌ها و غلظت‌های متفاوت بعد از ۲۰ روز گرماگذاری

گونه‌های میکروبی	سرعت فروشویی پیریت (میلی‌گرم آهن در لیتر در ساعت)					
	محیط کشت پیریت با pH=۲/۲			محیط کشت پیریت با pH=۱/۷		
	پیریت ۱درصد	پیریت ۲درصد	پیریت ۴درصد	پیریت ۱درصد	پیریت ۲درصد	پیریت ۴درصد
M_4	۱۰/۲۱	۱۰/۵۴	۱۶/۲۸	۳/۸	۶/۱۰	۱۱/۵
M_5	۹/۵۷	۸/۳۴	۱۵	۵/۴	۴/۷۲	۲۰/۱۰
M_7	۸/۷	۱۰/۲	۲۲/۱۴	۳/۴	۴/۸۶	۱۶/۱۰
M_8	۶/۱۳	۸/۹۵	۲۱/۴۲	۳	۶/۱۰	۱۵/۲۱

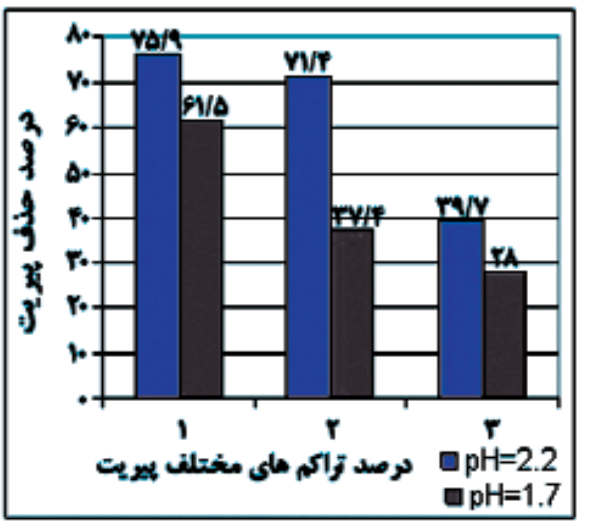
با توجّه به جداول و نمودارهای رسم شده مشاهده می گردد که در نمونه‌های نرم تغلیظ شده‌ی معادن چاه‌خاتون و سنجده گونه‌ی M8 بعد از ۲۰ روز گرماگذاری روی همزن با ۲۰۰-۱۸۰ دور در دقیقه



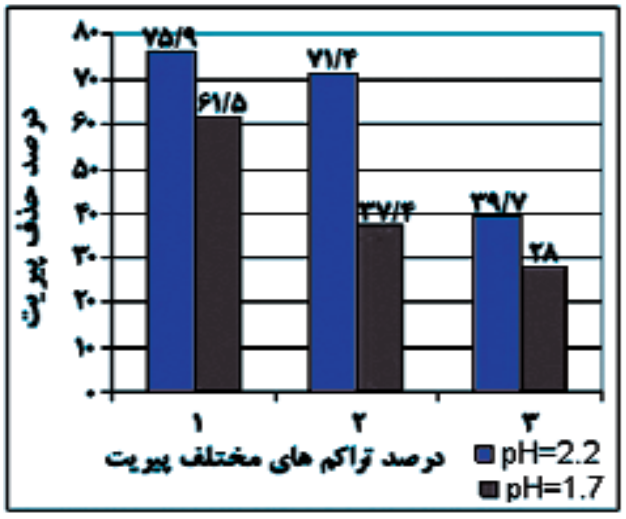
تصویر ۵- مقایسه‌ی درصد حذف پیریت توسّط گونه‌ی M4 با پ هاش و تراکم سوبسترای مختلف بعد از ۲۰ روز گرماگذاری



تصویر ۶- مقایسه‌ی درصد حذف پیریت توسّط گونه‌ی M5 با پ هاش و تراکم سوبسترای مختلف بعد از ۲۰ روز گرماگذاری



تصویر ۷- مقایسه‌ی درصد حذف پیریت توسّط گونه‌ی M7 با پ هاش و تراکم سوبسترای مختلف بعد از ۲۰ روز گرماگذاری



تصویر ۸- مقایسه‌ی درصد حذف پیریت توسّط گونه‌ی M8 با پ هاش و تراکم سوبسترای مختلف بعد از ۲۰ روز گرماگذاری

با حذف ۹۳/۶۰ درصد پیریت موجود در محیط کشت پایه‌ی معدنی با pH=۲/۲ بالاترین فعّالیّت حذف پیریت را داشت. بیشترین سرعت فروشویی در نمونه‌های نرم تغلیظ شده ۴ درصد با pH=۲/۲ مربوط به گونه‌ی M4 می‌باشد، به نحوی که سرعت فروشویی در نمونه‌ی نرم تغلیظ شده‌ی معادن چاه‌خاتون و سنجده ۱۶/۲۸ h/l/mg را به خود اختصاص می‌دهد. در ضمن نتایج آزمایشات فوق نشان می‌دهد که در تمام موارد میزان درصد حذف پیریت در محیط‌های کشت پایه‌ی معدنی با pH=۲/۲ بیشتر از محیط‌های کشت پایه‌ی معدنی با pH=۷/۷ می‌باشد. باتوجّه به این‌که گونه‌های تیوباسیلوس فرواکسیدانس مورد آزمایش همگی اسید دوستاند ولی ملاحظه می‌گردد که فعّالیّت این گونه‌ها در pH=۲/۲ نسبت به pH=۷/۷ بهترین کارایی را از خود نشان داده و این گونه احتمال می‌رود که پ هاش‌های پایین‌تر از دو در متابولیسم باکتری‌ها تأثیر نامطلوب داشته و مانع از فعّالیّت بالای آن‌ها می‌گردد و یا احتمالاً در پ هاش‌های پایین به آنزیم‌های باکتریایی آسیب وارد می‌شود. در پایان باید گفت با توجّه به فعّالیّت خوب گونه‌های تیوباسیلوس فرواکسیدانس به‌خصوص گونه‌ی M8 می‌توان از این باکتری‌ها جهت تیمار اوّلیّه در استحصال طلا از سنگ‌های معدنی مقاوم طلای موته استفاده نمود. تغییرات سرعت ویژه‌ی آزادسازی آهن در مقابل افزایش میزان مادّه‌ی جامد در محیط کشت پایه‌ی معدنی روندی نزولی طی می‌کند. استفاده از گونه‌های مختلف میکروارگانیسم تیوباسیلوس فرواکسیدانس در طی آزمایشات صورت گرفته نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها در درصدهای جامد بالاتر کارایی بهتری را در روش‌های مبتنی بر همزدن محلول دارد.

مراجع

اولیازاده، م.، ۱۳۷۸، "بررّسی روش‌های فرآوری کانسنگ‌های مقاوم طلا"، فصلنامه‌ی علمی، فنی و خبری معادن و فلزات، جلد ۱۴، شماره‌ی ۶۴و۶۸:۶۵-۷۵.

اولیازاده، م. و طباطبایی یزدی، م.، ۱۳۷۵، "گزارش نهایی فرآوری میکروبی کانسنگ‌های سولفوری طلا"، موسّسه‌ی تحقیقات و کاربرد موادّ معدنی، جلد ۲:۵۴-۷۰، ۱۳۶-۱۲۷.

سبزه‌ای، م.، ۱۳۷۵، "درآمدی بر ویژگی‌های عمومی زمین شناختی مجموعه‌های دگرگونی زون سنندج-سیرجان جنوبی"، سازمان زمین شناسی و اکتشافات معدنی کشور.

شاهوردی، ا.، ۱۳۷۶، "فرآوری میکروبی کانسنگ طلا موته"، رساله‌ی دکترای داروسازی، انستیتو پاستور.

شاهوردی، ا.، اولیازاده، م.، کاظمی، ح. و داوودی، م.، ۱۳۸۲، "بیولیچینگ کانسنگ مقاوم معدن طلای موته توسّط باکتری ترموفیل اسیدیانوس بریرلی"، اوّلین سمینار متالوژنی فلزّات غیر آهنی ایران: ۴۴۵ - ۴۶۰.

طباطبایی یزدی، م.، ۱۳۸۲، "فروشویی میکروبی پیریت معدن طلای موته به کمک تیوباسیلوس فرواکسیدانس جداشده از ایران"، اوّلین سمینار متالوژنی فلزّات غیر آهنی ایران: ۱۰۷- ۱۱۳.

Acevedo, F., 2000, "The use of reactors in biomining processes", *Electron J. Biotechnol., Vol. 3 (3): 1-11.*

Ahonen, L. & Tuovinen, O. H., 1993, "Redox potential controlled bacterial leaching of chalcopyrite ores", *In: Torma A. E., Wey J. E., Lakshmanan V. I. (Eds.), Biohydrometallurgical Technologies, Proc. of Int. Biohydrometallurgy Symp., USA, Vol. 1: 571-578.*

Bentley, R. & Chasteen, T. G., 2002, "Microbial methylation of metalloids: Arsenic, Antimony, and Bismuth", *Microbiol. Mol. Biol. Rev., Vol. 66: 250-271.*

Boon, M. & Heijnen, J. J., 1993, "Mechanisms and rate limiting steps in bioleaching of Sphalerite, Chalcopyrite and Pyrite with Thiobacillus ferrooxidans", *In: A. E. Torma, J. E. Wey & V. L. Lakshmanan (Eds.), Biohydrometallurgical Technologies, Vol. 1: 217-236.*

Brierley, C. L., 1995, "Bacterial oxidation", *Engineering and Mining J., Vol. 196: 42-44.*

Brierley, C. L. & Brierley, J. A., 1997, "Microbiology for the metal mining industry", *In: (Ed.: C. J. Hurst), ASM Press, Washington D. C., Manual of Environ. Microbiol., Vol. 4: 200-218.*

Oliver, D. E. & Pesic, B. M., 1997, "Effect of heavy metals on the ferrous iron Oxidizing ability of Thiobacillus ferrooxidans", *Hydrometallurgy, Vol. 44: 53-63.*

Debus, K. H., 1990, "Mining with microbes", *Technology Rev., Vol. 93 (6): 50-57.*

Konishi, Y., Asai, S. & Yoshida, N. 1995, "Growth kinetics of Thiobacillus thiooxidans on the surface of elemental sulfur", *Appl. Environ. Microbiol, Vol. 61 (10):*

3617-3622.

Natarajan, K. A., Sudeesha, K. & Rao, G. R., 1994, "Stability of Copper tolerance in Thiobacillus ferrooxidans", *Antonic Van Leeu Wen Hoek, Vol. 66 (4): 303-306.*

Sampson, M. I., Phillips, C. V. & Ball, A. S., 2000, "Investigation of the attachment of Thiobacillus ferrooxidans to mineral Sulfides using scanning electron microscopy analysis", *Minerals Eng., Vol. 13 (6): 643-656.*

Silverman, M. P. & Lundgren, D. G., 1959, "Studies on the chemoautotrophic Iron bacterium ferrobacillus ferrooxidans", *J. of Bacteriology, Vol. 77 (5): 642-647.*