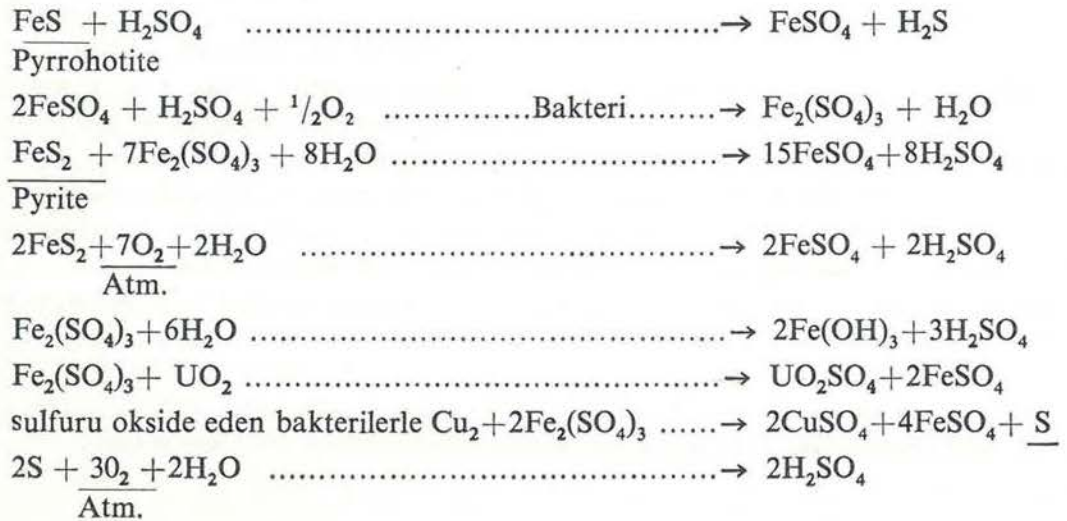


URANYUM FİLİZLERİNİ BAKTERİLER YARDIMI İLE ZENGİNLEŞTİRME METODU

Yusuf ÖZBAL

Çekmece Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Radyobioloji Bölümü

Bu çalışma, içinde esas elementi az olan tabii maden yataklarından elde edilen ham maddenin, bilhassa uranyum cevherlerinin zenginleştirilmesinde kullanılan özel mikropların izolasyonuna ait bir rapordur. Bakteriler metalurjinin çalışma sahasına girmedikleri halde, bunların bazılarının özel karakterlerinden istifade etmek suretiyle minerallerin zenginleştirilmesinde veya metalin saflaştırılmasında kullanılabilecekleri birçok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir. Bu araştırmalara göre kolay bir biyolojik olay ile metalin daha ekonomik ve daha yüksek oranda elde edilmesi mümkün olmaktadır. Aşağıda taksonomideki yerleri ve karakteristikleri belirtilen bazı bakteriler hayat devreleri esnasında oksidasyon olayı sonucu sulfurik asit meydana getirirler. Bu sulfurik asit düşük tenörlü minerallerin ekstraksiyonunda kullanılır. Katalizör olarak vazife gören bu mikroplardan endüstride de yararlanır. Özelliklerinden istifade edilerek daha ekonomik metodlar ortaya çıkarılır. Bakterilerden istifade edilerek demir, bakır, uranyum gibi metal cevherlerinin zenginleştirme mekanizması şöyledir:



Demiri veya sulfuru okside ederek asit teşekkülünde rol oynayan bakterilerin 15—40°C arasında aktivite göstermesi ve çok asit ortamda (örneğin pH: 0.5) canlı kalabilmeleri gayeye uygundur.

İzole etmek istenilen ototrof, demir ve kükürt oksidasyon bakterilerinin sistematikteki yeri :

Familiya	Genus	Tür
Thiobacteriaceae	Thiobacillus	Thiobacillus ferrooxidans Thiobacillus thiooxidans
Sderocapsaceae	Ferrobacillus	Ferrobacillus ferrooxidans

Her üç tür bakterinin özellikleri aşağı yukarı birbirine uymaktadır. Maden sularında tabii olarak bulunan bu bakteriler aeroplardır, enerjilerini kükürt, demir veya thiosulfatı okside ederek sağlarlar. Oksidasyon ürünü olarak da sulfat meydana getirirler. CO₂'i karbona çevirirler. Çok asidik ortamda üredikleri halde glukozlu vasatta ve besleyici agar veya buyonda üremezler. 0.4-0.8µ eninde ve 1.0-1.5µ boyunda küçük gram negatif basillerdir. Diğer ayırıcı özellikleri ise; *Th. ferrooxidans* daha çok yüksek demir iyonu ihtiva eden asitli sularda bulunur ve ortam pH'sı ikiden aşağı olduğu zaman faaliyeti durur. Daha ziyade kükürtlü topraklarda bulunan *Th. thiooxidans* ise daha asit ortamda aktivitesine devam eder. *Th. ferrooxidans* elemental sulfuru tam olarak kullanamaz ve thiosulfatı çabukca okside eder. *F. ferrooxidans* ise demirli maddelerin hava ile oksidasyonu esnasında katalitik aktivite gösterdiği halde thiosulfatı okside etmez ve demirli vasatta üretilerek thiosulfatlı ortama aktarılınca ortamı bulandırır. *F. ferrooxidans*'ı üretirken ayrıca CO₂'li ortam yapılmasına lüzum yoktur, çünkü atmosferin karbon dioksidini karbon kaynağı olarak kullanır. Bu bakterilerin özelliklerini bir tablo ile özetlemek mümkündür.

Bakterinin adı	pH	Isı	N Kaynağı	Oksidasyon		
				Sulfur	Thiosulfat	Fe ²⁺ iyonu
<i>Th. thiooxidans</i>	0.5 — 6.0	28— 30°C	Amonyum iyonu	+	+	—
<i>Th. ferrooxidans</i>	2.5 — 5.8	28— 30°C	(NH ₄)NO ₃	—,+	çok çabuk —	+
<i>F. ferrooxidans</i>	2.2 — 4.6	15— 20°C		+	—	+

Yukardaki tablodan anlaşıldığına göre enerjilerini *Th. thiooxidans* thiosulfatı ve kükürtü, *Th. ferrooxidans* inorganik Fe²⁺ i ve thiosulfatı, *F. ferrooxidans* ise demir iyonlarını ve kükürtü okside ederek sağlamaktadırlar.

Maden yatakları sızıntılarında tabii olarak bulunan bu bakterileri izole etmek için; Salihli'den gelen Taşharman orijinli uranyum filizleri, Reaktörün etrafında

rastgele alınan killi toprak, Çekmece gölü kenarında kokuşan balçık, deniz mili, okside olmuş demir ve Taşharman filizlerinin işlenmiş asitli sıvıdan santrifuj edilerek temin edilen numuneler üzerinde çalışıldı. Genellikle çeşitli funguslar, sporlu basiller, koklar, gram pozitif ve gram negatif basiller ürediler. Aseptik şartlarda alınan numuneler yine aseptik olarak Silverman'ın 9K sıvı (Vasatın terkibi: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3g/1, KCl 0.1 g/1, K_2PHO_4 0.5g/1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g/1, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.01g/1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 44.2g/1 (14.74 % w/v), 1ON H_2SO_4 1ml/1, pH: 2.6, otoklavda 15 dak. steril edildi. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ayrı olarak steril edilip temel vasata ilâve edildi) vasatına pasaj edildi. 250 ml lik erlenlerde 60 ml steril vasatlara katı numunelerden 2g kadar, sıvı numunelerden 5 ml olmak suretiyle ekim yapıldı. 28-32°C de ikişer hafta inkübasyona tabi tutuldu ve hergün ortamın pH'ları kontrol edildi. Üreme gösteren ve pH'ları gittikçe asitleşen kültürlerden 1 ml alınarak daha zengin enerji kaynağı ihtiva eden vasatlara (9K vasatına MnSO_4 0.62g/1, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.81 g/1, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.44 g/1 veya sulfur 10g/1 steril olarak ilâve edildi) transfer edilerek 7-8 gün 30 derecelik etüve konuldu. İnkübasyondan sonra hazırlanan preparatlar gram boyası ile boyandı ve gram negatif basil bulunan kültürler üzerinde çalışılmaya devam edildi. Kültürler, atmosferin CO_2 ile karbon ihtiyaçlarını ve nitrojen kaynağı olarak vasatta bulunan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve $\text{Ca}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ maddelerden sağladılar. Fakat bakterilerin daha iyi üremeleri için CO_2 'li ortam yaratmak ve nitrojen kaynağını artırmak gayesiyle vasatlara pepton 1.0g/1, KNO_3 0.25 g/1, ilâve etmek daha uygundur. Sulfur oksidasyonunu incelemek için, 100 ml lik erlenlerde 30 ml steril vasatlar (sulfur vasatının terkibi: 10g/1 kükürt, 0.2g/1 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.5g/1 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25g/1 CaCl_2 , 0.01g/1 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3g/1 KH_2PO_4 ve 1 lt. distile su, pH:4-4.5, buharda 3 gün otuzar dakika steril edildi) kullanıldı. Bakteriler üretilerek iki değerli demirli vasatta oksidasyonun meydana geldiğini $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (potasium ferricyanide) solusyonundan birkaç damla 1 ml. kültür üzerine damlatmak suretiyle husule gelen mavi renkten anlaşıldı. Eğer demir okside olmuşsa (ferric) % 5 lik potasyum thiocyanat solusyonu ile kırmızı renk meydana getirir. Sulfurik asit meydana gelmesiyle düşen pH neticesinde elemental sulfurun oksidasyonunu anlamak mümkün olmuştur. Deneylerde, ortamda amonyum sulfat miktarını artırmak suretiyle demirin oksidasyonunun daha çok arttığı müşahede edildi. Demiri okside eden 9K kültürlerinden ve 9K sıvı vasatta bulanıklık yapmayan sulfurlu ortamda bulanıklık yapan aynı zamanda gram negatif basiller bulunan kültürlerden 0.1 ml alınarak thiosulfat agar vasatına (thiosulfatlı agar vasatının terkibi: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 5g/1, KH_2PO_4 , 3g/1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2g/1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g/1, CaCl_2 0.2g/1, agar 20g/1, distile su 1 lt. pH:4.7-5.0) pasajı yapılarak iki hafta oda derecesinde ve 28°C de tekrar üretildi.

Elemental sulfuru ve demiri okside eden bakterilerden katı vasatta üretilip meydana gelen kolonilerden hazırlanan preparatlar mikroskopik muayene (mikroskopide gram negatif, sporsuz, tek tek duran veya bazen çift teşkil eden basilere dikkat edilmiştir) neticesinde yukarda belirtilen özelliklere uyan kolonilerin

saf kültürü hazırlandı. Neticeler genellikle bazı müelliflerin bulgularına paralellik arz etmektedir. Fakat iyi bir seleksiyon yapmak için deneylerin tekrarlanması icabettiğinden uzun zamana ihtiyaç vardır. Bu çalışmayı kesmek zorunda oluşum nedeniyle izole edilmek istenen bakteri türleri büyük ihtimalle Taşharman orjinli uranyum filizlerinden ve kokuşan balçıktan alınan numunelerde mevcut olduğundan sadece bu iki numunedен üretilen bakterinin uzun süre canlı kalmasını sağlamak gayesiyle dik vasatlara ekim yapıp ağzı parafinlenerek kaldırılmıştır.

BİBLİYOGRAFYA

1. BARBIC, F., KRAJINCANIC, B. (1971) : Effect of microorganisms on the structure of uranium raw materials. Radiation and radioisotopes for industrial microorganisms : Proceedings of a symposium — Vienna, IEAA, 24 (16), 279-281.
2. BECK, J. V. (1960) : A Ferrous Iron-Oxidizing bacterium. I. Isolation and some general Physiological characteristics. - Journal of Bacteriology. 79: 502-509.
3. BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology. 83-88 : 227-228.
4. COLMER, A.R., TEMPLE, K. L. and HINKLE, M. E. (1950): An Iron-Oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines. — Journal of Bacteriology, 59: 317-328.
5. CRUICKSHANK, (1968) : Medical Microbiology. 741-764.
6. FISHER, J.V. : Bacterial leaching of Elliot Lake uranium ore. CIM Bulletin. 59 (649): 588-592.
7. FLETCHER, A.W. (1970): Metal winning from low - grade ore by bacterial leaching. — Inst. Mining Met., Trans., Sect. dec. 79: 247-252.
8. HARRISON, V.F., GOW, W. A., and IVARSON, K.C. (1966) : Leaching of Uranium from Elliot Lake ore in the presence of Bacteria. — Canadian Mining Jour. 87 (5): 64-67.
9. KINSEL, N. A. (1960) : New Sulfur oxidizing iron bacterium: *F. sulfooxidans* sp. n. — Journal of Bacteriology. 80: 628-632.
10. KURIHARA, K. (1970) : Recovery of Uranium by Bacterial Leaching. — Genshiryoku Kogyo 16 (12) : 23-27.
11. LEATHEN, W. W., Mc INTYRE, L.D. and BRALEY, S. (1951) : A Medium for the Study of the Bacterial Oxidation of Ferrous Iron. — Science 114: 280-281.
12. LUNDGREN, D. G., ANDERSEN, K.J., REMSEN, C.C., and MAHONEY, R.P.(1964): Culture, Structure and Physiology of the Chemoautotroph ferroxidans. — American Inst. Biological Sciences. 6(27) : 250-259.
13. Mc CREEDY, H.H. HARRISON, V. and GOW, A. (1969): Proposed method, using bacteria, for the continuous leaching of a uranium ore. — CIM (Can. Inst. Mining Met.) Bulletin, feb. 62 (628) : 135-140.
14. Mc GREGAR, R.A. (1969) : Bacterial Leaching of Uranium. — Nucl. App. 1 : 68-72.
15. PINGS, W. B. (1968) : Bacterial Leaching — Mineral Industries Bull. (Research Foundation, Inc. Colorado School of mines), 11(3): 1-19.
16. RAZZELL, W. E., and TRUSSELL, P. C. (1963) : Isolation and properties of an Iron oxidizing Thiobacillus. Journal of Bacteriology, 85: 595-603.

17. SCHNAITMAN, C., and LUNDGREN, D.G. (1965) : Organic compounds in the spent medium of *Ferrobacillus ferrooxidans*. — *Canadian Journal of Microbiology*. **11**: 23-27.
 18. SIVAJI RAO, G., and BERGER, L. R. (1971) : The requirement of low pH for growth of *Thiobacillus thiooxidans*. — *Mikrobiologie* **79**(4): 338.
 19. SILVERMAN, M. P. and LUNDGREN, D.G. (1959) : Studies on the Chemoautotrophic Iron Bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. — *Journal of Bacteriology*. **77**: 642-647.
 20. STARKEY, R. L. (1935): Isolation of some bacteria which oxidize thiosulfate. — *Soil Science*. **39**: 197-205.
 21. SUTTON, J. A. and Corrick, J. D. (1961) : Bacteria in mining and metallurgy: Leaching selected ores and minerals; experiments with *Thiobacillus Thiooxidans*. — U.S.Bur. Mies. Rept. Inv. **5839**: 16.
 22. TEMPLE, K.L. and COLMER, A.R. (1951) : The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*. — *Journal of Bacteriology*. **62**: 605-611.
 23. UNZ, R.F., and LUNDGREN (1961) : A comparative nutritional study of three chemoautotrophic bacteria: *F. ferrooxidans*, *Th. ferrooxidans* and *Th. thiooxidans*. — *Soil Science* **92**(5): 302-313.
 24. ZAJIC, J. E. and Ng, K.S. (1969) : Biochemical Uranium Leaching. *Develop. Ind. Microbiol* **11**: 413-419.
-