

УДК 504.062.2

ПОДБОР ЭФФЕКТИВНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В БИОГЕОТЕХНОЛОГИИ

© 2011 М.Д. Бакаева, Д.В. Черкасова, Н.Н. Силищев, О.Н. Логинов,
С.П. Четвериков

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

Поступила 29.06.2011

Выделены и подобраны высокоэффективные штаммы микроорганизмов для биологического выщелачивания цветных металлов из отходов Учалинского ГОК и его Сибайского филиала. Показана возможность извлечения из отходов Учалинского ГОК до 68,2% цинка и 46,8% меди, из отходов Сибайского филиала Учалинского ГОК до 86,6% цинка и 89% меди.

Ключевые слова: вторичная переработка отходов, биологическое выщелачивание руд, медь, цинк.

Биогеотехнология является разделом биотехнологии, посвященным использованию микроорганизмов для добычи и переработки минерального сырья. Одно из наиболее известных направлений биогеотехнологии – применение микроорганизмов, способных к окислению сульфидных руд, для извлечения из них цветных металлов. Для этого в насыпанных в кучи или заложенных в промышленные установки рудах формируют специфические сообщества микроорганизмов, разрушающие минералы и переводящие металлы в раствор, из которого они извлекаются химическими способами [1].

Наиболее часто в качестве основы для такого сообщества сульфидоокисляющих микроорганизмов используют бактерии, принадлежащие к виду *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Представители вида обладают рядом полезных черт, таких как способность использовать одновременно несколько неорганических соединений (сульфиды различных металлов, серу, двухвалентное железо) в качестве источников энергии, устойчивость к воздействию тяжелых металлов, способность расти при низких значениях рН. Вместе с тем, этот вид очень гетерогенен генотипически и фенотипически. Отдельные его представители могут как не обладать плазмидами, так и иметь одну или несколько плазмид. Сходные признаки (например, устойчивость к металлам) могут определяться как плазмидными, так и хромосомными генами [2]. Бактерии могут обладать или не обладать способностью адаптироваться к росту на новых незнакомых субстратах [3], поэтому изучение и сравнение по важным для биогеотехнологии признакам штаммов ацидитиобацилл, полученных из разных мест обитания, является актуальной задачей.

Ранее было показано, что биологическое выщелачивание отходов обогащения сульфидных медно-цинковых руд Уральского региона более эффективно по сравнению с их кислотным выщелачиванием [4].

Целью данной работы было исследование способности ацидофильных литоавтотрофных микроорганизмов различного происхождения к выщелачиванию меди и цинка из отходов флотационного обогащения Учалинского ГОК и его Сибайского филиала.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве образцов для биологического выщелачивания были использованы отходы, образующиеся в большом количестве при флотационном обогащении руд и намываемые в отвалы хвостохранилищ.

Отходы обладали следующими характеристиками. Из отвалов Сибайского филиала Учалинского ГОК: 79% пирротина и пирита; среднее содержание меди и цинка - 1,7 г/кг и 1,88 г/кг соответственно. Средний размер частиц 0,15 мм. Из отвалов Учалинского ГОК: 75% пирротина и пирита, среднее содержание меди и цинка – 2,07 г/кг и 2,53 г/кг соответственно. Средний размер частиц 0,12 мм.

Опыты по биологическому выщелачиванию отходов обогащения проводили на лабораторном прототипе установки чанового биовыщелачивания. 100 г руды смешивали с 500 мл солевой основы среды 9К и 1 мл инокулята бактерий с одинаковым исходным титром 10^6 клеток/мл и выдерживали при температуре 30°C в течение 21 сут. Повторность опыта четырехкратная.

Для постановки опытов были использованы следующие штаммы. Штаммы ИБ 1, ИБ 2, ИБ 3 взяты из коллекции микроорганизмов ИБ УНЦ РАН. Штаммы 4-6 выделены из образцов, взятых на территории Бурибаевского ГОК, штамм 7 – 9 из образцов с территории Учалинского ГОК, 10-12 из образцов с Сибайского филиала Учалинского ГОК, штамм 13 и 14 – из лежалых руд с территории Медногорского медно-серного комбината, 15 и 16 – термофильные штаммы бактерий, выделенные из

Бакаева Маргарита Дмитриевна, канд. биол. наук, e-mail: biolab316@yandex.ru, Черкасова Дарья Владимировна, асп., e-mail: biolab316@yandex.ru, Силищев Николай Николаевич, докт. биол. наук, e-mail: biolab316@yandex.ru, Логинов Олег Николаевич, докт. биол. наук, проф., e-mail: biolab316@yandex.ru, Четвериков Сергей Павлович, канд. биол. наук, e-mail: biolab316@yandex.ru.

лежалых руд Сибайского филиала Учалинского ГОК и Гайского ГОК (процесс ведется при 50°C).

В качестве образцов для выделения использованы подотвальные воды, лежалые отходы обогащения, руды и почвы, взятые у подножия отвалов. В качестве объекта для сравнения с выделенными в процессе исследования и депонированными в коллекции микроорганизмов ИБ УНЦ РАН штаммами *Acidithiobacillus ferrooxidans* был использован типовой штамм *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSM. 14882, хранящийся во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером В-9460. Для хранения и поддержания микроорганизмов использована питательная среда Сильвермана и Лундгрена 9К, штаммы 15 и 16 на специфической среде для термофильных миксотрофных бактерий [5]. Концентрацию меди и цинка измеряли на атомно-абсорбционном спектрофотометре ASS-3 (Carl Zeiss, Германия), концентрацию трехвалентного железа титрованием с ЭДТА. Численность микроорганизмов определяли методом предельных разведений в жидкой питательной среде с железом (II).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов указывают на пригодность отходов флотационного обогащения для биовыщелачивания с участием микроорганизмов. Причем отходы флотационного обогащения Сибайского филиала Учалинского ГОК поддаются биовыщелачиванию легче, чем отходы флотации Учалинского ГОК.

Более высокий выход цинка при биологическом выщелачивании отходов флотации Сибайского филиала Учалинского ГОК был получен с использованием штаммов 8, 10, 12, 14 (табл. 1). С их помощью удалось извлечь за 21 сут более 80% цинка от его исходного содержания в отходе.

Для извлечения меди из отхода наиболее эффективны были штаммы 10, 12, 14. С их помощью удалось извлечь более 75% меди от ее общего содержания в отходе.

Испытание термофильных штаммов показало, что их способность к выделению меди и цинка из отхода Сибайского филиала Учалинского ГОК немного ниже по сравнению со штаммами, растущими при комнатной температуре.

Было показано, что выделенные нами аборигенные штаммы (кроме штаммов 2 и 3) способны более эффективно извлекать цинк и медь по сравнению с типовым штаммом.

При биологическом выщелачивании отходов флотационного обогащения Учалинского ГОК выход цинка составил более 60% от исходного содержания для всех использованных штаммов кроме штамма 5 и 9. Выход меди из данного типа отхода при его биологическом выщелачивании был гораздо ниже и не превышал 50%.

Термофильные штаммы бактерий по эффективности выщелачивания меди и цинка из отхода Учалинского ГОК не уступали штаммам, растущим при комнатной температуре.

Наилучшие результаты были отмечены для штаммов 12, 13 и 15.

Таблица 1. Биологическое выщелачивание цинка и меди из отходов флотации Сибайского филиала Учалинского ГОК, % от исходного содержания

Микроорганизмы	Время инкубации, сут					
	3		14		21	
	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu
Типовой штамм <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> DSM 14882	10,4±0,3	5,5±0,6	50,4±2,2	24,1±1,5	53,7±1,5	34,2±1,8
Штамм ИБ 1	19,8±0,4	16,7±0,5	65,2±2,4	56,2±1,4	74,8±1,9	64,6±1,6
Штамм ИБ 2	1,4±0,3	2,2±0,2	39,9±2,1	43,2±1,2	43,2±1,8	57,2±1,7
Штамм ИБ 3	12,3±0,6	6,6±0,7	43,6±2,3	31,1±0,9	49,3±1,9	32,6±1,4
Штамм 4	13,3±0,4	12,9±0,6	71,6±1,8	33,8±0,9	77,8±2,1	67,6±1,5
Штамм 5	11,7±0,5	13,1±0,5	72,0±1,9	26,7±0,7	76,4±2,3	53,4±1,6
Штамм 6	10,8±0,2	10,8±0,2	67,0±2,5	26,3±0,8	70,5±2,2	40,7±1,6
Штамм 7	12,7±0,3	10,2±0,4	68,9±2,1	33,4±1,4	73,1±2,5	66,8±2,0
Штамм 8	12,3±0,7	2,8±0,7	80,1±2,3	21,6±0,7	83,0±1,9	43,2±2,1
Штамм 9	10,6±0,5	9,0±0,3	68,0±2,4	22,7±0,8	68,8±1,8	45,4±1,9
Штамм 10	13,1±0,6	13,6±0,5	73,7±2,0	44,1±1,8	83,0±2,4	88±1,5
Штамм 11	12,3±0,3	13,5±0,2	70,6±3,0	33,2±1,6	76,0±2,2	66,4±1,8
Штамм 12	13,9±0,3	13,9±0,8	67,2±3,1	37,7±1,5	82,6±2,1	75,4±1,6
Штамм 13	7,7±0,5	13,4±0,3	67,6±2,7	20,2±0,9	74,0±2,0	40,4±1,4
Штамм 14	11,8±0,2	11,6±0,2	74,3±2,9	49,2±1,8	86,6±1,7	89,0±1,7
Штамм 15	8,0±0,5	5,7±0,5	56,8±3,2	56,7±2,1	62,4±1,8	70,3±1,5
Штамм 16	7,5±0,2	8,0±0,5	55,7±2,8	59,5±2,0	59,3±1,7	64,0±1,3

По сравнению с типовым штаммом вида биологического выщелачивания меди и цинка *Acidithiobacillus ferrooxidans* все выделенные нами штаммы были более эффективны для (табл. 2).

Таблица 2. Биологическое выщелачивание цинка и меди из отходов флотации Учалинского ГОК, % от исходного содержания

Микроорганизмы	Время инкубации, сутки					
	3		14		21	
	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu
Типовой штамм <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> DSM 14882	2,7±0,3	1,5±0,4	37,1±1,0	7,6±0,5	43,0±1,5	19,1±0,9
Штамм 4	2,1±0,2	1,7±0,5	43,7±1,5	10,3±0,6	66,7±1,9	25,8±0,7
Штамм 5	1,8±0,3	1,8±0,4	49,3±1,5	10,1±0,4	56,7±1,6	25,1±0,5
Штамм 6	2,7±0,4	1,6±0,3	49,3±1,3	9,2±0,5	65,0±1,5	23,5±0,3
Штамм 7	2,0±0,3	2,1±0,6	47,9±1,6	12,2±0,4	62,0±1,6	30,5±0,5
Штамм 8	1,6±0,6	2,2±0,1	36,8±1,2	13,2±0,5	60,2±1,8	32,5±0,6
Штамм 9	3,0±0,5	2,0±0,4	44,6±1,6	12,7±0,3	56,2±1,4	30,2±0,5
Штамм 10	2,2±0,5	1,4±0,7	44,4±1,0	10,4±0,1	67,4±1,7	20,7±0,4
Штамм 11	2,5±0,4	1,6±0,3	43,5±1,4	12,6±0,7	65,3±1,8	31,5±0,5
Штамм 12	2,2±0,1	1,8±0,2	43,4±1,5	15,6±0,6	61,0±1,8	39,8±0,3
Штамм 13	1,9±0,3	2,3±0,2	45,9±1,4	18,4±0,8	64,0±1,5	46,1±0,6
Штамм 14	2,4±0,4	1,6±0,5	42,6±1,5	8,4±0,1	61,4±1,7	21,0±0,3
Штамм 15	3,0±0,2	2,4±0,3	33,9±1,7	22,7±0,8	68,2±1,6	46,8±0,4
Штамм 16	2,1±0,4	1,8±0,2	37,1±1,8	20,8±0,9	57,0±1,6	35,3±0,6

Полученные данные свидетельствуют о том, что для биологического выщелачивания отходов флотации Учалинского ГОК и Сибайского филиала Учалинского ГОК в равной степени хорошо подходит лишь штамм 12, тогда как остальные активные микроорганизмы представлены различными штаммами. Это может указывать на то, что состав окисляемой руды имеет значение для большего или меньшего проявления литотрофными микроорганизмами своей активности. Все эффективные штаммы объединяет место их происхождения: они выделены из проб, отобранных на территории Сибайского филиала Учалинского ГОК или Медногорского медно-серного комбината. Хорошие результаты, показанные штаммами 10 и 12 на отходах флотации Сибайского филиала Учалинского ГОК, возможно, связаны с тем, что они были выделены в

районе этого ГОК и являются аборигенными. Однако ни один из аборигенных штаммов с территории Учалинского ГОК не проявил высокой окислительной активности в отношении его отработанных руд. По-видимому, при поиске эффективных штаммов для биовыщелачивания руд имеет значение также «возраст» образцов для выделения микроорганизмов. Длительное хранение отработанных руд в отвалах предоставляет больше возможностей для естественного отбора активных бактерий. Микроорганизмы, происходящие с территории Сибайского филиала Учалинского ГОК или Медногорского медно-серного комбината, были обнаружены на давно отсыпанных (около 6-10 лет назад) и ныне не эксплуатируемых частях хвостохранилищ. Тогда как образцы с Бурибаевского и Учалинского ГОК имели меньший срок хранения в отвалах (1-4 года).

Таблица 3. Содержание железа в растворах биологического выщелачивания отходов обогащения, г/л

Микроорганизмы	Время инкубации, сутки			
	3	21	3	21
	Сибайский филиал Учалинского ГОКа		Учалинский ГОК	
Типовой штамм <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> DSM 14882	0,68±0,22	3,05±0,34	-	-
Штамм ИБ 1	1,92±0,31	3,88±0,42	-	-
Штамм ИБ 2	0,75±0,23	3,64±0,36	-	-
Штамм ИБ 3	0,69±0,41	2,72±0,40	-	-
Штамм 4	1,26±0,32	6,71±0,26	0,14±0,09	2,70±0,21
Штамм 5	1,14±0,51	5,50±0,35	0,12±0,07	2,62±0,26
Штамм 6	1,21±0,44	5,82±0,19	0,40±0,05	2,44±0,19
Штамм 7	1,42±0,43	5,34±0,26	0,31±0,03	3,01±0,25
Штамм 8	1,34±0,71	4,91±0,41	0,24±0,04	2,82±0,27
Штамм 9	0,91±0,50	5,41±0,34	0,20±0,05	3,14±0,23
Штамм 10	1,60±0,31	4,40±0,36	0,17±0,03	3,31±0,19
Штамм 11	1,81±0,62	5,62±0,21	0,18±0,06	2,70±0,21
Штамм 12	1,33±0,42	6,61±0,32	0,16±0,04	2,87±0,23
Штамм 13	1,62±0,51	6,23±0,24	0,12±0,03	3,30±0,19
Штамм 14	1,31±0,43	6,31±0,42	0,17±0,01	2,71±0,21

Прим.: определение содержания железа в пробах 1, 2, 3, 15, 16 и с типовым штаммом не проводилось

Содержание железа в растворе выщелачивания за три недели менялось от 0,68-1,92 г/л до 2,72 – 6,71 г/л при биологическом выщелачивании отходов обогащения Сибайского филиала Учалинского ГОК и от 0,12-0,40 г/л до 2,44-3,31 г/л при биологическом выщелачивании отходов обогащения Учалинского ГОК. Полученные результаты говорят об активном разрушении сульфидных минералов железа в процессе биологического выщелачивания отходов флотационного обогащения руд. Содержание железа в растворах биовыщелачивания находится в интервале, благоприятствующем протеканию данного процесса (на основе сравнения с литературными данными).

В процессе биологического выщелачивания отходов как Учалинского ГОК, так и его Сибайского филиала в лабораторной установке наблюдалось размножение окисляющих руду бактерий. Бактериальные клетки добавляли в питательную среду до достижения титра 10^6 клеток/мл. После завершения процесса титр бактериальных клеток увеличивался до 10^{10} - 10^{12} клеток/мл. Причем, при сходной концентрации бактерий в среде наблюдалась их различная биовыщелачивающая активность. Это указывает на то, что свойства штаммов окисляющих сульфиды

бактерий важнее скорости их роста в установке биовыщелачивания.

Полученные результаты позволяют рекомендовать биологическое выщелачивание с участием выделенных активных штаммов как эффективный и перспективный способ вторичной переработки отходов флотационного обогащения Учалинского ГОК и его Сибайского филиала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биоготехнология металлов. М.: ЦМП ГКНТ, 1989. 378 с.
2. Кондратьева Т.Ф., Агеева С.Н., Пивоварова Т.А., Каравайко Г.И. Характеристика рестрикционных профилей хромосомной ДНК у штаммов *Acidithiobacillus ferrooxidans*, адаптированных к разным субстратам окисления // Микробиология. 2002. Т. 71. № 4. С. 514-520.
3. Тупкина О.В., Рассулов В.А., Кондратьева Т.Ф. Особенности окисления пиритов разными микроорганизмами // Микробиология. 2009. Т. 78. № 2. С. 197-201.
4. Черкасова Д.В., Бакаева М.Д., Силищев Н.Н., Четвериков С.П. Извлечение цветных металлов из отходов переработки сульфидных руд Уральского региона // Проблемы региональной экологии. 2010. № 6. С. 102-106.
5. Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 608 с.

SELECTION OF EFFECTIVE MICROORGANISMS' STRAINS FOR BIOGEOLOGY APPLICATION

© 2011 M.D. Bakaeva, D.V. Cherkasova, N.N. Silishev, O.N. Loginov, S.P. Chetverikov

Institute of Biology, Ufa Sci. Centre of RAS, Ufa

Effective microorganisms' strains for biological leaching nonferrous metals from a waste of Uchalinsky concentrating industrial complex and its Sibajsky branch are allocated and selected. Possibility of extraction 68,2 % of zinc and 46,8 % of copper from a waste of Uchalinsky concentrating industrial complex and to 86,6 % of zinc and 89 % of copper from a waste of Sibajsky branch Uchalinsky concentrating industrial complex is shown.

Key words: waste recycling, ore bioleaching, copper, zinc.

Bakaeva Margarita Dmitrievna, Candidate of Biology, e-mail: biolab316@yandex.ru, *Cherkasova Daria Vladimirovna*, e-mail: biolab316@yandex.ru, *Silishev Nikolay Nikolaevich*, Doctor of Biology, e-mail: biolab316@yandex.ru, *Loginov Oleg Nikolaevich*, Doctor of Biology, Professor, e-mail: biolab316@yandex.ru, *Chetverikov Sergey Pavlovich*, Candidate of Biology, e-mail: biolab316@yandex.ru