

Биолог. журн. Армении, 3 (55), 2003

УДК 579.846

## ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ ПИРИТА СЕРО- И ЖЕЛЕЗООКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ И ИХ АССОЦИАЦИЯМИ

Н.С. ВАРДАНЯН

*Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян*

Association of moderate thermophilic sulfobacilli with other sulfur and iron oxidizing chemolithoautotrophic bacteria allows significantly to increase pyrite oxidation without addition of organic compounds.

*Сульфобациллы - ассоциация хемолитотрофных бактерий - биовыщелачивание пирита*

Умеренно термофильные серо- и железоокисляющие бактерии способны активно расти и окислять сульфидные минералы только в миксотрофных условиях в присутствии органических источников углерода [6]. Исследования последних лет показали, что применение их ассоциаций с другими хемолитотрофными бактериями позволяет вести процесс окисления сульфидных минералов в автотрофных условиях со значительной интенсификацией [5, 7].

Целью данной работы являлось изучение активности серо- или железоокисляющих бактерий и их ассоциаций с умеренно термофильными бактериями в окислении пирита.

**Материал и методика.** Объектом исследования служили выделенные нами ранее шт. 86 умеренно термофильных серо- и железоокисляющих бактерий [2], шт. 5 термотолерантной сероокисляющей бактерии [3] и шт.64 *Leptospirillum*-подобных бактерий [4].

Бактерии выращивали на среде Браерли [1]. В качестве источника энергии использовали  $Fe^{2+}$  в количестве 2г/л (в виде  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) или элементную серу ( $S^0$ ) в зависимости от штамма.

Бактериальному выщелачиванию подвергали пирит из Ахталского месторождения, крупностью измельчения 70-100 мкм.

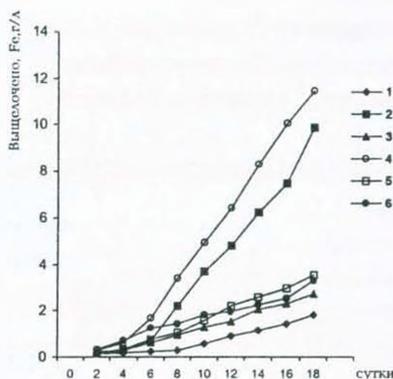
Навески измельченных минералов помещали в 250 мл колбы, смачивали дистиллированной водой и стерилизовали при 0,5 атм в течение 30 мин. Затем колбы заполняли 50 мл вышеуказанной среды без железа и вносили суспензию клеток.

Для выщелачивания пирита использовали отмытые клетки трехдневной культуры шт. 86 и 7-суточную культуру шт. 5. Культуры бактерий шт.86 и шт.5 выращивали на среде, содержащей, соответственно,  $Fe^{2+}$  или  $S^0$  в качестве источников энергии. В логарифмической фазе роста биомассу отделяли центрифугированием при 6000g в течение 10 мин. Затем биомассу ресуспендировали в той же среде и вносили в колбы. Штамм 64 добавляли к среде в количестве 1мл культуральной жидкости.

Выщелачивание осуществляли в периодическом режиме культивирования на качалке (180 об/мин) при 37°. Об интенсивности окисления пирита судили по количеству перешедших в среду ионов железа. Ионы  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  определяли комплексонометрически с трилоном Б[1], количество меди и общего железа - на атомно-абсорбционном спектрофотометре AAS 1N, биомассу - по количеству белка методом Лоури [1].

**Результаты и обсуждение.** На рис. 1 представлена динамика окисления  $FeS_2$  штаммами умеренно термофильных и термотолерантных серо- и/или железooksисляющих бактерий. Как видно из рисунка, за 17 дней культивирования шт.5 выщелочено 1,8 г/л железа. При миксотрофном росте шт.86 количество выщелоченного общего железа составляло 3,3 г/л. В автотрофных условиях в среду выделялось лишь 2,7 г/л Fe.

Однако при совместном культивировании шт. 86 со шт.5 в автотрофных условиях количество выщелоченного железа увеличивалось до 3,5 г/л. То есть в присутствии шт.5 интенсивность выщелачивания Fe шт.86 в автотрофных условиях достигается таковой, наблюдаемой при его миксотрофном росте (рис.1).



**Рис. 1.** Выщелачивание пирита хемилитотрофными серо- и железooksисляющими бактериями и их ассоциациями: 1-шт.5; 2- шт.64; 3- шт.86; 4- шт.86+шт.64; 5- шт.86+шт.5; 6- шт.86\* - рост в миксотрофных условиях

Как показывают данные табл. 1, выщелачивание пирита шт.64 протекало в 2,3 раза интенсивнее, чем при росте шт.86 в миксотрофных условиях. Совместное культивирование шт.86 со шт.64 *Leptospirillum*- подобных бактерий в автотрофных условиях приводило к увеличению выноса железа при окислении пирита примерно в 3,1 раза по сравнению с миксотрофно растущей культурой шт.86. При этом железо, перешедшее в среду, было представлено исключительно в виде трехвалентного, что обуславливает высокий окислительный потенциал среды.

**Таблица 1. Выщелачивание пирита умеренно термофильными и термотолерантными серо- и железooksисляющими бактериями и их ассоциациями (время выщелачивания 17 дней)**

Штаммы бактерий	Выщелочено, г/л		pH	Белок, мг/мл
	Fe <sup>3+</sup>	Fe <sup>2+</sup>		
шт. 5	0,304	1,540	1,3	0,015
шт. 64	8,120	0,756	1,25	0,07
шт. 86	1,484	1,232	1,38	0,02
шт. 86*	2,492	0,840	1,33	0,025
шт. 86 + шт. 5	2,716	0,850	1,3	0,03
шт. 86 + шт. 64	11,360	0,084	1,12	0,076

Примечание: \* - рост в миксотрофных условиях.

Следует отметить, что количество выщелоченного железа при окислении пирита изученными бактериями коррелирует с приростом биомассы, а также снижением pH среды (образованием серной кислоты) (табл.1).

Таким образом, при совместном культивировании шт.86 со шт.5 в автотрофных условиях можно достичь эффективности выщелачивания пирита, наблюдаемой при миксотрофном росте шт.86. Однако ассоциация шт.64 *Leptospirillum*-подобных бактерий и умеренно термофильных бактерий позволяет увеличивать интенсивность выщелачивания пирита в 3,1 раз по сравнению с миксотрофно растущим шт.86.

Предполагается, что между исследованными бактериями возникают синтрофные отношения. Вероятно, умеренно термофильные бактерии поставляют серу и ее восстановленные соединения, а также ионы железа строго автотрофным бактериям, взамен получая от них органические вещества, необходимые для их роста.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Биотехнология металлов (ред. Каравайко Г.И., Грудев С.Н.), М.: ЮНЕП, 1985.
2. Варданян Н.С. Биолог. журн. Армении. 49, 1-2, 43-46, 1996.
3. Варданян Н.С. Тезисы докл. Межд. конф. "Микробное разнообразие: состояние, стратегия сохранения, экологические проблемы" 8-11 октября, Пермь, Россия, 1996, с.135, 1996.
4. Варданян Н.С., Акопян В.П. Биолог. журн. Армении. 53, 3-4, 167-172, 2001.
5. Меламуд В.С., Пивоварова Т.А., Кондратьева Т.Ф., Каравайко Г.И. Прикл. биохимия и микробиология, 35, 2, 182-189, 1999.
6. Цаплина И.А., Красильникова Е.Н., Захарчук Л.М.6 Егорова М.А., Богданова Т.И., Каравайко Г.И. Микробиология, 69, 3, 334-340, 2000.
7. Dopson M., Lindstrom B. Appl. Environ. Microbiol. 65, 36-40, 1999.

Поступила 08.1.2002