

А. Т. КАНАЕВ, Т. К. БЕКБАУОВ, К. А. МУХАТАЕВА, З. К. КАНАЕВА, А. К. ДЖОБУЛАЕВА

ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВОГО СОСТАВА МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОБЪЕКТАХ КУЧНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ БАЛКАШИНСКОГО (ШАНТОБЕ) УРАНОВОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

*Проведены микробиологические обследования отвалов кучного выщелачивания Балкашинского (Шантобе) уранового месторождения, которые до сих пор были неизученными. Выделены хемолитоавтотрофные бактерии *T.ferrooxidans*, участвующие в окислительных процессах и способствующие ускорению перехода урана в растворимую форму. Исследована возможность применения *T.ferrooxidans* в кучном бактериально-химическом выщелачивании урана, что приобретает большое значение в связи с истощением запасов богатых руд.*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Рудоуправление №1 относится к ТОО «Степногорский горно-химический комбинат НАК «Казатомпром» и находится в пос. Шантобе, в юго-западной части Акмолинской области.

Количественный и качественный состав микрофлоры исследуемых нами месторождений определялся по общепринятым методикам [1]. Пробы из руд вод при обследованиях отбирались стерильно, в соответствии с имеющимися руководствами [2]. Количество микроорганизмов подсчитывалось методом предельных разведений испытуемых вод или болтушек на элективных средах в двух-трехкратных повторностях. Грибы учитывались на среде Чапека-7, сапрофиты – на мясо-пептонном агаре. Культуру бактерий *T.ferrooxidans* выращивали на среде 9К Сильвермана и Лундгрена. Учет *T.thiooxidans* вели на среде Ваксамана по появлению исчезающей мути и оседанию серы [3].

Микроорганизмы, важные для гидрометаллургии, выделяли путем высева соответствующих проб руды или раствора на питательные среды.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами были выполнены микробиологические обследования раствора сернокислотного выщелачивания и твердого материала забалансовых руд отвала уранового месторождения рудоуправления №1. Следует отметить, что работы такого характера раньше в этих урановых отвалах не проводились. Поэтому, на наш взгляд, это давало возможность лучше представить обстановку, в которой происходят процессы микробиологического превращения урансодержащих руд.

Микробиологическим обследованием Шантобинского месторождения был охвачен отвал забалансовых руд. Особое внимание было уделено сернокислотному раствору после орошения отвала. Его особенностью оказалось преобладание кислых растворов (рН 1,0–1,5), что создавало благоприятные условия для развития *T.ferrooxidans*, которые играют главную роль в процессе бактериального выщелачивания урана из забалансовых руд.

Результаты обследования сапрофитных микроорганизмов приведены на рис. 1, а. Как видно, количество клеток (кл.) варировало от 3,0 до 5,7

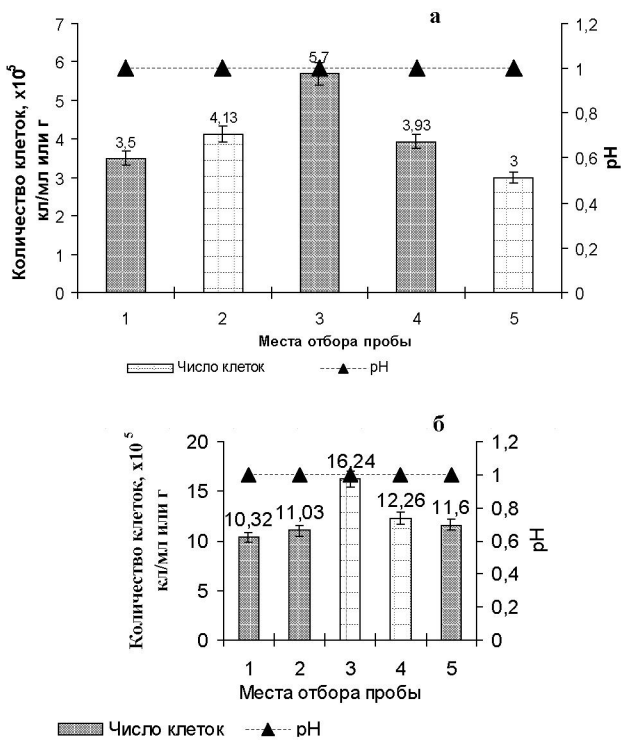


Рис. 1. Численность сапрофитов (а) и грибов (б) в различных пробах отвала. Здесь и на рис. 2,3: 1 – отработанный сернокислотный раствор из-под уранового отвала; 2 – сернокислотный раствор до орошения уранового отвала; 3 – твердый урансодержащий материал отвала; 4 – сернокислотный раствор из-под уранового отвала после орошения; 5 – раствор выщелачивания из-под уранового отвала после орошения

на 1 мл или на 1 г руды. В сернокислотных растворах, где реакция среды колебалась в пределах pH 0,5–1,5, численность сапрофитных бактерий не превышала 4,13 кл. на 1 мл в растворе и 5,7 кл. в 1 г забалансовой руде. В пяти обследованных точках показатели выглядят таким образом: в отработанном сернокислотном растворе из под отвала – 3,5 кл./мл, в сернокислотном растворе до орошения отвала – 4,13 кл./мл, в твердом материале – 5,7 кл./мл, в сернокислотном растворе из под отвала после орошения – 3,93 кл./мл, в растворе выщелачивания из под отвала после орошения – 3,0 кл./мл.

Грибы встречались во всех обследованных точках, причем их численность в растворе была небольшой (от 10 до 12 на 1 мл). Максимальный их рост был отмечен в образцах руды, где их количество достигало 16,24 на 1 г руды (рис. 1,б). Количество грибов в отработанном сернокислотном растворе из-под уранового отвала составляло – 10,32 кл./мл, в сернокислотном растворе до орошения уранового отвала – 11,03 кл./мл, в твер-

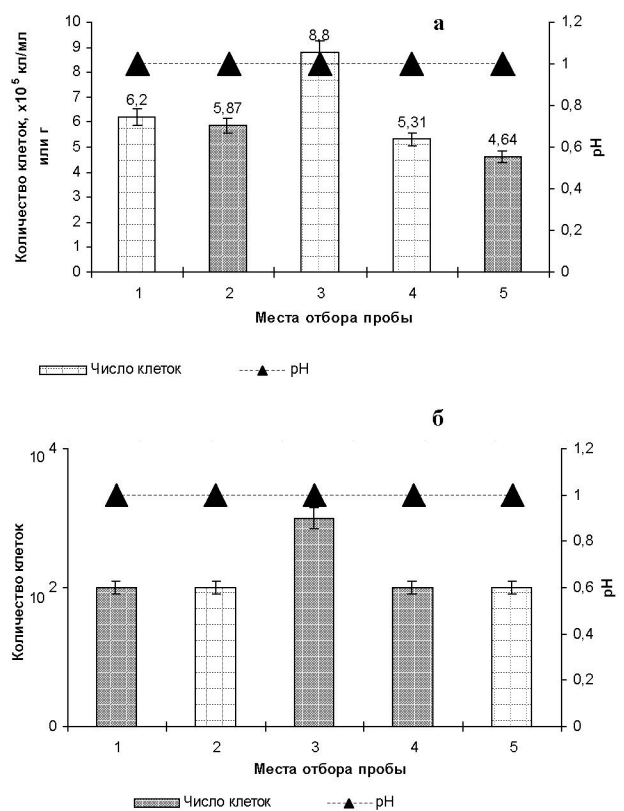


Рис. 2. Численность актиномицетов (а) и *T.thiooxidans* (б) в различных пробах отвала

дом материале – 16,24 кл./мл, в сернокислотном растворе из под отвала после орошения – 12,26 кл./мл, в растворе выщелачивания из под уранового отвала после орошения – 11,06 кл./мл.

Как видно из рис. 2,а, численность актиномицетов колебалась от 4,64 до 6,2 на 1 мл раствора и до 8,8 на 1 г руды. В пяти обследованных точках количество актиномицетов выглядело таким образом: в отработанном сернокислотном растворе из-под уранового отвала – 6,2 кл./мл, в сернокислотном растворе до орошения отвала – 5,87 кл./мл, в твердом материале – 8,8 кл./г, в сернокислотном растворе из-под отвала после орошения – 5,31 кл./мл, в растворе выщелачивания из-под отвала после орошения – 4,64 кл./мл.

Таким образом, присутствие в шахтных водах и руде значительного количества этих микроорганизмов в связи с наличием в руде достаточного количества углистого вещества позволяет предположить об их участии в процессах превращения веществ на месторождении.

Нитрифицирующие бактерии (*Nitrosomonas* и *Nitrobacter*) не были обнаружены.

Широко представлена на месторождении группа тионовых бактерий. Рост *T.thiooxidans*

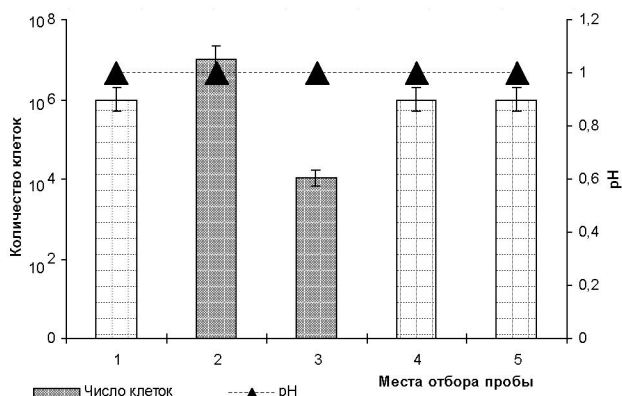


Рис. 3. Численность *T. ferrooxidans* в различных пробах отвала

был отмечен во всех пробах раствора и руд, имевших кислую реакцию, а численность клеток достигала 10³ на 1 г руды (рис.2,б).

Как видно из рис. 2, а, в пяти обследованных точках показатели выглядят таким образом: в отработанном сернокислотном растворе из-под уранового отвала – 10² кл./мл, в сернокислотном растворе до орошения уранового отвала – 10² кл./мл, в твердом урансодержащем материале – 10³ кл./г, в сернокислотном растворе из-под уранового отвала после орошения – 10² кл./мл, в растворе выщелачивания из-под уранового отвала после орошения – 10² кл./мл.

Основная роль в окислении забалансовой руды отвала принадлежит тионовым бактериям и главным образом *T. ferrooxidans*. Так, содержание в кислых растворах отвала урана, железа и сульфата достигает десятки граммов на литр, тогда как в нейтральных их концентрации незначительны. Тот факт, что железо в кислых растворах находится преимущественно в трех-

валентной форме, также подтверждает высокую активность *T. ferrooxidans*, стерильные растворы в подобных условиях содержали бы только закисное железо, образующееся при окислении сульфидов.

Как видно из рис. 3, численность *T. ferrooxidans* колебалась в пределах 10⁴ – 10⁷ кл на 1 мл раствора или на 1 г руды. В обследованных точках количество *T. ferrooxidans* выглядит таким образом: в отработанном сернокислотном растворе из-под отвала – 10⁶ кл./мл, в сернокислотном растворе до орошения отвала – 10⁷ кл./мл, в твердом материале – 10⁴ кл./г, в сернокислотном растворе из-под отвала после орошения – 10⁶ кл./мл, в растворе выщелачивания из-под отвала после орошения – 10⁶ кл./мл.

Итак, микробиологические обследования уранового отвала Шантобинского месторождения позволяют оценить развитие бактериальных окислительных процессов и дать определенный прогноз на будущее. Это имеет конкретное практическое значение.

Кроме того, было изучено влияние различных концентраций U⁶⁺ на *T. ferrooxidans*, выделенных из технического раствора из под отвала РУ Шантобе.

Как видно из рис. 4, а, культура бактерий *T. ferrooxidans* способна окислять все перечисленные концентрации урана в течение 14 дней. Из этих же культур бактерий путем пересевов в жидкую питательную среду 9К получили активную культуру *T. ferrooxidans*, которая способна окислять в течение 1,5 суток.

Изучение влияния различных концентраций H₂SO₄ на окислительную деятельность

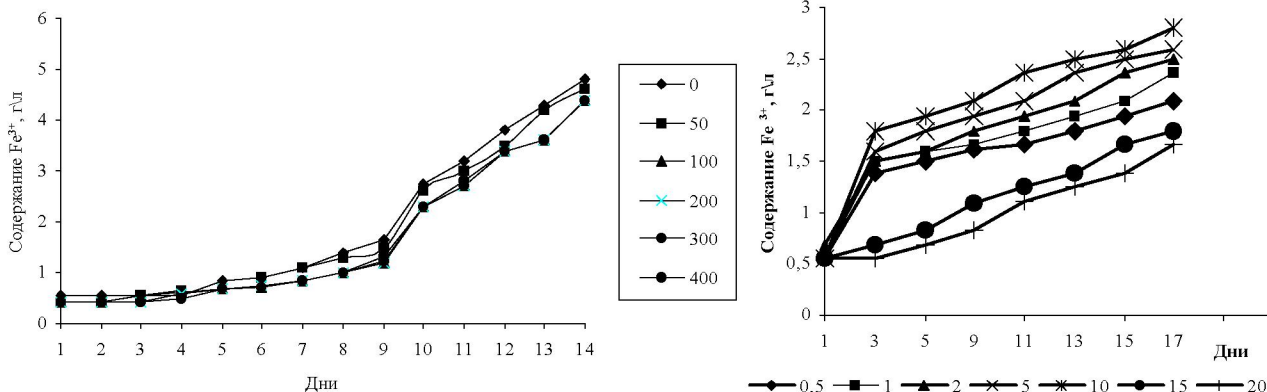


Рис.4. Влияние различных концентраций U⁶⁺, мг/л (а) и H₂SO₄, г/л (б) на окислительную деятельность *T. ferrooxidans*

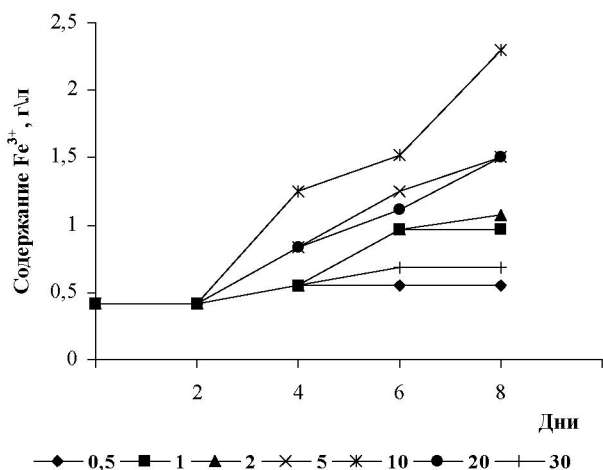


Рис. 5. Влияние различных концентраций Fe^{2+} на окислительную деятельность *T. ferrooxidans*

T. ferrooxidans (рис. 4, б) показало, что увеличение концентрации серной кислоты от 0,5 до 2,5 отрицательно не влияет на окислительную способность культуры бактерий *T. ferrooxidans*, что создает благоприятные условия для их роста и развития, так как *T. ferrooxidans* являются ацидофильными.

В целях изучения влияния FeSO_4 на рост и развитие *Thiobacillus ferrooxidans* брали следующие концентрации железа: 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 30,0 г/л. Как видно из рис. 5, для наиболее активного роста культуры *T. ferrooxidans* оптимальная концентрация 10,0 г/л Fe^{2+} .

Перспектива применения *T. ferrooxidans* в гидрометаллургических процессах требует увеличения устойчивости бактерий к высоким концентрациям различных компонентов и температуре в выщелачивающих растворах. Для развития *T. ferrooxidans* оптимальна температура 28–37°C.

Для использования культуры *T. ferrooxidans* в предлагаемой нами схеме целесообразно было выяснить способность культуры выдерживать температуру 45 °С и окислять двухвалентное железо в этих условиях. Были использованы растворы после выщелачивания, содержащие 5–10 г/л Fe^{2+} при pH 2,0–2,5, а также культура *T. ferrooxidans*, выделенная из отвала. Пробы высевали на минеральную среду 9К с сульфатом закиси железа как субстратом роста и инкубировались при 25, 30, 35, 40, 45 °С. При 40 и 45 °С скорость окисления закисного железа ингибировалась, т.е. полное окисление Fe^{2+} завершалось только на 9-е и 12-е сутки соответственно, тогда как при 25, 30, 35 °С закисное железо окислялось

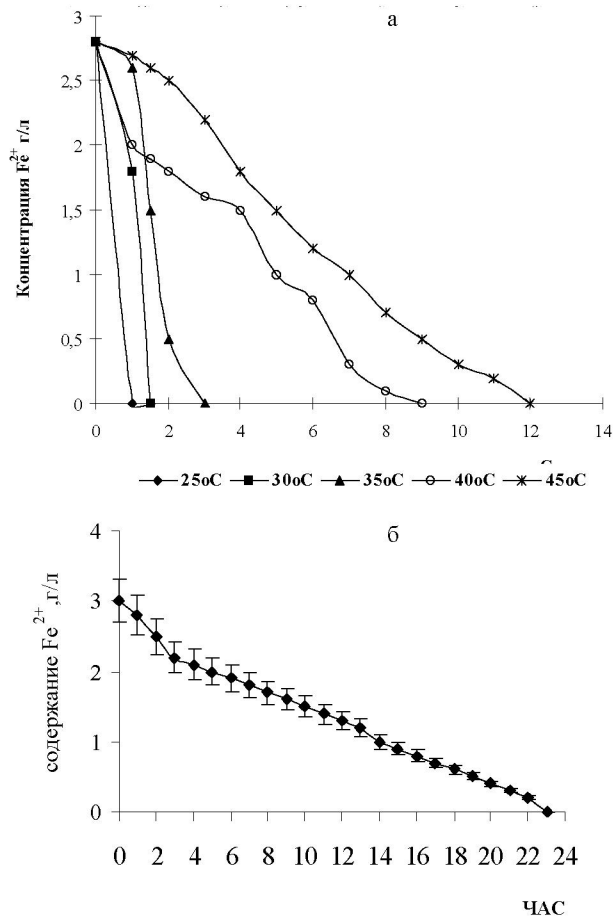


Рис. 6. Скорость окисления железа культурой *T. ferrooxidans* при различных температурах (а) и адаптированной при 45 °С (б)

полностью в течение 1–3 суток. Таким образом, в исследованном интервале температур исходная культура *T. ferrooxidans* интенсивно окисляет железо при 25–35 °С, 40, 45 °С скорость окисления закисного железа замедляется (рис. 6, а). Следовательно, оптимальными для роста *T. ferrooxidans* являются 25–35 °С. Процедура адаптации к высоким температурам занимала несколько месяцев. В результате путем непрерывного пересева при температуре 45 °С после 25–30 пассажей мы получили культуру *T. ferrooxidans*, адаптированную к окислению такой же концентрации закисного железа в течение суток (рис. 6, б). В исследованном интервале температур скорость химического окисления были пренебрежимо малы.

Скорость биологического окисления при каждой температуре инкубации соответствовала линейной кинетике роста. Полученные результаты были использованы для определения констант скорости роста для каждой из исследованных

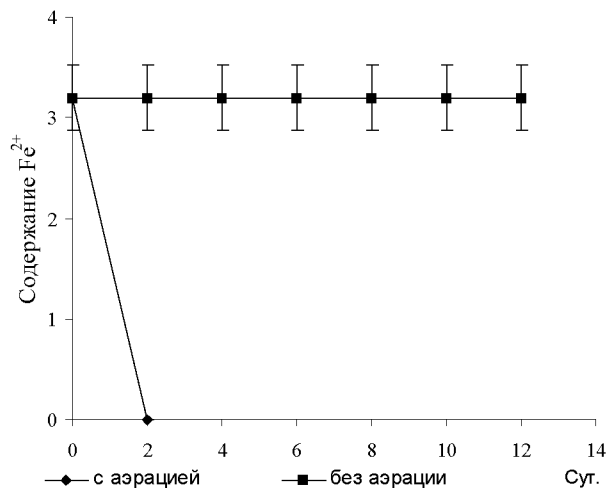


Рис. 7. Влияние аэрации на окисление железа при 45 °С

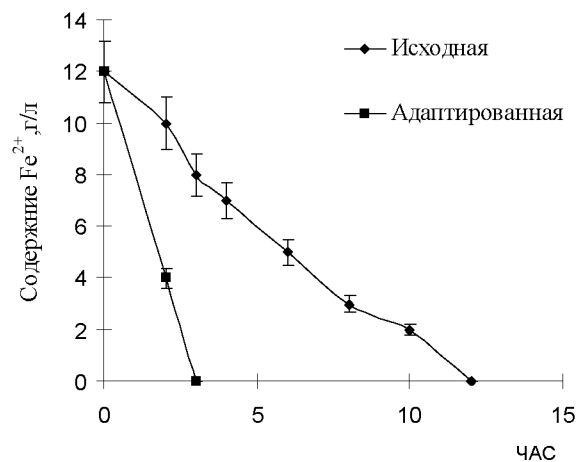


Рис. 8. Влияние концентрации железа на скорость его окисления при повышенной температуре (45 °С)

температур. Эти различия выражались прямой линией с отрицательным наклоном величины достоверности аппроксимации от $-0,271x$ до $-1,8x$. Кривая оказывается линейной только в определенном температурном диапазоне, так как скорость роста резко уменьшается при высоких и низких значениях температуры. Быстрое падение скорости роста при высоких температурах вызывается тепловой денатурацией белков, а возможно, и таких структур клетки, как мембраны. Как известно, при оптимальной температуре наблюдается максимальная скорость роста.

Таким образом, численные значения основных температурных точек (минимальной, оптимальной и максимальной), а также интервал температур, в котором возможен рост, у культуры *T.ferrooxidans* относительно варьируют.

По Заварзину, максимальная скорость роста *T.ferrooxidans* наблюдается при 35 °С, при температуре 50 °С организм погибает [3]. Оптимальная температура для роста 29–30 °С, при 40 °С размножение не происходит. Существует мнение о том, что в природе есть термофильные штаммы *T.ferrooxidans*, однако в чистой культуре они не были получены и не исследованы; не выделены также психрофильные штаммы.

В наших опытах показано, что аэрация усиливает железоокисляющую способность *T.ferrooxidans* при повышенной температуре (рис.7). В стационарных условиях ближе к анаэробнозису при 40–45 °С, несмотря на значительные объемы добавляемого посевного материала (50%), адаптированная к повышенным температурам культура *T.ferrooxidans* полностью потеряла железоокисляющую способность.

Опыты по изучению зависимости скорости окисления закисного железа от адаптации культуры свидетельствовали о том, что культура *T.ferrooxidans* способна окислить 12,0 г/л закисного железа в течение 12 суток (рис. 8). В дальнейшем, после десяти пересевов была получена культура *T.ferrooxidans*, окисляющая закисное железо за 3 суток.

Итак, культура *T.ferrooxidans* легко адаптируется к повышенным температурам (45 °С). Скорость окисления закисного железа составляет 3–4 г/л в сутки. Следовательно, для регенерации технологических растворов при температуре 45 °С можно успешно применять бактерии *T.ferrooxidans*, адаптированные к повышенным температурам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинина Г.А. Биология железобактерий и их геохимическая деятельность: Автореф. дис. ...докт. биол. наук. М., 1977. С. 56-63.
2. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М., 1972. 248 с.
3. Дубинина Г. А. Изучение экологии железобактерий пресных водоемов // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1976. Т.6, №4. С. 575-592.

Резюме

Шантөбө уран кен үймөсүнүн микробценозы зерттеліп, сонымен қатар ол ортадан бөліп алынған *T.ferrooxidans* культурасына әр түрлі факторлардың тигізетін әсері туралы баяндалған.

Summary

In article it is considered microbial cenosis of a piles of uranium and influence of various factors on the allocated culture of bacteria *T.ferrooxidans* also.