

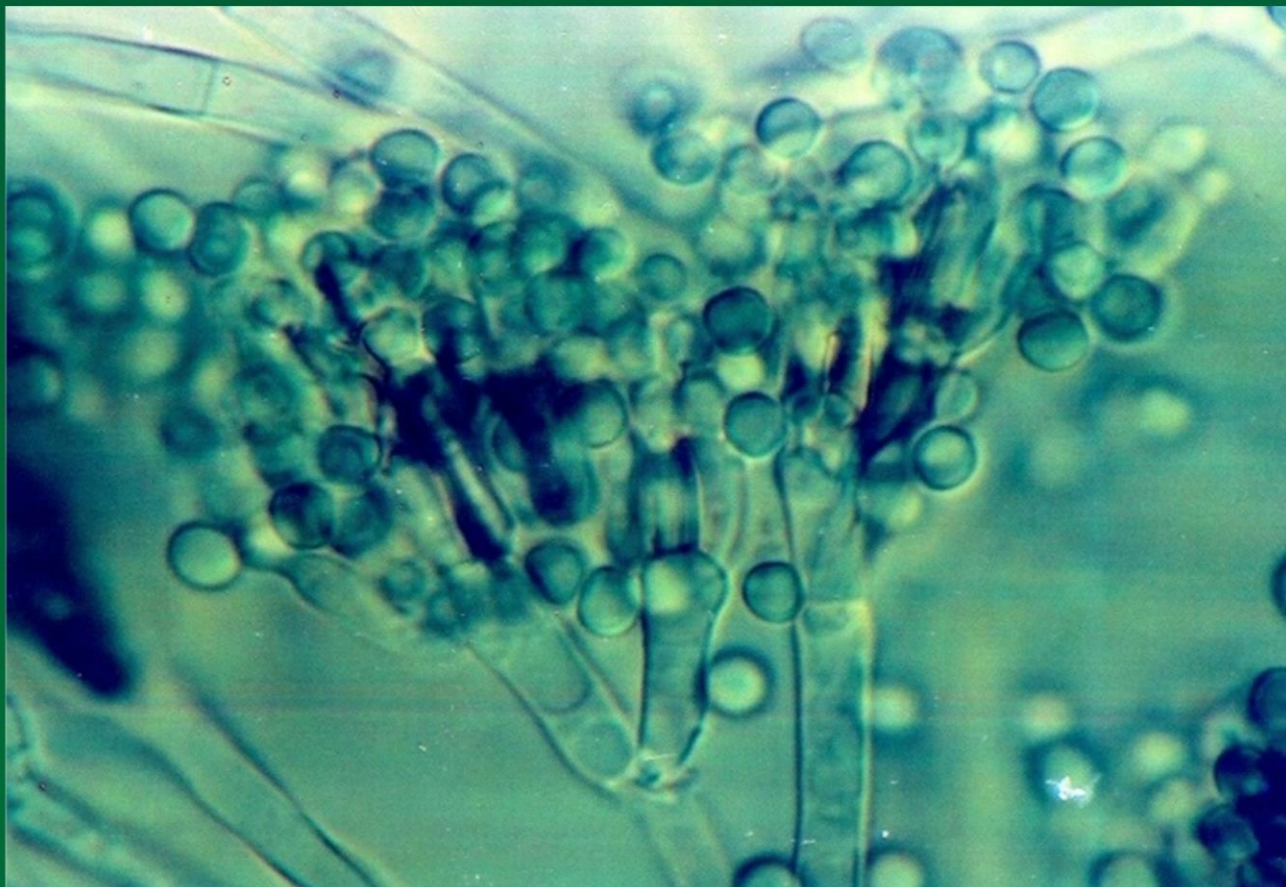
**Қазақстан Республикасының 25 жылдық Тәуелсіздігіне
арналған «Микробты биоәртүрлілік: ауқымды
мәселелері мен шешімдері» халықаралық ғылыми-
тәжірибелік конференциясының
МАТЕРИАЛДАРЫ**

МАТЕРИАЛЫ

Международной научно-практической конференции
«Микробное биоразнообразие: актуальные проблемы и решения»,
посвященной 25-летию Независимости Республики Казахстан

MATERIALS OF

International scientific-practical conference
"Microbial Biodiversity: current problems and solutions", dedicated to the
25th anniversary of Independence of the Republic of Kazakhstan



Министерство образования и науки Республики Казахстан
Комитет науки
РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»

МАТЕРИАЛЫ

**Международной научно-практической конференции
«Микробное биоразнообразие: актуальные проблемы и
решения», посвященной 25-летию Независимости
Республики Казахстан**

Астана – 2016

3 Pedrazzani R. Biodegradability, toxicity and mutagenicity of detergents: Integrated experimental evaluations // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2012. – Vol. 84. – P. 274-281.

4 Ильин Е.И. Изучение токсичности продуктов трансформации ПАВ, образующихся в процессе обеззараживания воды // Гигиена и санитария. – 1982. – №9. – С.33-36.

5 Препараты для удаления ПАВ, кетонов, фенолов. [Электронный ресурс] – Режим доступа [http://www. био-бактерии. рф / goods / 50473527 – udaleniye_pavy_ketony_fenoly_a_takzhe_snizhayet_azotnyu_toxichnost](http://www.био-бактерии.рф/goods/50473527-udaleniye_pavy_ketony_fenoly_a_takzhe_snizhayet_azotnyu_toxichnost), Обновлено 29.09.2016. – Загл. с экрана.

6 ПНД Ф 14.1;2.15-95. Методика выполнения измерений массовой концентрации анионных поверхностно-активных веществ в пробах природных и очищенных сточных вод экстракционно-фотометрическим методом. – Москва, 2004 – 8 с.

7 Weaver IC, Bliss IG, Harrison Giet al. Microdrop technology: A general method for separating cells by function and composition. Methods: A Companion to Methods in Enzymology. 2. 1991; 3:234-247.

УДК 579.846

РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНЫХ КОНСОРЦИУМОВ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ ХАЛЬКОПИРИТА

¹Варданян Н.С., ²Хачатрян А., ¹Варданян А.К., ¹Мелконян З.С.

¹ Институт Микробиологии НПЦ «Армбиотехнология» НАН Армении
г. Ереван, Республика Армении, e-mail: vardanyannarine@gmail.com

² Центр Депонирования Микроорганизмов НПЦ «Армбиотехнология» НАН Армении
г. Ереван, Республика Армении

Түйіндеме

Хемолитотрофтік және ацидофильді гетеротрофтық бактериялардан алынған таза және аралас дақылдарды халькопирит сілтіден айыру зерттелді. Acidithiobacillus sp. 13Zn L.ferriphilum CC ден және At.albertensis SO-2 қауымдастығы халькопиритті сілтіден айыруда шамалап бірдей белсенділікті танытқанын көрсетті. Бұны халькопирит сульфитті минерал қышқылында еритін және демек Fe (III) және протондар тарапынан шабуылға ұшырайтынын түсіндіруге болады. Халькопиритті сілтіден айыруда ең жоғары белсенділікті автотрофтік және гетеротрофтік бактериялардан құралған консорциум көрсетті. L.ferriphilum CC дақылға арасқан ролі Fe (III) – тотықтандырғыштың регенерациясына көздестіру. At.albertensis SO-2 сульфитті күкіртті тотықтандырады және сонымен күкірттің және халькопириттің үстіндегі ярозитті (Kfe₃(SO₄)₂(OH)₆) гидрофобтық қабатының қалыптасуын болдырмайды, пассивация әсерін түсіреді және халькопиритті тотықтандырудың қарқынына әрекет ететінін белгіленді. Халькопиритті сілтіден айыру үшін алғашқы ацидофильді гетеротрофтік бактериялар пайдаланылды.

Ацидофильді гетеротрофтар дақылды сұйықтықты қамтитын органикалық заттарды жояды және осылайша олардың автотрофтік бактериялар үшін ұлағыш әсерін төмендетеді.

Аннотация

Изучено выщелачивание халькопирита чистыми и смешанными культурами выделенных хемолитотрофных и ацидофильных гетеротрофных бактерий. Показано, что ассоциации *Acidithiobacillus* sp. 13Zn с *L.ferriphilum* CC и *At.albertensis* SO-2 проявляют примерно одинаковую активность в выщелачивании халькопирита. Это можно объяснить тем, что халькопирит является растворимым в кислоте сульфидным минералом и, следовательно, подвергается атакам как со стороны Fe (III), так и протонов. Установлено, что наивысшую активность в выщелачивании халькопирита показал консорциум, состоящий из автотрофных и гетеротрофных бактерий. Роль *L.ferriphilum* CC в смешанной культуре сводится к регенерации окислителя – Fe (III). *At.albertensis* SO-2 окисляет сульфидную серу и тем самым предотвращает образование гидрофобного слоя серы и ярозита ($KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$) на поверхности халькопирита, снимает эффект пассивации и способствует интенсивному окислению халькопирита. Впервые для выщелачивания халькопирита использовались ацидофильные гетеротрофные бактерии. Предполагается, что ацидофильные гетеротрофы утилизируют органические вещества, содержащиеся в культуральной жидкости и таким образом уменьшают их токсичный эффект для автотрофных бактерий.

Abstract

Biorecovery of chalcopyrite by pure and mixed cultures of isolated chemolithotrophic and acidophilic heterotrophic bacteria was studied. It was shown that the associations of *Acidithiobacillus* sp. 13Zn and *L.ferriphilum* CC or *At.albertensis* SO-2 showed about the similar efficiency in mineral leaching, which can be explained by the fact that chalcopyrite is an acid-soluble sulfide mineral and is exposed to attack by both Fe (III) and hydrogen protons. It was revealed that the highest activity in the leaching of chalcopyrite showed the consortium of autotrophic and heterotrophic bacteria. The role of *L.ferriphilum* CC in the mentioned mixed cultures leads to regeneration of oxidizer – Fe (III). *At.albertensis* SO-2 stimulates oxidation of sulfide sulfur preventing the formation of hydrophobic sulfur layer and jarosite ($KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$) on the surface of mineral and removes effect of passivation which in turn contributes to the oxidation intensity of chalcopyrite. For the first time acidophilic heterotrophic bacteria were used for chalcopyrite biorecovery. It is assumed that acidophilic heterotrophs can digest organic substances observed in the culture liquid decreasing their toxic impact on autotrophic bacteria.

Окисление халькопирита мезофильной бактерией *At.ferrooxidans* со временем затрудняется. Причиной замедления скорости выщелачивания халькопирита является пассивация поверхности минерала. Продукты выщелачивания, такие как элементная сера (S^0) и ярозит ($KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$) образует пассивирующий слой на поверхности минерала, что препятствует диффузии веществ и, следовательно, снижает скорость выщелачивания халькопирита (Stott et al., 2000; Watling, 2006; Yu et al., 2011).

Исследования показали, что смешанные культуры и консорциумы бактерий более эффективны в окислении сульфидных минералов, чем чистые культуры (Акцил et al., 2007; Falco et al., 2003; Fu et al., 2008; Johnson, 2014). При этом культуры, содержащие автотрофные и миксотрофные виды бактерий, выщелачивают халькопирит с большей эффективностью, чем смешанные культуры, содержащие только автотрофные бактерии (Wang et al., 2014).

С этой точки зрения разработка эффективных микробных консорциумов для использования в коммерческих системах выщелачивания металлов остается важной проблемой.

Целью настоящей работы являлось изучение и разработка новых консорциумов хемолитотрофных и гетеротрофных бактерий для эффективного выщелачивания халькопирита.

Бактериальному выщелачиванию подвергался халькопирит (CuFeS_2) Шамлугского месторождения Армении, содержащий Cu - 30,2% Fe - 29,7% и S - 38%. Для биовыщелачивания минерала использовали железоокисляющие бактерии *Acidithiobacillus* sp. 13Zn, *L.ferriphilum* CC, сероокисляющую бактерию *At.albertensis* SO-2, а также *Acidiphilium* sp. 3, выделенные нами ранее из пульпы выщелачивания цинкового и медного концентратов (Vardanyan and Vardanyan, 2014; Vardanyan et al., 2015). Для выщелачивания халькопирита использовали отмытые клетки бактерий, выращенных на среде Макинтоша, содержащей двухвалентное железо (Fe(II)) или элементную серу (S^0) в качестве источника энергии (Mackintosh, 1978).

Данные, приведенные на рисунке 1 показывают, что ассоциации выделенного *Acidithiobacillus* sp. 13Zn с железоокисляющим *L.ferriphilum* CC и сероокисляющим *At.albertensis* SO-2 окисляют халькопирит значительно активнее, чем чистая культура *Acidithiobacillus* sp. 13Zn. Так, в присутствии *At.albertensis* SO-2 и *L.ferriphilum* CC в ассоциации с *Acidithiobacillus* sp. 13Zn выщелачивание железа из халькопирита увеличивается примерно в 1,5 и 1,2 раза, соответственно (рис. 1б).

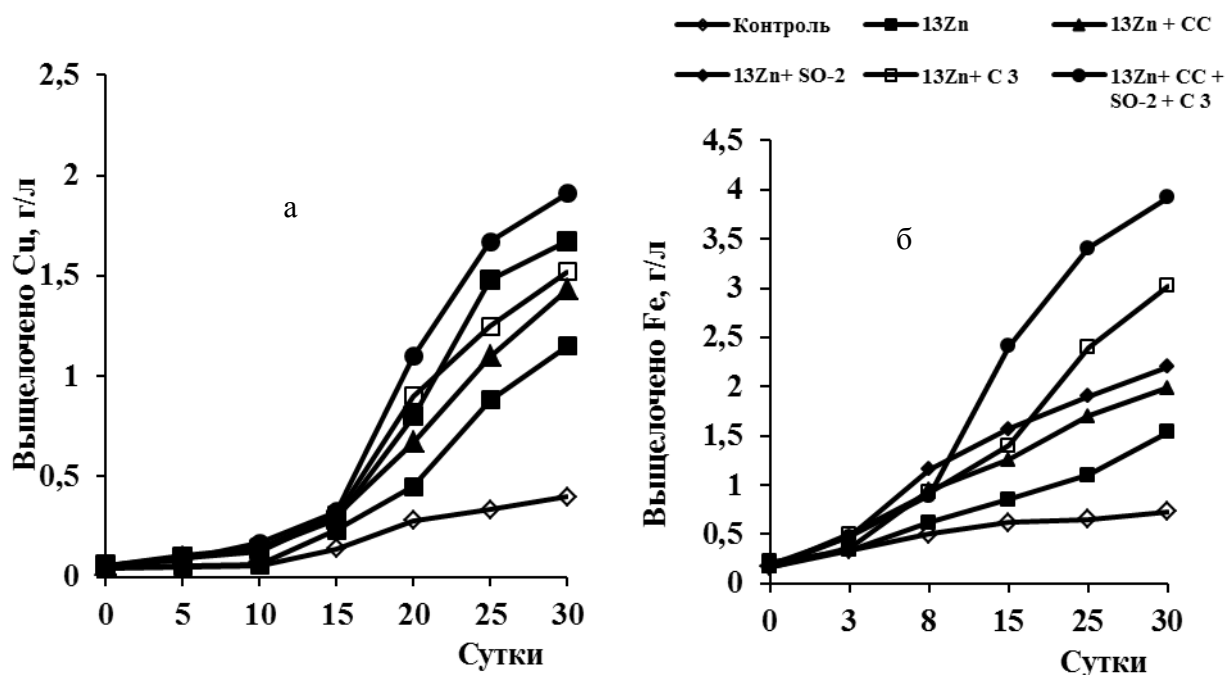


Рисунок 1. Выщелачивание меди (а) и железа (б) из халькопирита чистой культурой *Acidithiobacillus* sp. 13Zn и ассоциациями с *L.ferriphilum* CC и *At.albertensis* SO-2 и *Acidiphilium* sp. 3 (CuFeS_2 - 4%, pH 1.8, 30°C, 180 об/мин)

При этом экстракция меди из халькопирита возрастает в 1.6 и 1.2 раза соответственно (рис. 1а). Примечательно, что в выщелачивании меди и железа из халькопирита более эффективной (в 2 раза) оказалась ассоциация *Acidithiobacillus* 13Zn и ацидофильной гетеротрофной бактерии *Acidiphilium* sp. 3. Однако наивысшую эффективность в выщелачивании халькопирита показал консорциум, состоящий из *Acidithiobacillus* sp. 13Zn, *L.ferriphilum* CC, *At.albertensis* SO-2 и *Acidiphilium* sp. 3. Так, за 30 дней выщелачивания

халькопирита ассоциацией *Acidithiobacillus* 13Zn, *L.ferriphilum* CC, *At.albertensis* SO-2 и *Acidiphilium* sp. 3 экстракция меди достигала 15%, экстракция железа - 33%.

Выщелачивание халькопирита коррелируется с pH и ОВП раствора. Наименьшее значение pH (pH 1.5) и наивысшее значение ОВП (810 мВ) наблюдались в варианте с использованием консорциума, состоящего из *Acidithiobacillus* 13Zn, *At.albertensis* SO-2, *L.ferriphilum* CC и *Acidiphilium* sp. 3.

Халькопирит относится к растворимым в кислоте сульфидным минералам и, следовательно, подвергается атакам как со стороны трехвалентного железа (Fe(III)), так и протонов (H⁺) (Watling, 2006; Schippers, Sand, 1999). Железоокисляющие бактерии *L.ferriphilum* CC ускоряют выщелачивание халькопирита путем окисления Fe(II) и регенерации окислителя (Fe(III)). *At.albertensis* SO-2 в смешанной культуре окисляет сульфидную серу до серной кислоты, приводит к снижению pH среды и тем самым предотвращает образование гидрофобного слоя серы и ярозита на поверхности халькопирита. В результате *At. albertensis* SO-2 снимает эффект пассивации минерала и способствует интенсивному окислению халькопирита. Предполагается, что ацидофильные гетеротрофные бактерии *Acidiphilium* sp. 3, впервые использованные для выщелачивания халькопирита, могут утилизировать органические вещества, содержащиеся в экссудате или в лизате клеток и таким образом уменьшать токсичный эффект органических веществ для автотрофных бактерий *Acidithiobacillus* sp.13Zn и *L.ferriphilum* CC. Кроме того возможно, что гетеротрофы поставляют CO₂ для автотрофов. В процессе дыхания они выделяют CO₂, который фиксируется автотрофными бактериями.

Таким образом, синергические взаимодействия между различными видами ацидофильных автотрофных и гетеротрофных или миксотрофных бактерий в ассоциации способствуют быстрому выщелачиванию халькопирита и увеличению экстракции меди и железа.

Список литературы:

1. Akcil A, Ciftci H, Deveci H. Role and contribution of pure and mixed cultures of mesophiles in bioleaching of a pyritic chalcopyrite concentrate // Miner. Eng. - 2007 (20). – P.310 – 318.
2. Falco L., Pogliani C., Curutchet G., Donati E. A comparison of bioleaching of covellite using pure cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* or a mixed culture of *Leptospirillum ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. // Hydrometallurgy. - 2003 (71). – P. 31 – 36.
3. Fu B., Zhou H., Zhang R., Qiu G. Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed cultures of *Acidithiobacillus* spp. and *Leptospirillum ferriphilum*. // Intern. Biodet. Biodegradation. – 2008 (62). – P. 109 – 115.
4. Johnson D.B. Biomining - biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. // Current opinion in biotechnology. – 2014 (30). – P. 24 – 31.
5. Schippers A., Sand W. Bacterial Leaching of Metal Sulfides Proceeds by Two Indirect Mechanisms with Thiosulfate or via Polysulfides and Sulfur // Appl. Environ. Microbiol. – 1999 (65). № 1. – P. 319 – 321.
6. Stott M.B., Watling H.R., Fransmann P.D., Sutton D. The role of iron-hydroxy precipitates in the passivation of chalcopyrite during bioleaching // Miner. Eng. – 2000 (13). – P. 1117 – 1127.
7. Vardanyan A., Stepanyan S., Vardanyan N., Markosyan L., Sand W., Vera M., Zhang R. Study and assessment of microbial communities in natural and commercial bioleaching systems. // Miner. Eng. – 2015 (81). – P. 167 – 172.

8. Vardanyan N.S., Vardanyan A.K. New Sulphur Oxidizing Bacteria Isolated from Bioleaching Pulp of Zinc and Copper Concentrates // Universal Journal of Microbiology Research. - 2014 (2). – P. 27-31.

9. Wang Y., Zeng W., Qiu G., Chen X., Zhou H. A moderately Thermophilic Mixed Microbial Culture for Bioleaching of chalcopyrite at high pulp density. //Appl. Environ. Microbiol. – 2014 (80). № 2. – P. 741-750.

10. Watling H.R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphids – a review. // Hydrometallurgy. - 2006 (84). – P. 81-108.

11. Yu R-l, Zhong D-l, Miao L., Wu F.-d, Qiu G.-zh., Gu G.-h. Relationship and effect of redox potential, jarosites and extracellular polymeric substances in bioleaching chalcopyrite by acidithiobacillus ferrooxidans. // Trans. Nonferrous Met.Soc. China. – 2011 (21). – P. 1634-1640.

УДК 606:62:628.16.08:579.5

БИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩЕГО БИОПРЕПАРАТА «ЭНОЙЛ»

Молдагулова Н.Б., Хасенова Э.Ж., Кулжанова К.А.

РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК
Г.Астана, Республики Казахстан, e-mail: m_nazira1967@mail.ru

Түйіндеме

Биопрепараттың құрамына кіретін мұнайды тотықтандыратын штаммдардың генетикалық тұрақтылығы зерттелді. Зерттеудің нәтижесі культураларды қайтара егу олардың мұнайды ыдырататын қабілетінің жоғалуына әкеліп соқтыратындығын айтуға мүмкіндік берді. Алынған мәліметтерден культуралардың өміршеңдігін және биологиялық белсеңділік жағдайын сақтап қалу үшін культураларға СПА қоректік ортасына мұнайды қоспай 3 реттік егулер жүргізіп, одан кейін мұнайды немесе 0,5% дизельдік отынды қосып пассирлеу ұсынылады.

Аннотация

Изучена генетическая стабильность нефтеокисляющих штаммов, входящих в состав биопрепарата. Результаты исследований позволяют говорить о том, что в результате длительных периодических пересевов культуры утрачивают свою способность к деструкции нефти. Исходя из полученных данных для в жизнеспособном и биологически активном состоянии культур рекомендуется проводить пассирование культур без добавления нефти на питательной среде СПА в течение 3 последовательных пассажей, после чего необходимо добавлять нефть или дизельное топливо в концентрации 0,5%.