НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ

ИCCЫК-КУЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

им. К. ТЫНЫСТАНОВА

Диссертационный совет Д 03.24.693

На правах рукописи

УДК 634.5 (575.2) (04)

**БЕКЕБАЕВА МАДИНА ОМИРХАНОВНА**

**МИКРОБОЦЕНОЗЫ ЗОЛОТОНОСНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ КАЗАХСТАНА И ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ РУД МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

03.02.08 – экология

03.02.03 – микробиология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата

биологических наук

**Научные руководитель:**

д.б.н., профессор, член-корр.НАН КР – Дженбаев Б.М.

д.б.н., профессор, академик РАЕ - Канаев А.Т.

Бишкек – 2024

**МИКРОБОЦЕНОЗЫ ЗОЛОТОНОСНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ КАЗАХСТАНА И ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ РУД МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

03.02.08 – экология

03.02.03 – микробиология

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|  |  |
| --- | --- |
| Перечень условных обозначений, символов, единиц и терминов | 5 |
| ВВЕДЕНИЕ | 7 |
| ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | 13 |
| 1.1 Участие бактерий в процессе деструкции сульфидов | 13 |
| 1.2 Бактериально -химическое выщелачивание силикатов | 19 |
| 1.3 Распространение и геохимическая деятельность тионовых бактерий в месторождениях полезных ископаемых | 29 |
| 1.4 Физикогеографическая характеристика района месторождения Риддер-Сокольное | 40 |
| 1.4.1 Общие сведения о месторождении Риддер-Сокольное | 42 |
| 1.4.2 Особенности эколого-химической характеристики и географическое расположение некоторых рудных месторождений Казахстана | 45 |
| ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ | 48 |
| 2.1 Объекты исследования  2.2 Методы исследований  2.2.1. Синэкологические методы исследования  2.2.2 Физико-химические методы исследования | 48  48  48  52 |
| ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ | 55 |
| 3.1 Эколого-геохимическая характеристика руд и микробоценозызолотоносного месторождения Риддер-Сокольное | 55 |
| 3.1.1 Вещественный состав золотоносных руд месторождения Риддер-Сокольное | 58 |
| 3.1.2 Микробоценозы азотфикцирующих бактерий золотоносного месторождения Риддер-Сокольное  3.1.3 Микробоценозы тионовых бактерий золото-мышьяковистого месторождения Риддер-Сокольное | 63  70 |
| 3.2 Изучение сравнительной оценки влияния антропогенных факторов на структуру и динамику численности микробоценозов месторождений Риддер-Сокольное | 76 |
| 3.3 Экология хемолитотрофных бактерий золото-мышьяковистого месторождения Большевик | 78 |
| 3.3.1 Географо-экономическое характеристика золото-мышьяковистого месторождения Большевик | 78 |
| 3.3.2 Влияние различных физико-химических факторов на биовыщелачивания руды золотоносного месторождения Большевик | 80 |
| 3.3.3 Подбор подходящего к данной ассоциации химического растворителя (тиосульфат, тиомочевина) | 97 |
| 3.3.4 Определение оптимальной концентрации химического растворителя | 103 |
| 3.3.5 Проверка устойчивости моно и смешанных культур к токсичным элементам руды (сера, мышьяк) | 104 |
| 3.3.6Определение активности разрушения основных золотовмещающих минералов руды (арсенопирит, пирит) | 111 |
| 3.4 Изучение рентгенофазового свойства золото-мышьяковистой руды месторождения Большевик после биовыщелачивания *Acidithiobacillus ferrooxidans* | 114 |
| 3.5 Изучение влияния абиотических факторов на культуру бактерий *A.ferrooxidans* TFV и TFBK | 121 |
| 3.5.1 Влияние температуры на окисление двухвалентной железа культурой бактерий *A.ferrooxidans* TFV и TFBK | 121 |
| 3.5.2 Демэкология аоссоциативных культур *Aсidithiobacillus ferrooxidans* и способы получения эффективных культур бактерий | 134 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 137 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ | 139 |

**ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ, ЕДИНИЦ И ТЕРМИНОВ**

В настоящей работе применяются следующие термины с соответствующими определениями и сокращениями:

Бактерии – мельчайшие одноклеточные организмы, размножающиеся делением.

Литотрофы – микроорганизмы, развивающиеся на различных видах неорганического субстрата.

Гетеротрофы – микроорганизмы, развивающиеся на различных видах органического субстрата.

Ацидофилы – микроорганизмы, предпочитающие кислые среды культивирования.

Метаболиты – вещества, выделяемые в процессе жизнедеятельности микроорганизмов.

Выщелачивание – процесс извлечения растворимого компонента из твердой фазы с помощью растворителя.

*Выщелачивание кучное* – выщелачивание ценных компонентов растворителями из руды, уложенной штабелями на специальной площадке.

*Выщелачивание бактериальное* – то же, с использованием определённых видов бактерий, повышающих скорость процесса и полноту извлечения ценных компонентов.

КОЕ/мл – колония образующая единица в миллилитре;

С – градусы Цельсия

t – температура

ЕМе – степень извлечения металла, %

СМе – концентрация металла, мг/л

Т:Ж – соотношение твердой фазы к жидкой при выщелачивании

РФА – рентгенофазовый анализ

ЗИФ – золотоизвлекательная фабрика

B – вольт

мВ – милливольт

г – грамм

фунт – ≈ 454 грамм, 0,45392кг

мг – миллиграмм, 10-3 г

мл – миллилитр, 10-3 л

г/см3 – грамм на сантиметр кубический

нм – нанометр, 10-9 м

мкм – микрометр, 10-6 м

мМ – миллимоль, 10-3 М

мкМ – микромоль, 10-6 М

кл/мл – количество клеток в 1 мл

кл/г – количество клеток в 1 гр

М – моль

Да – дальтон

мА – миллиампер, 10-3 А

х.ч. – химически чистый

ч – чистый

g – гравитационная постоянная

МПА – мясопептонный агар

КВ – кучное выщелачивание

РУ-1 – рудоуправление №1

СГХК – Степногорский горно-химический комбинат

РОФ – рудообогатительная фабрика

ГМЗ – гидрометаллургический завод

**ВЕДЕНИЕ**

Последние десятилетия характеризуются выдающимися достижениями экологии и микробиологии, являющейся междисциплинарной областью знаний. Если мировой рынок технологий для охраны окружающей среды в настоящее время оценивается в 235% млрд. долларов, то, по некоторым оценкам, 25-40% приходится на долю биотехнологий. В частности, применение методов биохимического выщелачивания позволили существенным образом повысить рентабельность технологий извлечения металла из упорных руд, количество которых год от года растет ввиду исчерпания запасов латеритных руд с высокими показателями содержания благородных металлов.

Одной из центральных проблем геохимической экологии является изучение геохимической деятельности микроорганизмов месторождений. Геохимические функции микроорганизмов в природе настолько разнообразны, что выделяют 9 категорий биогеохимических процессов, протекающих в экосистемах с помощью микроорганизмов [1-3]. Среди них особое значение имеют окислительные процессы превращения трудно растворимых минералов, осуществляемые хемолитоавтотрофными бактериями, которые используют элементы с переменной валентностью в энергетических целях в качестве доноров электронов. С их деятельностью в природе связано образование и разрушение полезных ископаемых, они осуществляют важнейшие этапы круговорота минеральных элементов и являются связующим звеном между геохимическими и биологическими процессами.

Рассматривая геохимические превращения минералов в экосистеме, В.И.Вернадский указывал на участие в этих процессах тионовых бактерий. Но, в его время не были достаточно хорошо изучены ни распространение, ни экология хемолитотрофных бактерий, поэтому он невольно переоценивал значение пурпурных и нитчатых серобактерий в биогеохимии минералов. Исследования деятельности хемолитотрофных бактерий в природе дали возможность внести поправки и дополнить схему биогеохимических превращений минералов В.И.Вернадского.

Рассматривая геохимические превращения металлов, академик С.С. Смирнов разработал теорию окисления верхних слоев сульфидных месторождений. Однако его теория не учитывает роль микроорганизмов, в частности *T.ferrooxidans*, в присутствии которых окисление сульфидов металлов протекает гораздо быстрее, чем только кислородом воздуха.

Сейчас взгляд на первичную кору окисления сульфидных пород иной – кислород имеет значение, но, на каком-то этапе выветривания подключаются микроорганизмы, образующие серную кислоту, тем самым окисление и разрушение пород ускоряется.

Способность хемолитотрофных бактерий преобразовывать минералы, содержащие элементы с переменной валентностью, нашла широкое практическое применение и составила основу самостоятельного раздела экологической биотехнологии - биогеометаллургии. Поэтому уже более 50 лет проводится изучение биохимии и физиологии тионовых бактерий. К настоящему времени хорошо изучены пути метаболизма этих бактерий и способы повышения их устойчивости к металлам. По сравнению с этими вопросами менее изучена их экология.

Железоокисляющие тионовые бактерии в экологическом отношении являются ярко выраженными специалистами. Экологической нишей для них служат месторождения сульфидных минералов, кислые рудничные воды. Многие месторождения сульфидных руд изучены в отношении распространения в них тионовых и сопутствующих микроорганизмов. Однако почти нет исследований по сопоставлению микробоценозов месторождений отдаленных друг от друга географических районов.

В связи с вышеизложенным материалом, изучение экологии микроорганизмов в месторождениях сульфидных руд разных географических зон и их геохимической деятельности представляется весьма актуальным.

**Связь темы диссертации с основными научно-исследовательскими программами.** Научная работа проведена в рамках Подпрограмма 102 «Грантовое финансирование научных исследований», Приоритет: «1. Рациональное использование природных ресурсов, переработка сырья и продукции», «Разработка биохимической технологии извлечения благородных металлов из упорных руд казахстанских месторождений с использованием активных ассоциаций хемолитотрофных бактерий», УДК 581.52;550.72; МРНТИ 62.13.27; № гос. регистрации 0115РК00277; Инв. № 0217РК01522.

**Цель исследования** – оценка влияния антропогенных факторов на структуру и динамику численности микробоценозов в техногенных экосистемах Восточного Казахстана и повышение эффективности технологии выщелачивания руд микробиологическим методом.

**Задачи исследования:**

1. Изучить частоту встречаемости *А.ferrooxidans* и количественная оценка значимости физико-химических факторов, влияющих на состав микроорганизмов характерных для рудных месторождений Восточного Казахстана;
2. Установить сезонную динамику и зависимость к температуре микробоценозов золотоносных месторождений Восточного Казахстана;
3. Разработать способ получения ассоциативных и умеренно термофильных культур, выделенных из ряда месторождений Восточного Казахстана;
4. Установить закономерность активизаций культур бактериальных клеток, который является ключевым процессом биоокисления сульфидных руд;
5. Определить количественный состав видов бактериалной клетки и целесообразность применения проведенного молекулярно-биологического исследования структуры сообщества в прикладных биотехнологических и микробиологических исследованиях.

**Научная новизна полученных результатов:**

* Впервые получены данные о численности и составе микробоценозов руд и шахтных вод золотоносного, техногенного месторождений Казахстана.
* Показана зависимость численности тионовых бактерий от сезонных и техногенных стадий.
* Определены условия интенсификации процесса извлечения золота с использованием хемолитотрофных бактерий для последующего тиосульфатного выщелачивания с помощью тионовых бактерий.
* Определены оптимальные экоусловия биовыщелачивания золотоносных руд с помощью тионовых бактерий, обеспечивающих максимальное извлечение золота.
* Установлено влияние различных концентраций химических соединений на рост и развитие железоокисляющих бактерий.
* Определены условия активизации процессов выщелачивания бедных золотомышьяковых концентратов.
* На основе результатов исследования микробоценозов золотосодержащих руд, кинетических параметров реакций бактериального извлечения золота из бедных, золотосодержащих руд установлен механизм протекания процессов бактериально-химического вскрытия руд.

**Практическая значимость полученных результатов.** Данные, полученные при изучении геохимической деятельности микроорганизмов рудных месторождений, имеют значение для практики выщелачивания цветных металлов. Эти микроорганизмы перспективны как биоэкологический и биотехнологический объект для использования в гидрометаллургии с целью интенсификации процессов выщелачивания металлов из руд и продуктов их обогащения.

Исследования по изучению и выявлению различных способов повышения активности железоокисляющих бактерий, которые имеют важное практическое значение, так как позволяют длительное время поддерживать культуры в активном состоянии в техногенных экосистемах, что отвечает требованиям эко-технологического процесса, основанного на деятельности этих микроорганизмов.

**Экономическая значимость полученных результатов.** Экономическая эффективность научно-исследовательских работ, ожидаемые результаты от внедрения научного исследования в производство дольжны быть расчитаны на примере эталона. В производстве бактериально-химического способа выщелачивания золотосодержащих руд в качестве эталона обычно применяются производственные технологические процессы,в которых нашли применение результаты научно-исследовательской работы. Для достижения поставленной цели в диссертации сделаны попытки решить задачи, которые, по мнению автора, наиболее актуальны для рассматриваемого - выявить особенности процесса "бактериально-химического способа выщелачивания золотосодержащих руд".

**Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Изучены частота встречаемости *А.ferrooxidans* и количественная оценка значимости аутэкологических (физико-химических) факторов, влияющих на состав микроорганизмов характерных для рудных месторождений Восточного Казахстана. Обоснованы эколого-геохимические характеристика рудного залежа и географическое расположение золотоносных месторождений Казахстана;
2. Установлены сезонная динамика микробоценозов хемолитотрофных бактерий золотоносных месторождений Восточного Казахстана, а также их зависимость к температуре окружающей среды;
3. Выделение хемолитотрофных бактерий, первичная идентификация культур на уровне нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК;
4. Выявлены влияние абиотических факторов на процесс биовыщелачивания сульфидных минералов и руд;
5. Разработаны способ получения ассоциативных и умеренно термофильных культур, выделенных из месторождений Восточного Казахстана.

**Личный вклад соискателя.** Соискателю принадлежит решающая роль в выборе направления исследований, в формулировании проблемы, постановке целей и задач, разработке экспериментальных подходов и обобщении результатов***.*** Соискатель принимал личное участие во всех этапах исследований. В работах, выполненных в соавторстве, соискатель принимал участие в выполнении экспериментальной работы, в обобщении и интерпретации полученных результатов, в подготовке научных публикаций, выступал с научными докладами.

**Апробация результатов диссертации.** Материалы исследований были доложены на конференции: Международной научно – практической конференции: «Актуальные проблемы биотехнологии, экологии и физико-химической биологии» в рамках ІV Международных Фарабиевских чтений (Алматы, 2017); І Международной научно-практической конференции: «Агропромышленный комплекс и сельскохозяйственные науки» (Шымкент, 2017); Международной научно-практической конференции «Ауэзовские чтения – 16: «Четвертая промышленная революция: новые возможности модернизации Казахстана в области науки, образования и культуры» (Шымкент, 2018); Международной научной конференции «Инновационная наука на пороге ХХI века», посвященной 75-летию основания института химии и фитотехнологии НАН КР (Бишкек, 2018); **Евразийского Научного Объединения «Стратегии устойчивого развития мировой науки», 75я Международная научная конференция (Москва, 2021).** «The scientific heritage» – специализированное периодическое издание, ориентированное на научное сообщество (Будапешт, 2024).

**Полнота отражения результатов диссертации в публикациях.** По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе несколько работ включены в журналы, рекомендованных РИНЦ КР, 2 статьи опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК КР, 3 - в национальную библиографическую базу данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ), остальные вошли в издания Казахстана, в России и др.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 159 страницу компьютерного текста, состоит из введения, 3-х глав, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы из 160 наименований, в том числе 55 зарубежных авторов, включает 19 таблиц, 44 рисунок.

#### **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

**1.1 Участие бактерий в процессе деструкции сульфидов**

За последние десятилетия работами микробиологов установлено [1], что тионовые бактерии, и в первую очередь микроорганизмы *Acid.ferrooxidans*, принимают участие в окислении сульфидных руд. При этом на первом этапе этих исследований (1950-1960-е годы) была доказана способность *Acid.ferrooxidans,* стимулировать в кислом растворе (pH<3) окисление закисного железа согласно реакции:

*4FeSO4+2H2SO4+O2 → 2Fe2(SO4)3+2H2O* (1)

Принимая эту реакцию в виде основополагающей, микробиологи создали представление о косвенном механизме бактериального окисления сульфидов [3, 5], согласно которому окисление минералов рассматривается как химический процесс, осуществляющийся с помощью сульфата трехвалентного железа, а бактериям отводится роль окислителя образующихся в растворе FeSO4 и серы. Так, для пирита этот процесс описывался следующими реакциями:

*FeS2+3,5O2+H2O=FeSO4+H2SO4* – химическим путем, (2)

*2FeSO4+0,5O2+H2SO4=Fe2(SO4)3+H2O* – бактериальным путем, (3)

*FeS2+Fe2(SO4)3=3FeSO4+2S* – химическим путем, (4)

*S+1,5O2+H2O=H2SO4* – с помощью бактерий. (5)

О косвенной роли бактерий и первостепенном значении сульфата окисного железа базировались и первые промышленные технологии бактериального выщелачивания руд.

В 1960-е годы в Великобритании возникла электрохимическая гипотеза жизнеобеспечения микроорганизмов, согласно которой трансформация энергии окисления в энергию жизнеобеспечения клетки имеет промежуточную электрическую энергию. Иными словами, процесс окисления вещества связан с биохимическими реакциями в живой клетке потоком (транспортом) электронов с косного (окисляющегося) субстрата на клетку.

В это же время в минералогии интенсивно разрабатывается представление о природном окислении полупроводниковых минералов (сульфидов) как об электрохимическом процессе, сопоставимом с процессом коррозии металлов. В чисто химическом варианте осуществление процессов окисления минерала предполагает наличие противоположного процесса восстановления на окислителе, находящемся в электролите (например, на кислороде, ионе Fe3+ и др.) и потребляющем электроны окислительной реакции. В бактериальном варианте таким потребителем электронов может стать живой окислитель - клетка микроорганизма, стимулирующая тем самым процесс окисления минерального субстрата [6, 7].

С высказанной идеей согласуются данные о прямом контакте микроорганизма с окисляющимся минеральным веществом, которые стали появляться уже в конце 1950-х годов. В частности, было показано прямое воздействие *Acid.ferrooxidans* на ковеллин и халькозин, а затем на пирит, халькопирит и борнит. Прямой контакт тионовых бактерий с сульфидами подтвердился электронно-микроскопическими исследованиями [8]. Снимки, полученные в сканирующем микроскопе, продемонстрировали избирательную адсорбцию бактериальных клеток на сульфидной поверхности, а не на поверхности содержащихся в изученных пробах силикатов.

В настоящее время появляется все больше доказательств в пользу электрохимической модели бактериального окисления сульфидов в условиях прямого контакта клетки микроорганизма с минералом. Клетка благодаря своим окислительным ферментам и катализаторам стимулирует окислительный процесс на минерале, в результате чего получает необходимую для своего существования и развития энергию. Микроорганизм выступает в роли живого окислителя, а с точки зрения электрохимической модели процесса окисления - живого катода. Минерал, становясь донором электронов для бактериальной клетки, окисляется, т.е. разрушается, занимая в этой системе анодную позицию. На разных минералах, в первую очередь в зависимости от их химической и структурной конституции, этот процесс в отношении его общего характера и интенсивности осуществляется индивидуально.

На основе электрохимической модели экспериментально исследован процесс бактериального окисления ряда сульфидных минералов - халькозина, борнита, халькопирита, пирита, арсенопирита, пирротина и пентландита [9].

Опыты проводились с использованием бактерий *Acid.ferrooxidans* в сернокислом растворе (питательная среда 9К) pH=2,5-3 в условиях термостатирование препаратов (около +30оС) с помощью культурального (минеральной суспензии с бактериями), безжизненной (минеральной суспензии без бактерий). В течение экспериментов (12-14 сут.) склянки с растворами в термостате размещались на качалке. В результате постоянного встряхивания растворов происходило перемешивание и, следовательно, улучшение контактирования бактериальных клеток с минеральными частицами. В термостат постоянно подавался воздух. Исходная концентрация *Acid.ferrooxidans* в рабочем объеме (100 мл) минеральной суспензии обычно составляла 105 клеток. После окончания опытов определялась конечная концентрация бактерий, которая служила одним из критериев интенсивности окисления сульфида [10, 11].

В склянках с культуральными и холостыми растворами в период эксперимента были размещены периодически подключающиеся к pH-метру минеральные электроды - миниатюрные кусочки мономинерального сульфида с полированной поверхностью, запрессованные в полистироловый цемент. Использованный в экспериментах сульфид предварительно тщательно исследовался минералогическом отношении химического состава, степени однородности, примесей, дефектов, типа проводимости и прочих особенностей [50, 54].

В ходе эксперимента ежедневно проводилось измерение ЭП сульфида, ОП раствора-суспензии и pH раствора. Через сутки раствор в склянках количественно анализировался на содержание в нем элементов, входящих в состав сульфида. При этом отдельно определялись окись и закись железа, меди и других разно - валентных элементов, а также исходное и конечное валовое содержание в растворах сульфатного аниона. В целом бактериальное окисление сульфида в описанных экспериментах изучалось c получением электрохимических (ЭП, ОП, pH), количественных химико-аналитических (состав растворов) и бактериальных (рост и развитие бактерий) параметров, описывающих этот процесс и представляемых в виде графиков и диаграмм [12-15].

Следует отметить, что указанным экспериментам обычно предшествует большая дополнительная работа, связанная не только с уже отмеченным исследованием окисляющегося минерала, но и с изучением процесса его химического (абиогенного) окисления и характера растворения в используемых сернокислых растворах с заданной величиной pH. Особое внимание уделяется получению данных по химизму и состоянию этих растворов в координатах Eh-pH, для чего изучается имеющаяся справочная и специальная литература, а иногда проводятся дополнительные эксперименты.

Специальные опыты по изучению абиогенного окисления сульфидов решают важнейшие вопросы, которые касаются в первую очередь, вывода уравнений окисления минерала в различных областях Eh-pH. Состояния раствора, особенно в кислых условиях - в среде развития *Acid.ferrooxidans*, и определения форм, в виде которых компоненты сульфида оказываются в культуральном растворе, когда процесс окисления совершается с участием весьма активного окислителя - бактерий. Подобные исследования проведены для целого ряда сульфидов - пирита, халькопирита, халькозина, галенита, сфалерита, арсенопирита, станнина, пентландита, тетраэдрита и др. С их результатами можно познакомиться в уже указанных публикациях [16-19].

Так, в случае экспериментального изучения окисления халькозина предварительно было определено, что в сернокислой среде с pH<3 халькозин окисляется в соответствии с реакцией

*Cu2S + 1,75O2 + 0,5H2O → [CuHSO4]+ + Cu2+ + 3http://images.geo.web.ru/pubd/2001/11/23/0001161842/image3.gif* (6)

Образование комплексного катиона [CuHSO4]+ приводит к ощутимому повышению pH раствора, что хотя и снижает возможность дальнейшего формирования этого комплекса, но становится губительным для клеток *Acid.ferrooxidans*. В связи с этим в ходе эксперимента приходилось регулировать величину pH раствора путем добавления определенного объема серной кислоты.

В результате было установлено наиболее интенсивное выщелачивание из сульфида меди (за 12 суток было извлечено около 15% Cu), существенно опережающее выход в раствор серы: в бактериальном процессе действовал механизм экстракции металла. Деструкция минерала осуществлялась в условиях проявления основного правила: ОП культурного раствора был постоянно выше ЭП сульфида. По окончании эксперимента концентрация *Acid.ferrooxidans* в растворе оказалась 109 кл/мл, что в 1000 раз превысило исходное содержание "живого вещества".

Экстрагирование меди из халькозина практически происходило в течение 6 сут. эксперимента. Торможение и затем прекращение окисления частиц минерала, скорее всего, связано с интенсивным изменением их поверхности, благодаря потере кристаллической решеткой катионных узлов и возникшим затруднениям с выходом электронов с измененной поверхности сульфида. В практике выщелачивания меди в подобных случаях производится перемалывание или перетирание руды [20, 21].

Один из основных выводов рассмотренного исследования заключается в том, что процесс бактериального выщелачивания металла из минерала оказалось возможным контролировать измерением или анализом ОП среды и ЭП сульфида - конец экстрагирования меди регистрируется выходом обоих графиков на стабильную позицию. Обратный характер изменения ОП (снижение) и ЭП (возрастание) в начале опыта связан с постоянным падением концентрации свободных ионов H+ в растворе и накоплением продуктов окислительной реакции, т.е. с выходом меди в раствор [22, 23].

Процесс окисления сульфидов существенно усложняется, когда они образуют полиминеральные ассоциации - руды. Окисление руд направляется и контролируется особенностями электрохимических реакций, протекающих между контактирующими минералами и участвующими в этом процессе микроорганизмами [24, 25].

В настоящее время имеются данные по бактериальному окислению простейших рудных ассоциаций - сульфидных пар, в частности тех, которые характерны для лучше обследованных микробиологами медно - колчеданных месторождений. В связи с уже рассмотренным примером окисления халькозина наиболее интересным представляется опыт по бактериальному окислению пары халькозин-пирит (весовое отношение минералов в смеси равно). Результаты эксперимента показывают, что в течение опыта пирит по отношению к халькозину занимает устойчивую катодную позицию (его ЭП был постоянно выше ЭП халькозина). В данном случае было как бы два катода - пирит и микроорганизм *Acid.ferrooxidans*, оба стимулировавшие процесс окисления халькозина. В результате выход меди в раствор резко увеличился и за 8 суток составил 50% от содержания этого металла в минерале [26].

В таблице 1.1 приведены результаты и других экспериментов с двойными смесями сульфидов. Во всех случаях добавка высокопотенциального ("катодного") сульфида способствовала интенсификации окисления другого минерала смеси, находившегося в анодном положении.

Таблица 1.1 - Выход меди в раствор в опытах с мономинеральными и смешанными пробами за 8 суток (измерение проходит в % от содержания Cu в 1 г пробы сульфида)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Мономинеральные пробы | Выход меди | Смешанные пробы | Выход меди |
| Халькозин  Халькопирит  Борнит | 12  25  30 | Халькозин-пирит  Халькопирит-пирит  Борнит-пирит  Халькозин-Халькопирит | 50  60  50  50 |

Результаты, полученные на основании имеющихся экспериментов [27] по бактериальному окислению сульфидов, позволяют сделать следующие выводы:

- окисление сульфидных минералов с помощью бактерий происходит по законам электродных (коррозионных) процессов, в которых сульфид-донор занимает по отношению к бактериальным клеткам анодное положение;

- бактериальное окисление сульфидов ощутимо интенсифицируется, когда минералы образуют смеси друг с другом. В смесях (полиминеральных рудах) минерал, обладающий более высоким электродным потенциалом, наряду с бактериальными клетками, выполняет роль дополнительного катода, усиливающего процесс окисления низко потенциального минерала;

- в практике бактериального выщелачивания сульфидных руд следует учитывать минеральный тип руды, наличие в ее составе высокопотенциальных минералов и характер сочетаний их друг с другом. В случае нехватки в составе руды "катодных" сульфидов (например, пирита) можно рекомендовать их специальную добавку, увеличивающую выход металла в раствор;

- одна из важнейших проблем, связанных с бактериальной деструкцией сульфидов, а также с организацией и развитием биотехнологии, заключается в выявлении тонкой химико-структурной конструкции минералов на этот процесс.

Использование общих соображений, опирающихся на структурную модель сульфидного минерала. Например, кластерная позиция некоторых атомов в структуре - Fe в пирротине, Ni - в пентландите; тип проводимости в случае пирита или арсенопирита и др. или на расчетные данные величина Еа, ЭхП, эффективные заряды и пр. для прогноза результатов бактериальной деструкции минерала, может иметь только общее, прикидочное значение. В каждом конкретном случае необходима большая исследовательская работа, выполняемая на высоком методическом уровне.

**1.2 Бактериально-химическое выщелачивание силикатов**

Ранее был изучен характер биовыщелачивания породообразующих силикатов и алюмосиликатов островной, ленточно-цепочечной и слоистой структур. Менее традиционен таумасит. Минералы в этих опытах специально не изучались. Диагностические уточнения проведены A. Yu.Lein е. а. [28-30], иммерсионным и рентгеновским методом. Полученные результаты приведены в таблицах 1.2 и 1.3.

Первую серию образцов составил ряд дистен-андалузит-силлиманит, в котором при одинаковом содержании SiO2 переменна координационная позиция алюминия. Как и следовало ожидать, интенсивность выщелачивания возрастала от дистена к силлиманиту пропорционально изменению координационного числа алюминия от 6 до 4. Как и прежде, структура силикатов с тетраэдрическим алюминием силикатными бактериями разрушена сильнее.

Среди слоистых силикатов и алюмосиликатов наиболее разлагаемыми оказались алюмосиликаты. Интенсивность биовыщелачивания наиболее высокая у шамозита и глауконита, кристаллическая структура у них мало совершенна, химический состав переменен и, как правило, нестехиометричен. Наиболее устойчив в процессе бактериальной деструкции оказался тальк, слоистая структура которого, особенно тетраэдрические безглиноземистые сетки, наиболее идеальна, а магний не замещен ни алюминием, ни железом.

Особый интерес представляет деструкция таумасита с помощью бактерий, где кремний шестикоординационный при полном отсутствии в составе алюминия. Силикатный мотив структуры таумасита, подобно гидрогелям кремниевой кислоты, характеризуется удлиненными и существенно ослабленными связями Si-OH. В условиях деструктирующего действия на минерал водных, особенно близнейтральных растворов, эти связи, очевидно, остаются химически инертными. Абиогенное разрушение таумасита должно происходить в сильно кислых средах, при действии водородных ионов на связи Ca-O-S и Ca-O-C, характеризующих сульфатный и карбонатный мотивы структуры этого минерала [35-39].

Через четыре недели бактериального выщелачивания таумасит был разрушен почти полностью. Об этом свидетельствовало быстрое уменьшение количества исходной пробы и активное развитие бактерий. Опыт был остановлен. В накопленном фильтрате оказалось 50% SiO2 содержащегося в минерале перед экспериментом. Таким образом, в данном случае решающую роль в разрушении силиката играли его структурные особенности.

Для экспериментов было подготовлено пять образцов кварца [44], охарактеризованных в таблице 1.3. Среди них три образца представляют крупнокристаллический кварц, один из которых (обр. 3) окрашен в дымчатый цвет, имеет повышенное количество алюминия и компенсирующих отрицательный заряд на тетраэдре AlO4 калия и натрия (центры O-Al), а два другие (обр. 1, 2) - горный хрусталь; остальные образцы (4, 5) - типичный халцедон. Для сравнения один эксперимент поставлен с рентгеноаморфным опалом.

Таблица 1.2 - Результаты биовыщелачивания островных, цепочечных и слоистых силикатов в течение 15 недель

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Минерал и его формула | Место отбора образца | Структурные особенности координационного  числа алюминия | Содержание  SiO2 в 1 г, мг | Количество  Выщелачиваемого SiO2 | |
| мг/г | % от содержания |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Дистен Al2[SiO4]O | Таганай, Урал | Субцепочный, 6 | 370 | 27 | 7 |
| Андалузит Al2[SiO4]O | Семиз-Бугу, Казахстан | Субслойный, 6 и 5 | 370 | 32 | 8 |
| Силлиманит Al[AlSiO6] | Не известно | Ленточный, 6 и 4 | 370 | 40 | 11 |
| Таумасит Ca3[Si(OH)6][SO4][CO3].9H2O | Кодинский массив, Якутия | Цепочный (Al  отсутствует), Si=6 | 100 | 50 | 50 |
| Шамозит e4(Fe,Al)2(Si,Al)2Si2O10].(OH)8 | Висловское месторождение,  КМА | 6 и 4 | 250 | 90 | 35 |

Продолжение таблицы 1.2

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Глауконит K0,8(Fe1,43+Mg0,5Al0,1).(OH)2[Al0,3Si3,7O10] | Бахчисарай, Крым | 6 и 4 | 500 | 80 | 16 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Мусковит KAl2(OH)2[AlSi3O10] | Мамское месторождение  Иркутской области | 6 и 4 | 460 | 54 | 12 |
| Каолинит Al4(OH)8[Si4O10] | Просяновское месторождение Днепропетровской области | 6 | 460 | 54 | 12 |
| Монтмориллонит  Al2(OH)2[Si4O10].2H2O | Аскани, Грузия | 6 | 600 | 52 | 9 |
| Тальк Mg3(OH)2[Si4O10] | Афганистан |  | 620 | 28 | 4 |

Таблица 1.3 - Результаты биовыщелачивания кварца в течение четырех недель

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **N** образцов | Общая характеристика  образца.  Месторождение | Плотность  (±0,005) | Показатель преломления | | Содержание  примесей, % | Индекс  кристалличности. Структурная  упорядоченность | Количество выщелачиваемого SiO2  (% от содержания) |
| ne | no |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 1 | Горный хрусталь | 2,645 | 1,553 | 1,544 | CaO, Fe2O3, (0,18-0,20) | 10,9 | 0,8 |
| 2 | Крупноблочный, бесцветный, полупрозрачный. Ахалцихе, Грузия | 2,625 | 1,553 | 1,543 | Al2O3 (0,08-0,10); K2O  и Na2O (0,04-0,07) | Крупные  кристаллиты,  структурно  упорядоченные | 0,7 |
| 3 | Дымчатые,  прозрачные, дипирамидальные кристаллы. Тырныауз | 2,615 | 1,552 | 1,542 | Al2O3 (1,4), K2O (0,9)  и Na2O (0,25) | 7  Сравнительно  крупные,  упорядоченные  кристаллиты | 1,4 |

Продолжение таблицы 1.3

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 4 | Зернистый, слабо фиолетовый халцедон. Ахалцихе, Грузия | 2,605 | 1,537 | 1,532 |  | 5 | 0,9 |
| 5 | Зернистый, серый халцедон,  Ступино Московской области | | 2,505 | nср. около 1,539 | Заметно увеличено  содержание слабо  связанной воды  (0,25-0,30) | Весьма мелкие  слабо  упорядоченные  кристаллиты | 1,0 |

За основу структурной характеристики кварца принята степень его кристалличности (размер микроблоков - кристаллитов и их однородность по размеру), которая оценена через индекс кристалличности (К), определенный методом ИКС по интенсивности дублета полос поглощения в области 800-780 см-1. Исследованные образцы ранжировались в ряду понижения К следующим образом: 1(10)-2(9)-3(7)-4 и 5(5). Линейный размер кристаллитов у первых трех проб составлял около 4-5 мкм, у двух других находился в пределе 1,0-0,1 мкм.

Предполагалось, что более мелкозернистый кварц, характеризующийся большой площадью взаимных контактов слагающих его кристаллитов, обеспечивающей высокую степень их химического взаимодействия, а также концентрирующей на контактной поверхности активные "концевые" группы структуры (Si-OH, Si-O-Men+, Men+-OH и др.), дислокации и дефекты, должен выщелачиваться интенсивнее. В связи с возрастанием адсорбционной и химической активности поверхности тонкодисперсного минерала "атака" на него со стороны деструктатора (воды, ионов H+ и ОН-, других анионов раствора и микроорганизмов) становится более результативной. В связи с этим, для кварца ожидалось совпадение показанного выше ряда кристалличности этого минерала с рядом выщелачивания SiO2.

Опыты по бактериальному выщелачиванию кварца проводились четыре недели. В абиогенном растворе за это время все образцы разлагались очень слабо и однотипно. На рисунке 1.1 показаны графики накопления SiO2 в культуральном растворе. Обращает на себя внимание сохранение высокой скорости процесса в конце экспериментального времени.

Наибольшей интенсивностью бактериальной деструкции обладает обр. 3 - кварц высокой степени кристалличности, затем следуют пробы халцедона, а за ними - горный хрусталь с наиболее совершенной структурой в изученном ряду. Таким образом, "нарушителем" ряда оказался кварц, хотя и достаточно кристалличный (К=7), но содержащий структурные дефекты, обязанные замещению Si-Al в тетраэдре. На опале силикатные бактерии не развивались - минерал практически не выщелачивается [40-42].

Полученные результаты позволили сделать следующие выводы:

- с помощью силикатных бактерий кварц разрушается даже в нейтральном растворе;

- наиболее интенсивно выщелачивается кварц с примесьными дефектами - тетраэдрическим алюминием;

- для интенсивности изученного процесса более благоприятна низкая степень кристалличности образцов;

- аморфные разновидности SiO2 с высокой энтропийной сорбцией бактерии не разрушали.

Известно, что наиболее прочными связями в силикатах и кварце являются ковалентные связи Si-O-Si кремнекислородного тетраэдра. Мостиковый кислород, вследствие максимального использования обеих неподеленных пар электронов в 3*sp*3- и 3*d* орбиталях кремния и частичной двое связанности, делает кремнекислородный тетраэдр в структуре кварца и силикатов, весьма способствуя более интенсивному развитию процесса, осуществляет его даже в малоблагоприятных для абиогенной системы близнейтральных условиях. Силикатные бактерии развиваются лишь на кристаллическом минеральном субстрате [47, 48], устойчивом и химически инертным. При замене Si4+ на Al3+ мостиковый кислород поставляет для связи с алюминием лишь одну неподеленную пару электронов.

В результате на кислороде возникают делокализованные электроны, создающие на тетраэдре AlO4 избыток отрицательного заряда. Связь Al-O по сравнению с Si-O становится более удлиненной и ослабленной. По самым простым расчетам ее прочность уменьшается в 1,5-1,7 раза, а степень ковалентности снижается с 60 до 40%.

1 – горный хрусталь; 2 – полупрозрачный горный хрусталь; 3 – дымчатый кварц; 4 – фиолетовый халцедон; 5 – серый халцедон

Рисунок 1.1. Бактериальное выщелачивание SiO2 из образцов кварца разной кристалличности

Наиболее активный деструктор алюмосиликатов - ион Н+, обладающий электроноакцепторным свойством и огромной способностью проникать в электронную сферу мостикового кислорода с образованием связей Al-OH-Si, которые дополнительно удлиняются и ослабляются. Вслед за водородным ионом в "атаку" на структуру кварца вовлекаются также ионы Н3O+ и OH-, увеличивающие координацию кремния и алюминия и совершающие полный разрыв мостиковых связей [49, 50]. Конечными продуктами разрыва являются гидраты Si(OH)4 и Al(OH)3.

Таким образом, прочность кварца связана, прежде всего, со степенью его структурного совершенства: чем меньше ослабленных Si-О-Al связей, т.е. дефектных тетраэдров, тем труднее разрушается минерал. Степень кристалличности кварца в процессе деструкции отодвигается на второй план. Хотя при этом в абиогенном и биогенном варианте на разрушения минерала действуют общие принципы и закономерности бактериальный фактор.

В последнее время с помощью ЭПР - спектроскопии удалось определить в уже исследованном кварце содержание дефектов, связанных с изоморфной примесью Al по Si в тетраэдрической позиции. Полученный ряд увеличения количества дефектов оказался следующим в скобках показана концентрация дефектов в виде количества атомов. Al на 106 ат. Si обр. 2 (19) - обр.1 (24) - обр.4 (126) - обр.5 (147) - обр.3 (194) и полностью совпал с рядом увеличения степени бактериального выщелачивания проб [53-55].

Таким образом, контроль за биовыщелачиванием кварца следует вести, опираясь на данные по концентрации в минерале Al-дефектов.

* 1. **Распространение и геохимическая деятельность тионовых бактерий в месторождениях полезных ископаемых**

Распространение тионовых бактерий в природе зависит от наличия восстановленных соединений серы, используемых этими бактериями для хемоавтотрофного роста. Основная масса серы в природе связана с металлами в сульфатной и сульфидной форме, часть ее находится в виде самородных месторождений. По содержанию в земной коре сера относится к весьма распространенным элементам, количество ее в литосфере составляет 4,7 х 10-2 %. В связи с этим тионовые бактерии, обитающие в водоемах, а также в почвах и горных породах, играют очень важную роль в геохимических процессах [57].

Тионовые бактерии в морфологическом отношении представляют собой довольно однородную группу организмов, относящихся к порядку *Pseudomonadales,* и являются не спорообразующими грамотрицательными палочками длиной от 1 до 3 мк и диаметром около 0,5 мк. Большинство из них подвижно благодаря наличию полярных жгутиков. В зависимости от типа питания они подразделяются на автотрофов и миксотрофов. Среди тионовых бактерий можно выделить *Acid.denitrificans*, использующие в анаэробных условиях кислород нитратов для окисления соединений серы [59-62].

К представителям автотрофных тионовых бактерий относят *Acid.thioparus*, способных, развиваться как в нейтральной, так и в слабощелочной среде. Этот организм способен окислять серу, тиосульфат и политионаты. Оптимальной рН для развития этой культуры являются пределы от 5,0 до 9,8 [63-65].

Отличительной особенностью *Acid.thioparus* является то, что они кроме, соединений серы способны окислять роданиды, ферментативно гидролизуя их до сульфидов:

*CNS+H20 → HCNO + HS-* (7)

К миксотрофным тионовым бактериям относится *Т.intermedius*, окисляющий помимо тиосульфата и серы, некоторые органические соединения.

Ацидофильные тионовые бактерии имеют оптимум развития при рН среды < 4-5, они используют в качестве субстрата элементарную серу, катализируя реакцию:

*S0 +  1/2О2 + Н2О → Н2SO4* (8)

Типичными представителями этой группы тиобацилл являются *Т.thiooxidans* и *Т.concretivorus*. Эти автотрофные организмы близки между, собой экологически и морфологически. Отличием *Т.concretivorus* является способность усваивать, кроме нитрата аммония также и нитратный азот [67-69].

Особое положение среди тионовых бактерий занимает *Acid.ferrooxidans*. Спектр соединений, используемых им в качестве энергетических источников, весьма разнообразен. В кислой среде *Acid.ferrooxidans*, кроме серы, окисляет сульфиды металлов, ионы закисного железа и большое число промежуточных соединений [73]. Успешные опыты по его выращиванию за счет электрохимических процессов позволяют предположить, что *Acid.ferrooxidans* может вовлекать в обмен и окислять большое количество соединений, непосредственно ему недоступных так как в природе имеется множество окислительных процессов, в которых переносчиком электронов между бактериями и восстановителем является не только железо, но и водород. По способности окислять серу и ее восстановленные соединения *Acid.ferrooxidans* практически не отличается от *T.thiooxidans*, однако в качестве источника энергии предпочитает FeSO4, ускоряя реакцию:

*Fe2+ → Fe3+ + e- + 11,8 ккал* (9)

в благоприятных для развития условиях в 200-500 тыс. раз. Оптимальная концентрация ионов железа в среде для *Acid.ferrooxidans* составляет, по-видимому, величину порядка нескольких г/л, минимальная - 0,125 г/л. При окислении 1 г/атома Fe2+ прирост сухой массы клеток достигает 0,35 г. Накопление значительной биомассы *Acid.ferrooxidans* наблюдается при выращивании клеток за счет электролиза растворов [74].

Окисление ионов железа бактериями, по мнению F.Dungan and D.G. Lundgren [75], осуществляется на границе клеточной стенки и раствора. Электронно-микроскопические исследования показали, что клеточная оболочка *Acid.ferrooxidans* типична для грамотрицательных бактерий и состоит из 3-6 слоев. Внешние мембраны представлены липополисахаридами и полипептидами, в составе которых обнаружены липиды (около 50%) и различные органические кислоты. Столь высокое содержание липидов в полисахариде, по мнению авторов, определяет гидрофобность клеток и способствует выживанию организма в экстремальных условиях. Удаление из нее липополисахаридов липазой на 50% снижает скорость окисления Fe2+. Возможной цепью переноса электрона при бактериальном окислении железа может быть:

*Fe2+ → цитохром с → цитохром а → О2* (10)

Механизм бактериального окисления железа еще не выяснен полностью. Окислительно-восстановительный потенциал железа намного выше, чем у *цитохрома с* и непосредственное перемещение электрона между ними невозможно. Предполагается, что железо вступает в комплексное соединение с белком, обладающим более низким потенциалом. Изучение энергетического обмена, *Acid.ferrooxidans* показывает, что он базируется на единственной реакции окислительного фосфорилирования. Автотрофность этого организма в настоящее время, окончательно доказывает, основным путем ассимиляции СО2 является его включение в метаболический цикл Кальвина-Боскема через рибулозодифосфат.

Энергия, выделяющаяся при окислении восстановленных соединений серы и Fe2+, запасается в макроэргических связях АТФ. Согласно J.London [76], образование продуктов окисления сульфидов или серы зависит от вида бактерий, условий их культивирования и завершается окислением тиосульфата.

Так, обнаружили максимальную скорость окисления Fe2+ клетками *Acid.ferrooxidans* при 44-500С, а окисление его клеточными оболочками - около 600С [77]. Действие температуры на активность *Acid.ferrooxidans* связано с комплексом факторов. Наблюдается взаимосвязь между действием температуры и рН среды на рост бактерий и окислением железа. При пониженных температурах клетки этих бактерий уменьшают активность, т.е. рост их подавляется сильнее, чем процессы окисления железа. Поэтому путем увеличения количества клеток можно ускорить окислительные процессы, при пониженной температуре [78, 79]. Некоторые исследования [80-82] указывают на то, что в экстремальных условиях под воздействием внешних факторов (облучение, температура, нарушение целостности клеточной оболочки) автотрофные бактерии могут переходить на гетеротрофный способ питания [83] наблюдали, что при выращивании *Acid.ferrooxidans* на среде с Fe2+ и глюкозой бактерии необратимо теряли способность окислять железо и фиксировать СО2, но в то же время резко увеличивали потребление фосфатов и глюкозы. Органотрофная культура бактерии *Acid.ferrooxidans* утилизировал сахар, ряд аминокислот в качестве источников углерода и азота.

Высказано также предположение, что *Acid.ferrooxidans* и другие представители тионовых бактерий не могут использовать органические вещества после роста на неорганических субстратах из-за низкой активности ферментов. Но после адаптации к глюкозе она возрастает, что позволяет им развиваться на органических веществах [85, 86, 90]. Однако вызывает сомнение возможность роста хемоавтотрофных бактерий на среде, полностью лишенной неорганического источника энергии. Развитие бактерий в этом случае можно отнести за счет недостаточной очистки культур от сопутствующей микрофлоры.

Окисление сульфидов и серы в природе – весьма распространенный процесс, который более правильно назвать биогеохимическим, так как участие микроорганизмов в нем доказано [91-93].

Роль микроорганизмов в геологических процессах разнообразна. Они участвуют в выветривании сульфидсодержащих и других горных пород, в формировании и разрушении самородной и вулканической серы, влияют на состав рудничных и шахтных вод [94-96].

Металлы прямо или косвенно участвуют в росте, обмене и дифференцировке микроорганизмов. Ряд металлов следует отнести к незаменимым: K, Na, Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn и Mo, однако взаимоотношение данного микроорганизма и данного металла в данной среде (лабораторной или полевой) остается во многом не выясненным. Несколько областей взаимодействия микроорганизмов с металлами на молекулярном и генетическом уровне привлекли пристальное внимание исследователей в связи с задачами экологической биотехнологии. При этом возникает ряд трудностей, связанных с терминологией, используемой различными дисциплинами. Особенно важно взаимодействие в этой области между микробиологией и химией [97-99].

Тионовые бактерии представляют, единую в морфологическом и биохимическом отношении группу. Все тионовые бактерии способны использовать энергию окисления восстановленных соединений серы в серную кислоту для ассимиляции углерода, построения клеточного тела и всех остальных функций. Некоторые из тионовых бактерий могут использовать, для своей жизнедеятельности, кроме окисления серы, окисление других соединений, например, органических веществ или закисного железа [100]. Большинство тионовых бактерий способно к автотрофной ассимиляции углекислоты, и для некоторых из них углекислота является единственным источником углерода, другие могут использовать также органические вещества. От гетеротрофных бактерий, способных окислять соединения серы, тионовые бактерии отличаются тем, что используют энергию этого окисления для своей жизнедеятельности. Бактерии, принадлежащие к роду *Thiobacillus,* несмотря на единообразие биохимических механизмов, обнаруживают удивительную физиологическую приспособленность к условиям обитания. Если оставить в стороне обычные для бактерий варианты, обусловленные приспособлением к температуре и солености, которые представлены у тионовых бактерий крайне галофильными (25% поваренной соли в среде) и термофильными культурой бактерии, то разнообразие тионовых бактерий определяется, прежде всего, устойчивостью используемых соединений серы [101].

Хемолитотрофные бактерии, в частности, *Acid.ferrooxidans*, ускоряют окисление железосульфидных минералов. Вещества, токсичные для этих бактерий, могут быть использованы, для ингибирования бактериальной активности и контроля кислых шахтных вод. Испытаны, бензоат натрия, лаурилсульфат натрия, сорбат калия и некоторые органические кислоты в качестве ингибиторов *Acid.ferrooxidans* в лабораторных условиях. Установлено, что все три указанных соединения в концентрации 8-10 мг/л и органические кислоты в концентрации 10-3-10-2М эффективно ингибировали, бактериальный рост параллельно с уменьшением окисления железа на 70%. Делается вывод, что органические соединения или реагируют с внеклеточным железом, или влияют на функцию, связанную с бактериальной цитоплазматической мембраной [102].

Геохимическая роль *Acid.ferrooxidans* очень велика, она заключается в ускорении процессов окисления целого ряда сульфидов, что приводит к миграции таких элементов, как медь, цинк, никель и другие. Взаимодействие сернокислого окисного железа - продукта жизнедеятельности *Acid.ferrooxidans* с соединениями урана и ванадия приводит к изменению валентных состояний этих элементов. При окислении первичных сульфидов под действием *Acid.ferrooxidans* образуются следующие минералы: ярозит, англезит, антлерит, дигенит. В больших количествах также могут образовываться свинцовые вторичные минералы, как это, например, наблюдается на месторождениях Казахстана [61, 128, 136].

Облигатно автотрофная ацидофильная тионовая бактерия *Acid.ferrooxidans* имеет большое экономическое значение, поскольку участвует в выщелачивании металлов из руд и десульфуризации угля. Ее принято относить к облигатным аэробам. Способность *Acid.ferrooxidans* использовать Fe3+ в качестве акцептора электронов при анаэробном окислении Sо известна давно однако до сих пор не удавалось доказать сопряжение этой реакции с синтезом АТФ [103].

J.Pronke.a., [104] обнаружили, что в результате анаэробного окисления S клетки *Acid.ferrooxidans* могут осуществлять активный транспорт аминокислот, например, глицина. Более того, показали, что данная бактерия может расти автотрофно в присутствии молекулярной серы анаэробных условиях.

Микроорганизм *Acid.ferrooxidans* способен расти в присутствии высоких концентрациях мышьяка, образующегося при раскрытии золота из арсенитопирита в процессе выщелачивания. Исследованы механизмы, устойчивости бактерий. Культура бактерии, выделенная из рудников Morro Velho (Бразилия), выращивали на неорганической среде 9К, содержащей мышьяк в концентрациях 0,8 г/л, в полунепрерывных условиях культивирования в ферментере объемом 10 л, а также в колбах на качалке (500 мл). Из сравнения кривых роста в каждом случае, а также из сопоставления электрофоретических профилей бесклеточных экстрактов бактерии, выращенной в присутствии и в отсутствие мышьяка, сделан вывод о том, что у *Acid.ferrooxidans* есть два механизма устойчивости к мышьяку. Один из механизмов работает при высоких концентрациях мышьяка и связан с индукцией четырех белков (16,5; 22; 5; 24 и 33,5 КD) [105, 106].

Разные культуры бактерии железоокисляющей бактерии *Acid.ferrooxidans* растут без лаг-периода на среде, содержащей Fe2+ в присутствии 2 мл сульфита натрия. В отличие от этого рост *Leptospira ferrooxidans* на такой же среде не наблюдается. Бисульфит в концентрации 0,02 и 0,2 мл подавляет окисление *L.ferrooxidans* и *Acid.ferrooxidans,* соответственно Fe2+. При добавлении в среду формальдегида, который связывает бисульфит, окисление обоими видами бактерий Fe2+ восстанавливается. *Acid.ferrooxidans* проявляет достаточно высокую активность Fe3+ оксидоредуктазы, тогда как у *L.ferrooxidans* она слабая. По всей видимости, этим объясняется разная чувствительность изучаемых железобактерий к бисульфиту [108, 109].

Г.И. Каравайко и др. [110] отселектировали культуру бактерии *Acid.ferrooxidans TFZ*, активно окисляющий закисное железо (0,12 г) (л.ч.) u-0,08 ч-1) в присутствии 70 г/л Zn2+. Сравнительное исследование экстракционных образцов хромосомной ДНК четырех культурой бактерии *Acid.ferrooxidans* методом пульс - электрофореза позволило установить происхождение культуры бактерии ТFZ из культуры бактерии TF - 4, высказать предположение о локализации гена устойчивости к цинку в 98 т.п.н. - фрагмента хромосомной ДНК, а также его индуцибельности.

Клетки железоокисляющей бактерии *Acid.ferrooxidans АР 19-3* ферментативно окисляли молибденовый синий (МС, Мо5+) до Мо6+ Молибденоксидаза, катализирующая эту реакцию, очищена в 77 раз из мембран, солюбилизированных катионитами Р-40, с помощью хроматографии на ДЭАЭ-тойоперле 650 S и сефакриле S-500 HR. По данным ЭФ в ПААГ с DDCNa, очищенная молибденоксидаза состоит из субединиц с Mr 95000, 2400 и, возможно, 17000. Оптимум активности молибденоксидазы при рН 5,5. Очищенная молибденоксидаза окислила не только молибденовый синий, но также восстановленный цитохром *с* из млекопитающих и эти реакции ингибировалась цианидом и Со. Максимумы поглощения при 438 и 595 нм восстановленной молибденоксидазой указывают на присутствие цитохромоксидазы в этом ферменте [111, 112]. Окисленная цитохромоксидаза в очищенной молибденоксидазе восстанавливала молибденово синий, что указывает на решающую роль этой цитохромоксидазы в окислении молибденового синего [113-119].

В отвалах уранового рудника Сьюдар Родриго близ Саламанки (Испания) Silaniz M. е.а., [120] обнаружили не описанную ранее ацидофильную бактерию, окисляющую сульфидные минералы. Грамотрицательная бактерия была подвижна и имела палочковидные клетки. Бактерия была аэробной, могла расти на пирите и использовать серу или тиосульфат в качестве единственного источника энергии, что подтверждало ее принадлежность к роду *Thiobacillus.* Она не могла расти ни на глюкозе, ни на дрожжевом экстракте в качестве единственного субстрата. *Thiobacillus sp. T32* не могла расти на FeSO4 в качестве единственного источника энергии, но развивалась при добавлении глюкозы, принадлежала к мезофильным и крайне ацидофильным видам *Тhiobacillus,* поскольку имела рН оптимум 1,5-2,0. Содержание Г+Ц в ДНК составляло 58 %. Новый изолят мог расти на пирите, приводя в окисленное состояние и железо, и серу. Электрофореграмма белков изолята заметно отличалось от электрофореграммы других тиобактерий, например, *Acid.ferrooxidans.*

Клетки ацидофильной бактерии *Acid.ferrooxidans* выращивали в течение 5 дней при 28оС без встряхивания на порошке элементарной серы на поверхности среды Старки 1; клетки бактерий были суспендированы в той же среде. *Acid.ferrooxidans* окисляли элементарную серу до сульфита, причем, на атом серы поглощается молекула О2, если дальнейшее окисление ингибируется 2-н гептил-4-гидроксихинолин-N-оксидом. Получены доказательства стехиометрического превращения серы в сульфит и возможности превращения в сульфат [120].

Т.Yamanakae.a., [121] исследовали механизм окисления Fe2+ очищенными компонентами дыхательной цепи *Acid.ferrooxidans*. Показали, что Fe2+ цитохром- *с* -оксидоредуктаза восстанавливает феррицитохром в присутствии Fe2+ при рН 3,5, но фермент не реагирует с рустицианином. Рустицианин восстанавливается ферментом с Fe2+ в присутствии небольшого количества цитохрома *с*. Восстановленные формы растворимого и связанного с мембраной цитохрома *с* окисляются цитохром-*с*-оксидазой при рН 3,5. Восстановленный рустицианин также окисляется оксидазой. В целом дыхательная цепь, сопряженная с окислением Fe2+, выглядит, вероятно, следующим образом:

*Fe2+ → c-2 → цхр-с-оксидаза → О2 → рустицинин* (11)

*где* Е – Fe (II) - цитохром-*с*-оксидоредуктаза

Возможно, окисление феррицитохрома *с* цитохром-*с-*оксидазой происходит на периплазматической стороне цитоплазматической мембраны бактерий.

S.I.Niemelae.a., [139] исследовали влияние неорганического азота (NH4+, NO3-) и фосфата на биологическое окисление сульфидных руд черных сланцев, содержащих, пирротин как основной сульфид железа. Железо сначала растворяли в виде Fe2+ из руды, а потом окисляли до Fe3+ на качалках в колбах. В этих условиях растворение железа из пирротита главным образом, происходило благодаря, химическим реакциям с некоторым усилием под действием бактерий смешанной культуры SB/P-II, представляющей собой смесь Fe2+ и сероокисляющие ацидофильные бактерии. Среди которых преобладала культура *Acid.ferrooxidans*, тогда как последующее окисление Fe2+ было опосредовано бактериями, и химические реакции вносили незначительный вклад. Фосфат не усиливал окисление Fe2+, 6 мМ аммоний усиливал, а 6 мМ и 12 мМ нитрит подавляли окисление Fe2+. Черные сланцы содержат флоюпит, который изменялся до вермикулита Fe-окисляющими культурами.

При исследовании I. Suzuki е.а. [122] типовой культуры бактерии *Acid.ferrooxidans (АТСС 23270)* и два другие культуры бактерии этой железооокисляющей бактерии оказались способными расти не только на средах с Fe2+, S2-, или So, но в присутствии молекулярного водорода в качестве окисляемого субстрата. После длительного культивирования на минеральной среде, содержащей СО2, Н2О и О2 бактерии сохраняли способность окислять Fe2+ и соединения серы. Оптимальное значение рН для роста культур при использовании Н23,0-5,8. При рН 2,2 и 6,5 рост культур не наблюдался. При наличии как окисляемого субстрата Fe2+, бактерии растут при рН 1,0 и 6,0. Клетки, выращенные в присутствии Н2О, проявляют гидрогеназную активность при наличии в качестве акцептора электронов метиленовой сини. Другие представители *Thiobacillus* и *Leptospirillum ferrooxidans* способности окислять молекулярный водород не проявили.

В работах V.Berry и L. Murr [123] приведены данные о том, что бактерии, осуществляющие биологическое выщелачивание, подвергаются естественным стрессовым воздействиям различного рода, таким как изменения температуры или рН среды или присутствие некоторых токсичных металлов. На примере таких бактерий они использовали хемотаксис и реакцию на стрессовые воздействия, так как оба эти явления могут играть важную роль для адаптации микроорганизмов в условиях процесса выщелачивания.

Путем использования радиоизотопов у меченых клеток чистых культур *Acid.ferrooxidans* и *L.ferrooxidans* при помощи электрофореза в полиакриламидном геле с последующей авторадиографией они обнаружили, что оба эти вида реагировали на тепловой шок (30-40оС) путем ингибирования экспрессии большей части клеточных белков одновременно с синтезом специфического набора “стрессовых, или шоковых белков”. Резкие изменения рН (1,5-3,5) также вызвали увеличение синтеза специфических белков, в то время как присутствие некоторых тяжелых металлов не вызывало сходной реакции, возможно, в результате специфической адаптации этих микроорганизмов к их естественному месту обитания [132].

В двух исследованных видах железобактерий они обнаружили также мембранные белки, которые в зависимости от окружающих условий могут метилироваться как *in vivo*, так и *in vitro*. Так, присутствие Fe2+ и Ni2+ стимулировало их метилирование, аспартата - снижало. Метилирование, в свою очередь, являлось медиатором движения бактерии к ионам этих металлов или от аспартата. Они также исследовали предполагаемый рецептор Ni2+ и обнаружили, что хотя этот металл является для *E.coli* репеллентом, клеточные экстракты этой бактерии стимулировали метилирование мембранных белков *L.ferrooxidansin vitro* в присутствии Ni2+. Эти результаты заставляют предположить существование высоко консервативных участков метилирования белков у далеко не родственных форм бактерий [130, 133].

**1.****4 Физикогеографическая характеристика района месторождения Риддер-Сокольное**

**Географическое расположение**. По географическому расположению месторождения Риддер-Сокольное находится в Восточно-Казахстанской области, в 150 км от областного центра г.Усть-Каменогорска, в северной половине средней части Лениногорского гребена [138]. Риддер является городом областного подчинения. Географические координаты: 50о21I северной широты и 83о31I восточной долготы. Город Риддер основан 1786 году и назван по имени горного офицера Филиппа Риддера, открывшего в данной местности месторождение полиметаллических руд и заложившего рудник названный Риддерским. Город Риддер образован в 1934 году. Город до 1941 года назывался Риддером. Затем, с 1941 по 2002 года – Лениногорском.



Рисунок 2.7. Географическое расположение золотоносного месторождения Риддер-Сокольное

Город Риддер – третий по величине после г.Усть-Каменогорск и г.Семей, промышленный центр Восточно-Казахстанской области. Административная территория региона располагается на северо-востоке Казахстана, у подножья Ивановского хребта, в межгорной впадине на высоте от 700 до 900 метров над уровнем моря, в Лениногорской котловине, в горной лесостепной зоне.

|  |  |
| --- | --- |
|  | C:\Users\kanaev_a\Desktop\1111.jpg |
| Рисунок 2.8. Место отбора пробы (а) для исследования и географическое расположение (б) золото-мышьяковистого месторождения Риддер-Сокольное | |

**Климат.** Климат региона резкоконтинентальный, характерные черты – холодная продолжительная зима, умеренно прохладное лето, большие годовые и суточные колебания температуры воздуха. Средняя годовая температура равна +1,5 градусов по Цельсию, средняя температура января -12,7 градусов, абсолютный минимум -47 градусов, средняя температура июля +16,7, абсолютный максимум +37.

|  |  |
| --- | --- |
| Климатический график, Риддера | График температуры, Риддерб |
| Рисунок 2.9. Климатический график (а) и график температуры (б) г.Риддер | |

Годовое количество осадков составляет 675 мм, выпадение в течение года неравномерное: за зимний период (ноябрь-март) выпадает 126 мм, за летний (апрель-октябрь) – 549 мм (рис. 2.9) [5].

**1.4.1 Общие сведения о месторождении Риддер-Сокольное**

Месторождение Риддер-Сокольное связано с девонской базальтриолитовой формацией и размещается в пределах региональной вулкано-тектонической депрессии. По своей характеристике рудовмещающие эмсско-эйфельские вулканогенно-осадочные породы залегают на метаморфических сланцах нижнего палеозоя. Подрудная часть разреза сложена эффузивно-пирокластической толщей риолитового состава мощностью от 600 до 1100 м. Рудные залежи перекрыты толщей лав, туфов андезито-базальтового состава, туфогенных конгломератов и песчаников (мощностью 100 м), выше которых залегает пачка аргиллитов и алевролитов с линзовидными телами риолитов экструзивной фации мощностью более 400м. Все рудные залежи Риддер-Сокольного месторождения приурочены к сводовым частям купольных, структур, сложенных в основном гидротермально-осадочными кварцитами, которые в верхних частях сменяются пластами хлоритолитов и серицитолитов [6].

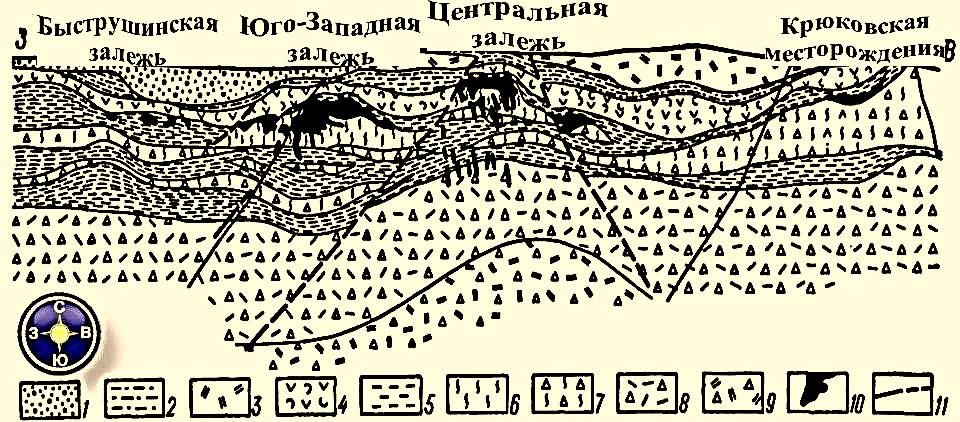


Рисунок 2.10. Схематический разрез Риддер-Сокольного месторождения. По Чепросову Б.

Схематическая обозначения: 1 - четвертичные отложения; 2 - сокольная свита - аргиллиты, песчаники; 3 - альбитофиры; 4 - ильинская свита - туфы и лавы среднего и основного состава; 5-7 - крюковская свита: 5 - алевропелиты, 6 - микрокварциты, 7 - вулканогенно-осадочные брекчии; 8-9 - лениногорская свита; 8 - туфы, лавы кислого состава; 9 - брекчии; 10 - рудные тела; 11 - реаломы.

Куполообразные структуры в момент рудообразования представляли собой холмы, достигавшие в поперечнике 500-700м и высоты в 100-200м. Холмы образуют две крестообразно пересекающиеся цепочки: они расположены вдоль синвулканических разломов северо-восточного и север-северо-западного направления. Сложенные в различной степени, литиофицированными гидротермально-осадочными породами они до начала рудоотложения и в течение этого процесса подвергались разрушению, у их подножий образовались оползневые брекчии. Рудные залежи локализованы в сводных частях куполов [7].

Они обычно имеют весьма выразительную медузообразную форму: верхняя часть залежи представляет собой пластообразное линзовидное тело сплошных гидротермально-осадочных руд, согласно залегающее на поверхности купола, подстилаемое и перекрываемое хлоритолитами и серицитолитами; вниз от согласной залежи отходят многочисленные апофизы, представленные жильными телами и минерализованными штокверковыми зонами. Эта корневая система локализована в трещинных рудоподводящих зонах. На склонах куполов фиксируются многочисленные шлейфы рудокластов, линзы слоистых обломочных пород, иногда сползшие с куполов перемещенные залежи столь значительны, что представляют промышленный интерес. Главными рудообразующими минералами являются сфалерит, галенит и халькопирит.

Второстепенными рудообразующими минералами являются [тетраэдрит](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%A2%D0%B5%D1%82%D1%80%D0%B0%D1%8D%D0%B4%D1%80%D0%B8%D1%82), [теннантит](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%A2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%B0%D0%BD%D1%82%D0%B8%D1%82), [марказит](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%9C%D0%B0%D1%80%D0%BA%D0%B0%D0%B7%D0%B8%D1%82), [арсенопирит](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%90%D1%80%D1%81%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BF%D0%B8%D1%80%D0%B8%D1%82), [золото](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%97%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%BE), [серебро](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%A1%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B1%D1%80%D0%BE), [электрум](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%AD%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BC). А также, к редким минералам относится [борнит](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%91%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%B8%D1%82), [молибденит](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%9C%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%B1%D0%B4%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%82), [алтаит](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%90%D0%BB%D1%82%D0%B0%D0%B8%D1%82), [самородный висмут](http://wiki.web.ru/index.php?title=%D0%A1%D0%B0%D0%BC%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B2%D0%B8%D1%81%D0%BC%D1%83%D1%82&action=edit&redlink=1), [висмутин](http://wiki.web.ru/wiki/%D0%92%D0%B8%D1%81%D0%BC%D1%83%D1%82%D0%B8%D0%BD)и др. Среди нерудных преобладают кварц, карбонаты, серицит, барит, хлорит. Зональность отчетливо выражена в смене (снизу вверх) серноколчеданных, медноколчеданных, медно-цинковых, свинцово-цинковых и барит-свинцово-цинковых руд; первые три типа локализованы в основном в корневой жильно-штокверковой зоне. В пластовой части рудных тел преобладают массивные, слоистые, полосчатые, колломорфные и брекчиевые текстуры; жильно-штокверковые руды характеризуются прожилково-вкрапленными, прожилково-полосчатыми, пятнистыми текстурами [142].

Производственный процесс получения товарного продукта Компании в целом связан, с обогатительным переделом. Добытая подземным или открытым способом руда поступает на обогатительные фабрики, где подвергается дроблению и измельчению. С помощью отсадочных машин и центробежных концентратов из измельченной руды получают гравитационный концентрат (гравиоконцентрат), из которого, путем глубокой перечистки получают лигатурное золото (шлихи), содержащее в своей массе 85–90% золота. Отходы гравитации поступают на флотационное обогащение путем подачи на флотационные машины различных реагентов для получения в конце процесса флотационного концентрата (флотоконцентрат) с содержанием золота 30-100г/т [9].

К таковым относятся окисленные руды месторождений Компании, суммарные запасы золота, в которых составляют более 10 тонн, а также "хвосты", содержащие до 15 тонн золота.

Технологии кучного выщелачивания и прямого цианирования планируется использовать на всех обогатительных фабриках Компании, которые в настоящее время работают по флотационной системе [11].

Как известно, кучное выщелачивание - это процесс получения полезных компонентов (прежде всего металлов) растворением подготовленного (раздробленных забалансовых руд и отвлов бедных руд или хвостов обогатительной фабрики) и уложенного в специальный штабель минерального сырья, с последующим их выделением (осаждением) из циркулирующих растворов [12] (рис. 2.10).

**1.4.2 Особенности эколого-химической характеристики и географическое расположение некоторых рудных месторождений Казахстана**

Одной из центральных проблем геохимической экологии является изучение геохимической деятельности микроорганизмов. Геохимические функции микроорганизмов в природе настолько разнообразны, что выделяют 9 категорий биогеохимических процессов, протекающих в экосистемах с помощью микроорганизмов [1–3]. Среди них особое значение имеют окислительные процессы превращения трудно растворимых минералов, осуществляемые хемолитоавтотрофными бактериями, которые используют элементы с переменной валентностью в энергетических целях в качестве доноров электронов. С их деятельностью в природе связано образование и разрушение полезных ископаемых, они осуществляют важнейшие этапы круговорота минеральных элементов и являются связующим звеном между геохимическими и биологическими процессами.

Рассматривая геохимические превращения минералов в экосистеме, В.И. Вернадский указывал на участие в этих процессах тионовых бактерий. Но, в его время не были достаточно хорошо изучены ни распространение, ни экология хемолитотрофных бактерий, поэтому он невольно переоценивал значение пурпурных и нитчатых серобактерий в биогеохимии минералов. Исследования деятельности хемолитотрофных бактерий в природе дали возможность внести поправки и дополнить схему биогеохимических превращений минералов В.И. Вернадского.

Рассматривая геохимические превращения металлов, академик С.С.Смирнов разработал теорию окисления верхних слоев сульфидных месторождений, т.е. выветривание. Выветривание это совокупность процессов физического и химического разрушения горных пород и слагающих их минералов на месте их залегания под воздействием колебаний температуры, циклов замерзания и химического воздействия воды, атмосферных газов и организмов. Теория С.С.Смирнова основывается химическому типу выветривания, он не учитывает роль микроорганизмов, в частности *А.ferrooxidans*, в присутствии которых окисление сульфидов металлов протекает гораздо быстрее, чем кислород, вода, углекислый газ.

Биогенное выветривание, производят живые организмы (бактерии, грибки, вирусы, роющие животные, низшие и высшие растения, лишайники). В процессе своей жизнедеятельности, они воздействуют на горные породы механически (разрушение и дробление горных пород растущими корнями растений, при ходьбе, рытьё нор животными). Особенно большая роль в биогенном выветривании принадлежит микроорганизмам.

Способность хемолитотрофных бактерий преобразовывать минералы, содержащие элементы с переменной валентностью, нашла широкое, практическое применение и составила основу самостоятельного раздела экологической биотехнологии - биогеометаллургии. Поэтому уже более 50 лет проводится изучение биохимии и физиологии тионовых бактерий. К настоящему времени хорошо изучены пути метаболизма этих бактерий и способы повышения их устойчивости к металлам. По сравнению с этими вопросами менее изучена их экология.

Железоокисляющие тионовые бактерии в экологическом отношении являются ярко выраженными специалистами. Экологической нишей для них служат месторождения сульфидных минералов, кислые рудничные воды. Многие месторождения сульфидных руд изучены в отношении распространения в них тионовых и сопутствующих микроорганизмов. Однако, почти нет исследований по сопоставлению микробоценозов месторождений отдаленных друг от друга географических районов.

В связи с вышеизложенным изучение экологии микроорганизмов в месторождениях сульфидных руд, географических зон и геохимической деятельности представляется весьма актуальной.

На протяжении многих лет природные комплексы Республики Казахстан активно осваиваются человеком. В результате многообразного хозяйственного воздействия структура и состояние природных комплексов подвергались существенной перестройке. Соотношение скульптурных и аккумулятивных форм рельефа в процессе техногенеза в каждом конкретном случае зависит от вещественного состава пород и региона расположения месторождений. В этой связи, мы изучали микробоценоз месторождений, расположенных в Южной Среди аммонификаторов встречаются как спорообразующие формы *(Bacillus),* так и микроорганизмы, не образующие спор *(Pseudomonas, Micrococcus, Arthrobacter, Mycobacterium, Proteus)*, Северной и Восточной части Казахстана. Геолого-минералогическая их характеристика представлена в табл. 3.1.

В этой связи объектами нашего исследования являлись, выбранные следующие месторождения, которые осваиваются шахтным и карьерным способами добычи золота.

**ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**2.1 Объекты исследования**

Месторождений исследования.

*Месторождения Восточного региона Республики Казахстан.*

Золотоносные месторождеий Риддер-Сокольное и Болшевик (рис. 2.1).

ÐÐ¾ÑÐ¾Ð¶ÐµÐµ Ð¸Ð·Ð¾Ð±ÑÐ°Ð¶ÐµÐ½Ð¸ÐµÐÐ¾ÑÐ¾Ð¶ÐµÐµ Ð¸Ð·Ð¾Ð±ÑÐ°Ð¶ÐµÐ½Ð¸ÐµÐÐ¾ÑÐ¾Ð¶ÐµÐµ Ð¸Ð·Ð¾Ð±ÑÐ°Ð¶ÐµÐ½Ð¸Ðµ

***Большевик***

***Риддер-Сокольное***

Рисунок 2.1. Карта географичского расположения изученных месторождений золота Казахстана

Объектами исследований являлись аборигенные культуры бактерии микроорганизмов, распространенные в рудном теле месторождений Казахстана: Риддер-Сокольное и Большевик (рис. 2.1).

**2.2 Методы исследований**

**2.2.1. Синэкологические методы исследования**

Синэкология это раздел экологии, изучающий многовидовые сообщества организмов - биоценозы. В настоящее время является одним из трёх главных разделов общей экологии (наряду с аутэкологией и демэкологией).

**Определение численности микроорганизмов в золотоносных месторождениях Казахстана.** В этой главе приводится методы выделения, количественного учета, определения активности и изучения микроорганизмов, участвующих в техногенных экосистемах.

Месторождения отличаются по климатическим и гидрологическим условиям. Проанализировав естественное водоснабжение выбранных месторождений, были выбраны перспективные участки для выделения аборигенных культуры бактерии литотрофных микроорганизмов. Поскольку для осуществления жизнедеятельности микроорганизмов необходимыми условиями является наличие воды, хорошая аэрация и в некоторых случаях солнечный свет, микробиологическое обследование проводилось с учетом данных факторов. Отбор проб для выделения литотрофных бактерий был осуществлен, в местах скопления шахтных вод, а также из верхних горизонтов руд, расположенных в непосредственной близости от подземных вод [134].

Количественный учет жизнеспособных клеток проводили методом предельных десятикратных разведений (рис. 2.2).



Рисунок 2.2. Образцы десятикратных разведений культуры *L.ferrooxidans*

Для выделения различных групп хемолототрофных бактерий были выбраны действующих месторождения Казахстана - Риддер-Сокольное и Большевик.

Численность микроорганизмов изучали общепринятыми экологическими методами, путем высева на соответствующие каждой группе микроорганизмов питательные среды [135].

5,0 г измельченной руды вносили в 150,0 мл жидких сред. Затем методом предельных разведений оценивали численность бактерий, а также их активность окисления двухвалентного железа. О развитии бактерии судили по появлению бурой окраски среды, вызванной образованием соединении трехвалентного железа [7].

**Получение накопительной культуры.** Для получения накопительных культур в колбы Эрленмейера на 100 мл вносили 30 мл стерильной среды Сильвермана и Лундгрена 9К и пробы рудничной воды или руды (10 мл или 10 г соответственно) из месторождений сульфидных руд, затем инкубировали на качалке при температуре 28°С, *Acidiplasma sp*. – при температуре 42°С в течение14 суток до появления роста. О развитии бактерий судили по появлению бурой окраски среды, вызванной образованием соединений трехвалентного железа.

**Выделение чистой культуры.** Чистую культуру выделяли, используя твердую агаризованную среду 9К, приготовленного следующим образом: смешивали соляную кислоту (х.ч.) (плотность 1,1) и растворимое стекло (кремневый натрий) (удельный вес 1,1) в соотношении 1:1. Плотную массу пропитывали средой 9К с железом [192]. На плотных средах появляются мелкие, колонии рыжевато – коричневого цвета.

Из колоний, выросших на твердой среде, проводят отсев в небольшие объемы (4,0-6,0 мл) жидкой питательной среды с Fe2+или в колбочки с сульфидными минералами. Затем проверяли чистоту культуры (рис. 2.3).



Рисунок 2.3. Рост *Acid.ferrooxidans* на гельевой пластинке пропитанной средой Сильвермана и Лундгрена (9К)

*Примечание:* Структура колоний однородная, плотной консистенции. Колонии окрашены в оранжевый цвет, под микроскопом заметны рыжие вкрапления за счет окислов железа.

Для выделения чистой культуры *Acid.ferrooxidans* также использовали метод разведений. Из накопительной культуры, в которой по данным анализов имеется, например, 107-108 клеток *Acid.ferrooxidans* брали 1,0 мл раствора и разбавляли в 10, 100 …1 млн. и 10 млн. раз. Можно ожидать, что в последние разведения попадут единичные клетки бактерий. Из последних разведений делали предпочтительно рассевы на среду 9К с соответствующими источниками энергии (Fe2+, сульфидные минералы).

Поскольку основной целью работы было получение активных ассоциативных культур для интенсификации процесса выщелачивания благородных металлов из упорных руд указанных месторождений, то список ацидофильных бактерий, играющих важную роль в разрушении минералов, был расширен.

Для учета культуры *Acidithiobacillus ferrooxidans* использовали среду Сильвермана и Лундгрена 9К состава (г/л): (NH4)2SO4 – 3,0; КН2РО4 – 0,5; MgSO4·7H2O – 0,5; КCl – 0,1; Fe2SO4·7H2O – 25,0; Са(NО3)2 – следы; рН - 2,5 [8].

Для определения численности *A.thiоoxidans* в жидкую питательную среду Ваксмана с серой засевали исследуемый раствор. Инкубацию проводили в термостате при 28-300С в течение 3-5 суток. Учет численности бактерий вели по появлению неисчезающей мути и оседанию серы, по образованию пленки серы, подкислению среды и другим специфическим признакам. Состав среды Ваксмана (г/л): (NH4)2SO4–3,0; КН2РО4–3,0; MgSO4·7H2O–0,5; CaCl2·6H2O–0,25; Fe2SO4·7H2O–3,0; серный цвет (Sº) – 10; H2O – 1,0 дм3, рН - 4,0 [9].

*Sulfolobus* учитывали на минерально-солевой среде состава (г/л): (NH4)2SO4 – 1,3; КН2РО4– 0,28; MgSO4·7H2O– 0,25; CaCl2·2H2O– 0,07; FeСl2·6H2O–0,02; H2O–1,0дм3, рН 1,6; продолжительность культивирования – 12 суток при температуре 30°С [10].

*Leptospirillum* учитывали на минерально – солевой среде состава (г/л): (NH4)2SO4 – 3,5; К2НРО4 – 0,058; MgSO4·7H2O – 0,058; КCl – 0,116; Са(NО3)2 – 0,00168; H2O – 1,0 л, рН – 1,6; продолжительность культивирования – 12 суток при температуре 30°С [11].

Подсчет *Acidiplasma sp*. проводили в соответствии со специфическими условиями роста культуры на среде. Оптимальная температура для роста была выбрана между 35 и 42°С и рН от 1,0 до 1,7. *Acidiplasma sp*. описывается в литературе как строго аэробные и автотрофные микроорганизмы, способные к росту на Fe2+ и Mn2+с добавлением небольшого количества органического углерода в качестве фактора роста. Все эксперименты роста были выполнены в минерально-солевой среде, содержащий микроэлементы, а также 20 г/л FeSO4·7H2O и 0,02% (вес/объем) дрожжевого экстракта [12].

**2.2.2 Физико-химические методы исследования**

**Измельчение руд.** Пробы руды измельчали в шаровой мельнице. Уменьшение размеров частиц рудного тела достигалось путём механического воздействия в барабанной мельнице из серии VBM со стальными шарами, которые наполовину заполняли мельницу и перекатывались в барабане при его вращении вокруг продольной оси (рис. 2.4). Крупность частиц руды после помола на мельницах мельниц конролировали на классификаторе (рис. 2.5).

|  |  |
| --- | --- |
| Рисунок 2.4. Лабораторная шаровая мельница серии VBM-14 | Рисунок 2.5. Лабораторный классификатор центробежный КЦЕ-3 |

Измельчение руды до размеров гранул 0,074 мм и 0,2 мм проводили в соответствии со схемами, изображенными на рисунке 2.6.



**Дробленый продукт крупностью *0,2 мм***

**Дробленый продукт крупностью *0,074 мм***

**Ситевой анализ по крупностью**

**Дробление руды**

**Исходная руда**

Рисунок 2.6. Схема дробления и измельчения золотоносной руды месторождения Большевик (а - до размера гранул 0,074 мм, б – до размера - 0,2 мм)

Для определения оптимальной крупности гранул руды использовали классы 0,074 мм и 0,2 мм. Для остальных экспериментов использовали класс крупности 0,074 мм – 80% (рис. 2.6).

**Химический состав руды, растворов и кеков** после выщелачивания определяли в испытательной химико-технологической лаборатории ионообменных материалов ТОО «КАЗАТОМПРОМ-СОРБЕНТ». Пробы руды предварительно разлагали в микроволновом, пробоподготовщике Miles tone Ethoz EZ с использованием концентрированных соляной и азотной кислот при 300°С и 1500 Вт. Разложенные пробы анализировали на содержание элементов в аппарате ICP-OES Perkin Elmer Optima 8000. Использовали стандарты: 1, 10, 20, 50, 100, 250, 500, 1000. Использовались следующие параметры: спектральное профилирование, мощность радиочастотного генератора – 1300 Вт. Охлаждающий поток 0,80 л/мин.

**Определение железоокислительной способности Fe2+ и Fe3+ в среде.** Способность бактерий окислять Fe2+ определяли по изменению в среде количества Fe2+ и Fe3+. Количество Fe2+ и Fe3+ определяли комплексонометрическим методом [205], с использованием в качестве титранта ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевая соль). Метод основан на реакции образования комплексных соединении ионов металлов с органическими соединениями.

рН и окислительно-восстановительный потенциал среды измеряли на рН- метре ЭВ-74.

**ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

**3.1 Эколого-геохимическая характеристика руд и микробоценозы золотоносного месторождения Риддер-Сокольное**

Как известно химический состав – это совокупность компонентов, из которых состоит вещество (или смесь веществ). Изучения закономерности распределения элементов рудных и сопутствующих элементов месторождения Риддер-Сокольное впервые показала, что они проходят по девяти сечениям.

Руды месторождения «Риддер-Сокольного» относятся к комплексным золотосодержащим. Имеются гравитационный и флотационный золотосодержащие концентраты, медный, цинковый и свинцовый концентраты. Кроме основного компонента золота, практическое значение имеет медь, содержание которого связано с распределением золота корреляционной зависимостью, тенденция такова, что доля основного металла в руде уменьшается с понижением глубины отработки рудной залежей месторождения.

Рисунок 3.5. Качественный и количественный химический состав руд месторождения Риддер-Сокольное

В процессе изучения их химического состава были установлены, что максимумы содержаний основных рудных элементов – золото составляет около 33,0 г/т. Из числа полиметаллических руд преобладает цинк, их количество доходит до 110,0 г/т. Среднее содержание мышьяка составляет около 240,0 г/т. В составе руды месторождения Риддер-Сокольное в большом количестве содержатся медь (рис. 3.1). Его количество достигает до 700 г/т. Его расположение в месторождениях разделены в пространстве жилы. Из числа косвенных химических элементов содержание составляет (г/т): Ag - 13,0, Hg - 0,06, Bi - 14,0, Mo - 7,0, W - 5,0.

Нами были изучены химический состав руд добываемые из шахты 38, жила 8 и шахта 39, горизонт 130 м месторождения Риддер-Сокольное [13].

В таблицах 3.1 и 3.2 приведены характеристика и химический состав руд золотоносного месторождения Риддер-Сокольное.

Таблица 3.1 - Химический состав золотоносных руд месторождения Риддер-Сокольное

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Компоненты | Массовая доля, в % | Содержание, г/т | Компоненты | Массовая доля, в % | Содержание, г/т |
| Шахта 38 | Шахта 39 | Шахта 38 | Шахта 39 |
| 1 | 2 | 3 |  | 5 | 6 |
| SiO2 | 55,5 | 60,8 | As | - | - |
| Al2О3 | 14,6 | 11,7 | Fe | 5,6 | 5,0 |
| CaO | 4,7 | 4,1 | Sb | - | - |
| MgO | 1,5 | 1,2 | Sобщ | 2,9 | 2,4 |
| Cu | - | - | Au | 9,7 | 11,4 |
| Zn | 0,23 | 0,08 | Ag | 1,2 | 6,2 |
| Pb | - | - | Плотность руды, г/м | 2,717 | 2,724 |

Как видно из таблицы 3.1, из числа компонентов кремний встречается в виде окиси кремния SiO2, их количество в рудах из обоих шахт приблизительно одинаково - 55,5% и 60,8% соответственно. Алюминий в рудах находится в виде оксида алюминия (Al2O3), т.е. как минерал называется корунд, в количестве 14,6% в рудах из шахты 38 и 4,1 г/т окиси алюминия в составе руды из шахты 39.

В составе руд шахт 38 и 39 макроэлементы, такие как кальций, магний, медь, цинк, свинец, железа, мышьяк, сурьма, сера элементарная находятся в количестве от 0,08 г/т до 5,6%.

Количество золота в составе руды из шахты 38 составляет 9,7%, тогда как в рудах шахты 39 составляет 11,4 г/т.

При переработке и обогащении золоторудных месторождений большинство предприятий использует для дробильных переделов конусные и щековые дробилки, а для измельчения – стержневые и шаровые мельницы. Дробилки менее металлоемки, дешевле и проще в эксплуатации, чем мельницы. В традиционном оборудовании, предназначенном для дробления и измельчения происходит сокращение крупности кусковых руд. При обогащении основная, задача рудоподготовки заключается в раскрытии полезных компонентов. На стадии дробления процесс раскрытия относительно крупных мономинеральных форм происходит более заметно при использовании способов ударного дробления. Однако при интенсивных физических воздействиях особенно на стадии измельчения происходит их переизмельчение, что влечет за собой трудности в извлечении полезных компонентов при обогащении. Чтобы избежать переизмельчения раскрытого полезного компонента иногда возникает необходимость вывода его на обогащение до измельчения. Проводили исследования по распределению золота по классам крупности руды месторождения Риддер-Сокольное (таблица 3.2).

Таблица 3.2 - Распределение золота по классам крупности руды золото-мышьяковистого месторождения Риддер-Сокольное

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Классы крупности мм | Выход, % | Свободное золото | | Общее золото | |
| Содержа-  ние, г/т | Распреде-  ление, % | Содержа-  ние, г/т | Распреде-ление, % |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| + 0,21 | 0,11 | 372,7 | 4,8 | 461,3 | 3,3 |
| -0,21+0,15 | 0,82 | 174,4 | 16,9 | 176,4 | 8,7 |
| -0,15+0,1 | 6,59 | 11,8 | 9,4 | 13,0 | 11,7 |
| -0,1+0,07 | 10,56 | 7,7 | 9,8 | 9,8 | 14,2 |
| -0,07+0,04 | 38,77 | 18,8 | 33,9 | 20,8 | 51,2 |
| -0,04 | 43,15 | 0,53 | 2,8 | 1,83 | 10,9 |
| Итого | 100,0 | 6,43 | 77,6 | 8,28 | 100,0 |

Как видно из таблицы 3.2, руда месторождения Риддер-Сокольное распределена по крупности от +0,21 до -0,7 мм, выход которых составляет от 0,11% до 43% соответственно.

Как заметим из таблицы 3.2, с уменьшением класса крупности руды, увеличивается выход золота в процентах. При этом количество свободного золота в руде с увеличением их класса крупности (мм) увеличивается содержание золота (г/т) и распределяется неоднородно. Например, три класса крупности руды +0,21 мм распределение составляет 4,8%, тогда как при уменьшение крупности -0,07+0,04 распределение свободного золота увеличивается до 33,9%. Аналогичную картину наблюдаем содержания (г/т) и распределения (%) общего золота в руде месторождения Риддер-Сокольное.

**3.1.1 Вещественный состав золотоносных руд месторождения Риддер-Сокольное**

Вещественный состав руд верхних горизонтов Риддер-Сокольного месторождения изучался [14] и многими другими исследователями. Залежи Быструшинская, Южный фланг Быструшинской, Победа, III- Юго-Западная на глубоких горизонтах (14, 15, 16, 17 горизонты) сложены богатым золото-сульфидно-кварцево-жильным оруденением, связанным с поздним этапом, наложенным на основной полиметаллический. Руды, слагающие залежи глубоких горизонтов Риддер-Сокольного месторождения относятся к одному технологическому сорту - золотосодержащему сульфидно-жильному (сульфидно-кварц-серицитовые, сульфидно-кварцевые, сульфидно-кварц-карбонатные жилы).

Выделения сульфидов во всех минеральных подтипах руд в основном создают вкрапленные и гнездово-вкрапленные текстуры, редко встречаются брекчиевые, полосчатые текстуры. В медно-колчеданных и существенно медных рудах это вкрапленность пирита и халькопирита в свободном виде и в срастании друг с другом в кварце, карбонате, сериците, хлорите (0,01-0,4 мм до 1,0-2,0 мм). Гнезда пирит-халькопиритовые и существенно халькопиритовые до 1,0⋅1,5см. В колчеданно-медно-цинковых рудах гнезда клейофана и халькопирита размером до 1,0 см; гнезда халькопирит-сфалеритовые до 2,0-2,5 см. Как правило, между гнезд развивается тонко-мелкозернистая вкрапленность сульфидов - 0,01 до 0,5 мм (пирит, халькопирит, сфалерит, галенит) в кварце, сериците, карбонате [15].

В колчеданно-полиметаллических рудах в основном, гнезда клейофана размером до 1,0 см и вкрапленность сульфидов - 0,01-0,5 мм (пирит, халькопирит, галенит) в кварце, карбонате, сериците, в свободном виде и в срастании друг с другом. Отмечаются гнезда халькопирит-галенит-сфалеритового и галенит-сфалеритового состава размером до 5,0-6,0 мм. В свинцово-цинковых рудах, гнезда пирит-сфалерит-галенитового состава (до 1,0 см); существенно галенитовые до 5,0 мм. Присутствует мелкая вкрапленность галенита и сфалерита в жильном материале (0,02-0,3 мм). Редко встречающаяся полосчатая текстура создается чередованием существенно, кварцевых, полосовидных обособлений с вкрапленностью сульфидов с полосовидными обособлениями клейофана мощностью 3,0-4,0 мм и густой вкрапленностью сульфидов в виде полосок преимущественно в карбонате. Брекчиевая текстура формируется цементированием тонко - мелкозернистой сульфидно-карбонатной массой (пирит, халькопирит, сфалерит) крупных гнезд клейофана и пирит-халькопиритовых агрегатов, встречаются обломки алевропелита. Присутствуют также сплошные прожилки в жильном материале - свинцово-цинковые, существенно свинцовые и существенно цинковые. Для вкрапленных и гнездово-вкрапленных руд в большей степени характерны аллотриоморфнозернистые и гипидиоморфнозернистые структуры. Аллотриоморфнозернистая структура присуща всем подтипам руд [16]. Она характеризуется страстанием зерен неправильной формы сфалерита, халькопирита, галенита, блеклой руды. Она типична и для внутреннего строения этих минералов. Гипидиоморфнозернистая структура также свойственна всем подтипам руд. Она обусловлена идиоморфизмом пирита по отношению к сфалериту, халькопириту и галениту. Петельчатая и интерстициальная структуры образуются при выделении поздних сульфидов между зернами более ранних, а также нерудных минералов. В медноколчеданных рудах халькопирит, развивается между зерен пирита. В колчеданно-медно-цинковых и колчеданно-полиметаллических рудах галенит, сфалерит и блеклая, выделяются в промежутках зерен пирита; халькопирит и галенит выполняет межзерновые пространства в клейофане.

Золото в данной ассоциации было обнаружено с пиритом в кварц-хлоритовой жиле с редкой вкрапленностью халькопирита и сфалерита. В одном случае золото (0,01 мм) в пиритовой «рубашке» находится среди тонкодисперсного пиритового прожилка, в другом мелкое зерно золота (0,007⋅0,01 мм) вместе с тонкодисперсным пиритом и рутилом образует прожилок. Среди тонкозернистого пирита отмечаются реликты глобулярного пирита. Золото-халькопирит-кварц-серицитовая ассоциация отчетливо проявлена в Быструшинской залежи. Она формирует вкрапленные, гнездово- вкрапленные существенно медные кварц-серицитовые жилы. Золото заключено в халькопиритовых гнездах в виде точечных включений (0,003-0,01 мм), иногда в срастании с галенитом; вместе со сфалеритом и галенитом цементирует зерна пирита в крупных халькопиритовых образованиях; находится в срастании с зернами пирита в атолловидных выделениях пирита, заключенных в халькопирите. Золото также образует сростки с халькопиритом и более поздними сфалеритом и галенитом, в массе кварца и серицита (0,01-0,09 мм) и в свободном виде в массе кварца и серицита (до 20-30 зерен размером 0,01-0,1 мм) [19].

Отмечаются крупные выделения золота (до 0,5 мм) в срастании халькопиритом, галенитом и сфалеритом в кварц-7 серицитовой массе. В таких крупных выделениях, золота иногда наблюдаются мелкие включения халькопирита. Золото - сфалерит – тетраэдрит – халькопирит - кварцевая ассоциация принимает участие в формировании вкрапленных и гнездово- вкрапленных колчеданно-медно-цинково-жильных и колчеданно полиметаллически-жильных руд. В основном в виде тонких включений золото заключено во всех сульфидах ассоциации и кварце (0,001-0,01 мм), отмечаются и более крупные (0,04-0,06 до 0,03⋅0,9 мм). Золото также встречается в гнездах халькопирита и клейофана в срастании с другими сульфидами. Так в гнездах клейофана можно видеть прожилки золото-халькопирит-галенитового; золото-галенитового, золото-халькопирит-блеклорудного состава (0,01⋅0,3 мм; 0,02⋅0,5; 0,07⋅0,1 мм; 0,04⋅0,3 мм). В халькопиритовых гнездах золото встречается в срастании со сфалеритом; со сфалеритом и галенитом (0,01⋅0,02 до 0,05⋅0,08 мм); нередко золото в срастании со сфалеритом и галенитом цементирует зерна пирита; развивается с внутренней и внешней стороны атолловидного пирита, иногда в срастании со сфалеритом, галенитом и блеклой. В кварце золото встречается в свободном виде среди сульфидов и на удалении от них и в срастании с сульфидами.

Основная часть золота в свободном виде имеет размер 0,007 до 0,02 мм, редко до 0,05⋅0,1 мм. С данной ассоциацией выделилась сурьмяная свинцово-медная сульфосоль бурнонит и висмутовый сульфид свинца-бурсаит, который содержит сурьму в качестве примеси. Блеклая руда данной ассоциации также сурьмяная. 1) золото особенно часто в них находится в срастании с галенитом; 2) отсутствие золота (кроме Южного фланга Быструшинской залежи) в галените. Все это служит явным доказательством их 8 совместного выделения. Теллуриды серебра и висмута и сульфотеллуриды висмута отлагались близкоодновременно с галенитом и золотом или несколько позже. Их взаимоотношения указывают на последнее возможно имеет место самостоятельная поздняя золото-теллуридная ассоциация, разобщенная в пространстве. Минералы теллура присутствуют в существенно медно-жильных, колчеданно-медно-цинковых, полиметаллических рудах, в кварц-серицитовой массе с золотом и сульфидами [20].

Форма выделений золота самая разнообразная- прожилковидная, овальная, изометричная, крючковатая, но чаще всего неправильная. По классификации [22] золото в рудах тонкодисперсное и видимое. Наиболее распространены тонкодисперсные и пылевидные (0,001-0,005 мм и 0,05-0,1 мм) включения и скопления золота, реже встречаются очень мелкие и мелкие (0,1-0,8 мм) и редко средней крупности (1,0-2,0 мм). Следует отметить, что золото, связанное с сульфидами, особенно находящееся в срастании с ними в жильном материале, в подавляющем девять большинстве более крупное, чем золото свободное в кварце. Преобладающий размер золотин в сульфидах 0,01-0,05 мм. Золото свободное в кварце в основном 0,007-0,02 мм. Обычно свободное золото в кварце образует неравномерную, участками густую тонкодисперсную вкрапленность (0,001- 0,01 мм), среди которой выделяются два-три зерна, имеющие размер 0,02-0,05 мм, редко больше. Для Южного фланга Быструшинской и III-Юго - Западной залежей установлено, что большая часть золота находится в свободном виде в кварце в виде тонкодисперсной вкрапленности. В отдельных аншлифах насчитывается до ста и больше тонких включений золота в кварце. Наличие в главных сульфидах и кварце частиц золота размером 1,0- 10,0 μm свидетельствует о присутствии ультрамикронных включений золота размером менее 0,1 *μm*. Рядом исследователей [23] такое золото установлено и отнесено к коллоидному. По образцам, представленным [24], проведены термобаро-геохимические исследования руд глубоких горизонтов методом гомогенизации газово-жидких включений в минералах. В кварце из золотоносных существенно кварцевых жил обнаружено множество двухфазных газово-жидких включений размером от 2,0 до 28,0 мкм, с объемом газового пузырька от 10,0 до 35,0% видимой площади включения. Гомогенизация всех типов микровключений произошла только в жидкую фазу, в двух температурных интервалах 215-425○С и 105-150○С. Первый интервал температур соответствует для продуктивной стадии рудообразования. Следует отметить, что не были обнаружены микровключения ни с «минералом-узником», ни с жидкой углекислотой. Следовательно, золотоносные существенно - кварцевые жилы начали кристаллизоваться из жидких гидротермальных растворов при температуре 425○С. 10 По данным [25] рудообразование на І и ІІ горизонтах происходило на небольших глубинах в обстановке средних и низких температур, в интервале от 410○С до 120○С и холодноводных условиях. Полученные новые данные термобарогеохимических исследований показывают, что минералообразование и на глубоких горизонтах Риддер- Сокольного месторождения происходило в близком температурном интервале 425○С до 110○С. Гомогенизация всех типов микровключений в жидкую фазу указывает на гидротермальный характер минералообразования. Размеры микровключений в кварце являются рядовыми (от нескольких до 20-30 мкм). Следовательно, при кристаллизации минералов рудолокализующие и рудообразующие гидротермальные системы находились в равновесных термодинамических условиях.

**3.1.2 Микробоценозы азотфиксирующих бактерий золотоносного месторождения Риддер-Сокольное**

Здесь представлен материал биоразнообразия азотфиксирующих бактерий золото-мышьяковистого месторождения Риддер-Сокольное. В шахтных водах выбранных горизонтов было исследовано распределение аммонифицирующих бактерий. Для проведения микробиологического исследований выбрали девять горизонтов золотомышьяковистого месторождения Риддер-Сокольное, это: горизонт-10, горизонт-50, горизонт- 90, горизонт-130, горизонт-170, горизонт-210, горизонт-250, горизонт-290, горизонт-330.

Известно, что аммонификаторы - это физиологическая группа бактерий**,** использующих белки и аминокислоты в качестве энергетических субстратов, что сопровождается выделением в среду аммиака. Среди аммонификаторов встречаются как, спорообразующие формы *(Bacillus),* так и микроорганизмы, не образующие спор *(Pseudomonas, Micrococcus, Arthrobacter, Mycobacterium, Proteus).* Процесс биовыщелачивания нуждается в интенсификации, в том числе за счет поиска наиболее эффективных микроорганизмов и повышения активности уже применяемых культур. В этой связи особую важность приобретает селекция наиболее активных смешанных культур и одиночных штаммов, адаптированных к условиям протекания бактериально-химического выщелачивания.

Наибольшее количество аммонифицирующих бактерий было отмечено в пробах песчаника верхней алевролито-песчаниковой толщи (3). Вкремнистых образованиях (6) и в углисто-глинистого аргиллита (9) и составляло 106 КОЕ/г. В терригенно-осадочных породах (1) и рудах из горизонта кызыловской зоны смятия (4) количество аммонификаторов доходило до 105 кл/г. В остальных исследуемых пробах их численность варьировала в интервале 103 и 104 кл/г.

Данные физико-химических характеристик указывают, что на участках, достаточно широко представленных в районе Риддер-Сокольного месторождения рудопроявлений и зон рассеянной золото-сульфидной минерализации, трещинные воды за счет растворения окисляющихся сульфидов обогащаются сульфатами, подвижными формами мышьяка, железа, марганца, а также незначительными количествами меди, свинца, цинка, кадмия и других микроэлементов. Минерализация трещинных вод может возрасти до 0,7-1,0 г/дм3 с переходом типа воды до сульфатно - натриевого по ионному составу.

Рисунок 3.5. Численность аммонифицирующих бактерий в шахтных водах различных горизонтах, месторождения Риддер-Сокольное

В связи с малым количеством сульфидов в водовмещающих породах и ограниченностью участков развития зон рудной минерализации, в сравнении с общей площадью распространения водоносного горизонта, качество трещинных вод участка остается высоким.

Численность аммонифицирующих бактерий колебалась в пределах 101 – 104 кл/мл (рис. 3.5). Наименьшая численность бактерий была отмечена в шахтной воде горизонтов 50 и 290, где вода имеет слабокислую (рН 5,8) среду. На этом горизонте трещинные воды Риддер-Сокольного рудника относятся к грунтовым водам зоны выщелачивания. Гидрохимические условия в водоносном горизонте определяются естественными природными факторами – содержанием водорастворимых солей в водовмещающих породах (химико-минералогическим составом), их проницаемостью и скоростью фильтрации подземных вод [144].

Ионно-солевой состав шахтных вод горизонтов 90, 330 месторождения Риддер-Сокольное формируется за счет процессов растворения и выщелачивания минеральной массы, горных пород (продуктов гидролитического разложения силикатов, окисления сульфидов и углекислотного выветривания карбонатов). Вследствие интенсивного водообмена в водоносном горизонте формируются пресные маломинерализованные воды, гидрокарбонатные кальциево-натриевые по ионному составу, нейтральные или слабощелочные по величине рН с сухим остатком 0,2-0,4 г/дм3. Количество клеток аммонифицирующих бактерий в такой водной среде доходит до 104 кл/мл. В воде остальных горизонтов количество аммонификаторов колебалось в пределах 102-103 кл/мл. В период обследования воды имели преимущественно нейтральную и слабощелочную реакцию (рН 7,5-8,2).

Считали необходимым изучить качественного и количественного состава нитрифицирующих бактерий, участвующих в процессах первой фазы нитрификации в шахтных водах горизонтов золото-мышьяковистого месторождения Риддер-Сокольное.

Как известно, нитрификаторы первой фазы осуществляют окисление аммония до азотистой кислоты (NH4+ → N02−).

Культуры бактерий для выделения высевали на жидкую питательную среду Виноградского. После пяти сутоки инкубации в термостате при 28оС наблюдали роста клеток бактерии первой фазы нитрификации, которые после нескольких этапов процедуры определения до видов были представлены четырьмя родами: *Nitrosomonas, Nitrosocystis, Nitrosolobus и Nitrosospira*. Из них наиболее был изучен вид *Nitrosomonas euroраеа*, хотя получение чистых культур этих микроорганизмов, как и других нитрифицирующих хемоавтотрофов, до сих пор остается достаточно сложным. В процессе развития культур в жидкой среде Виноградского наблюдаются подвижные формы.

Рисунок 3.6. Численность нитрифицирующих бактерий I-ой фазы в рудном теле месторождения Риддер-Сокольное

Как наблюдаем из рисунка 3.6, максимальное количество *Nitrosomonas euroраеа* наблюдается в пробах отобранные из горизонтов 130 и 250. Их максимальное количество составляет 106 кл/г. В других изученных пробах количество клетки *Nitrosomonas euroраеа* варьировало в пределах 102-104 кл/г.

Таким образом, численность бактериальной клетки *Nitrosomonas euroраеа* варьировала в пределах 102-107 кл/г.

Возбудители второй фазы - нитратные бактерии - окисляют соли азотистой кислоты в соли азотной кислоты (нитраты). Процесс нитрификации представляет собой яркий пример метабиоза, когда одни микроорганизмы начинают развиваться после других на продуктах жизнедеятельности первых.

Рисунок 3.7. Численность нитрифицирующих бактерий второй фазы, в рудном теле месторождения Риддер-Сокольное

Максимальное количество (105 кл/г) нитрификаторов II фазы отмечалось в пробах, отобранных из горизовтов № 90, 130, 210, 250 (рис. 3.7). Вместе с тем, замечаем, что в других горизонтах бактериальные клетки нитрифицирующих бактерий второй фазы встречается, с наименьшем степенем показателей, к.е. составляет 103 - 104 кл/г, соответственно с горизионтов № 10, 50, 90, 210, 290, 330.

**Нами были изучены биоразнообразия накопительных культур денитрифицирующих бактерий.** Для этого, в питательную среду Виноградского добавляли следов пептона и этанола или пропионовой кислоты, чтобы способствовал росту клетки бактерий Pseudomonas aeruginosa. Также в присутствии в среде Виноградского серы или тиосульфата способствовала росту бактериальной клетки Thiobacillus denitrificans.

Как известно, что денитрификация (восстановление нитрата) - сумма микробиологических процессов восстановления нитратов до нитритов и далее до газообразных оксидов и молекулярного азота. В результате их азот возвращается в атмосферу и становится недоступным большинству организмов. Осуществляется только прокариотами (причём как бактериями, так и археями) в анаэробных условиях и связана с получением ими энергии.

Рисунок 3.8. Численность денитрифицирующих бактерий в рудном теле месторождения Риддер-Сокольное

Нужно отметить, что во всех исследуемых пробах, отобранного из соответствующего горизонта были замечены, денитрифицирующие бактерий. Их максимальное количество были отмечены в пробах руды из горизонтов № 10, 170, 250, 290, которые их количество составляли 105 кл/г. В остальных образцах их количество колебалось в пределах 102 - 104 кл/г (рис. 3.8).

**Изучение азотфиксирующих бактерий** (азотфиксаторы), обладающие способностью усваивать молекулярный азот воздуха и переводить его в доступные для растений формы. Азотфиксаторы играют важную роль в круговороте азота в природе.

Численность азотфиксирующих бактерий (рис. 3.9), обладающих способностью усваивать молекулярный азот воздуха и переводить его в доступные для организма формы, варьировала в пределах 102-107кл/г. Наибольшее их количество отмечено в образцах горизонтов № 10, 50 210, - 106-107 кл/г, наименьшее - в пробе № 290, 330 - 102-103 кл/г соответственно.

Рисунок 3.9. Численность азотфиксирующих бактерий, в рудном теле месторождения Риддер-Сокольное

Таким образом, судя по полученным данным, наиболее интенсивно процессы круговорота азота осуществляются в пробах песчаника верхней, алевролито-песчаниковой толщи, в кремнистых образованиях и углисто-глинистого аргиллита и алевролита с преобладанием процессов образования и утилизации аммиака до молекулярного азота. В последней пробе отмечена активная азотфиксация. Обнаружение основных групп микроорганизмов практически во всех исследуемых образцах говорит об активном участии микроорганизмов в превращениях разнообразных органических веществ в шахтных водах и рудном теле Риддер-Сокольного месторождения.

**3.1.3 Микробоценозы тионовых бактерий золото-мышьяковистого месторождения Риддер-Сокольное**

В процессе окисления сульфидных руд тионовыми бактериями ведущая роль принадлежит *A.ferrooxidans.* Представителю этого вида хемолитотрофных бактерий присуща способность в условиях кислой среды окислять закисное железо в окисное. Вместе с тем, сульфиды в сульфаты и таким образом играют в процессах выщелачивания двойную роль: во-первых, непосредственно окисляют сульфидные минералы (энзиматическое воздействие); во-вторых, окисляют закисное железо. Получаемое трехвалентное железо является лучшим окислителем сульфидных минералов. В благоприятных условиях скорость бактериального окисления железа в 200-500 тысяч раз выше, чем под действием кислот [28].

Выделение тионовых микроорганизмов из рудничных вод месторождений Риддер-Сокольскольного и изучение знание их физиологии позволит расширить применение микробиологических методов выщелачивания и обогащения руд [29].

С целью получения накопительных культур *A.ferrooxidans*, проводили микробиологический посев образцов руд и шахтных вод. В результате микробиологического обследования была отмечена численность *A.ferrooxidans* в образцах вод из горизонтов № 170 (103 кл/мл) и 210, 290 (102 кл/мл) а также рудный материал из карьера - кызыловская зона смятия с песчано-сланцевыми отложениями Риддер-Сокольской свиты и углисто-глинистый аргиллит и алевролит.

По интенсивности окрашивания среды и количеству ионов Fe3+ в среде отбирали наиболее активные культуры бактерии, готовили ряд последующих, разведений для определения титра культуры и дальнейшего изучения свойства культуры. После нескольких пересевов из накопительных культур *A.ferrooxidans* в стерильную среду Сильвермана и Лундгрена 9К культуры были очищены и проверены на активность.

Наиболее активно развивались культуры, выделенные из проб руды. Всего на идентификацию было отобрано 14 культуры бактерии ацидофильных бактерий. За 10 суток культивирования их титр возрастал до 107 кл/мл. Было отмечено, что в процессе пересевов активность окисления Fe2+возрастает, так как происходит адаптация бактерий к искусственным средам.

Исходя из анализа имеющихся гидрохимических материалов, химический состав и качество вод изучаемой площади Риддер-Сокольного золотоносного месторождения характеризуется следующими данными. Сухой остаток трещинных вод изменяется по площади и глубинам опробования составлял 0,2-0,6 г/дм3, жесткость – 2,1-5,3 мг-экв/дм3, рН 6,7-7,9. Химический состав вод гидрокарбонатный и гидрокарбонатно-сульфатный по анионам и кальциевый, кальциево-натриевый по катионам.

Содержание веществ, группы азота (NO2, NO3, NH4) намного ниже нормативных уровней, перманганатная окисляемость по О2 низкая, концентрация железа не превышает 0,25 мг/дм3. Микроэлементы Cu, Pb, Zn, As, F и др. содержатся в количествах намного меньше допустимых пределов.

Рисунок 3.10. Численность бактерий *A. ferrooxidans* в шахтных водах

Тионовые бактерии *A.ferrooxidans* встречались в основном в воде, имеющую слабо-кислую реакцию среды (рН 5,0–5,5). Наибольшее количество *A.ferrooxidans* было отмечено в пробах шахтной воды горизонта 170, численность варьировала в пределах 10-103 кл/мл воды, а также в рудничных водах горизонтов 210 и 290 с численностью до 102 кл/ мл воды (рис. 3.10).

В водах горизонтов 90 и 330 тионовые бактерий не обнаружены, что видимо, связано с нейтральной реакцией шахтных вод и непродолжительным контактом руд с кислородом воздуха.

Была попытка выделить бактерии *T.thiooxidans* из шахтных вод различного горизонта золотоносного месторождения Риддер-Сокольное. Выделенные культуры оказались аэробами и развиваются только в сильнокислой среде при pH ниже 4,0, причем *T.thiooxidans* интенсивно окисляет серу до серной кислоты и играет большую роль в окислении минеральной серы. Распространение бактерий *Т.thiooxidans* в природе зависит от наличия восстановленных соединений серы, используемых этими бактериями для хемоавтотрофного роста. Основная масса серы в природе связана с металлами в сульфатной и сульфидной форме, часть ее находится в виде самородных месторождений. Как известно, бактерий этой группы способны осуществлять процессы, приводящие к разрушению или образованию месторождений полезных ископаемых, минералов и горных пород, а также к миграции отдельных элементов. Изучение этих процессов важно для теоретических представлений о круговороте элементов, а также для добычи полезных ископаемых.

При обследовании стоячих вод и капежей месторождения *T.thiooxidans* были обнаружены в пробах воды, имеющих слабокислую реакцию (рН 5,0-5,5), численность достигала 10-102 кл/мл (рис. 3.11). Было установлено, что температура рудного тела с увеличением глубины горизонта снижается c 12 до 6,5оС, рН колеблется в пределах 5,5-7,5.

Таким образом, обнаружение тионовых бактерий в шахтных водах на различных горизонтах и характеристика экологических условий их жизнедеятельности дают основание считать, что на месторождении Риддер-Сокольное они выступают в качестве окислителей рудных минералов.

Анализируя данные о численности и характере распределения хемолитоавтотрофных бактерий *A.ferrooxidans* и *T.thiooxidans* – основных показателей степени окислительно-востановительных процессов, необходимо отметить, что они встречались в шахтных водах редко и в незначительных количествах. С глубиной горизонта количество находок *A.ferrooxidans* значительно уменьшалось, распределение же *T.thiooxidans* определялось наличием серы в нижних горизонтах шахтных вод. Ареалы распространения тионовых бактерий характеризуются слабокислой реакцией среды.

Рисунок 3.11. Численность бактерий *Т.thiooxidans* в шахтных водах

Распространение тионовых бактерий в рудном теле отмечалось во всех исследуемых нами породах. Численность *A.ferrooxidans* (рис. 3.10) колебалась в пределах 10-103 кл/г руды. Наибольшее количество бактерий было приурочено к осадочным и углисто-глинистым породам. Численность *T.thiooxidans* (рис. 3.8) была выше – 102-103 кл/г руды.

Вскрышная глинистая порода, серые песчаники, пепловые туфы и кремнистые образования содержали наибольшее количество этих бактерий (рис. 3.11). Образцы пород с находками тионовых бактерий имели слабокислую реакцию.

Таким образом, распространение тионовых бактерий в отдельных породах рудного тела свидетельствует о процессах бактериального окисления серы и других рудных элементов. Если сравнить эти данные с расположением рудного тела и золото вмещающих минералов по горизонтам, представленным на рисунках 1-3, то можно отметить, что бактериальные окислительные процессы идут как в верхних, так и в нижних горизонтах. Это, в свою очередь, подтверждает присутствие достаточного количества влаги и кислорода в исследованных породах, а также их способность адсорбировать бактериальные клетки.

Заключительным этапом исследования является разработка микробиологического способа вскрытия хвостов, которые выражаются в высоких технологических показателях извлечения золота. Анализ литературных данных позволил установить, что микробиологические процессы, протекающие как в рудных телах, так и в шахтных водах месторождения Риддер-Сокольное остаются малоизученными. Проведенные ранее микробиологические обследования месторождения носили преимущественно эпизодический характер, без учета динамики развития бактериальных окислительных процессов. Это послужило основанием для проведения на Риддер-Сокольском месторождении ряда микробиологических обследований, позволивших не только уточнить направление протекающих здесь процессов, но и сравнить изменение состава микрофлоры по мере вскрытия рудного тела горными работами.

В целях выяснения роли микроорганизмов в естественных окислительных процессах микробиологическое обследование различных проб вод и руд Риддер-Сокольного месторождения проводили на различных горизонтах вскрытия и в разнообразных типах пород составляющих рудные тела. Выбор горизонтов и типов пород определялся физико-химическими, климатическими факторами, а также природными ассоциациями минералов, определяющими среду обитания микроорганизмов.

1. Микробиологическое обследование касалось распределения и численности микроорганизмов, участвующих в круговороте азота, окисления железа и серы, а также обычных сапрофитных бактерий. Установлено, что численность аммонифицирующих бактерий в шахтных водах варьировала в пределах 101–104 кл/мл, *A. ferrooxidans* и *Th. Thiooxidans* - 10-103 кл/мл, сапрофитных бактерий - 102-107 кл/мл. Ареалы распространения бактерий определялись рН воды. Тионовые бактерии были распространены в слабокислой воде (рН 5,0), сапрофитные – в нейтральной и слабощелочной воде.

2. Численность аммонифицирующих бактерий в рудном теле варьировала в интервале 103-106 КОЕ/г, нитрификаторов 1-й фазы – 102-106 КОЕ/г, нитрификаторов 2-й фазы – 103-105 КОЕ/г, денитрификаторов - 102-105 КОЕ/г, азотфиксирующих и сапрофитных бактерий - 102-107 КОЕ/г, *A.ferrooxidans* и *Th.thiooxidans* - 10-103кл/г руды. Ареалы микроорганизмов, участвующих в круговороте азота определялись песчаниками верхней алевролито-песчаниковой толщи, кремнистыми образованиями и углисто-глинистым аргиллитом. Наибольшее количество *A.ferrooxidans* было приурочено к осадочным и углисто-глинистым породам. Вскрышная глинистая порода, серые песчаники, пепловые туфы и кремнистые образования содержали наибольшее количество *А.thiooxidans.* Образцы пород с находками тионовых бактерий имели слабокислую реакцию.

3. Из образцов шахтных вод и пород рудного тела с повышенным количеством тионовых бактерий были получены накопительные культуры, из которых выделено чистые культуры тионовых бактерий.

4. Предварительная идентификация выделенных бактерий по способности окислять закисное железо и соединения серы, а также аэробному автотрофному метаболизму позволила отнести их к виду *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

5. Все выделенные на месторождении Риддер-Сокольное культуры бактерии ацидофильных бактерий можно отнести к мезофиллам, о чем свидетельствует отсутствие интенсивного роста при повышенных температурах. Оптимальные условия развития – 28-30 ºС, рН 1,5-2,0.

**3.2 Изучение сравнительной оценки влияния антропогенных факторов на структуру и динамику численности микробоценозов месторождений Риддер-Сокольное**

Микробиологические исследования золоторудных месторождений Казахстана были проведены в 70-80-х годах прошлого столетия казахстанскими микробиологами с целью оценки геохимической деятельности ряда групп микроорганизмов в различных процессах и их влияния на экологию прилегающих к месторождениям районов. Исследования Камалова М.Р. и Стуканова В.А. касались в основном поиска экстремальных ацидофилов вида *Aсidithiobacillus ferrooxidans.* Авторами было установлено присутствие бактерий указанного вида на различных месторождениях Казахстана [24, 25, 26]. Абдрашитова С.А. проводила обследования золоторудных месторождений с целью обнаружения как ацидофилов, так и гетеротрофных микроорганизмов.

При обследовании Акбакайского месторождения ею было установлено, что численность тионовых бактерий - основных показателей степени окислительно-восстановительных невелика. Содержание *A.thioparus* и *A.denitrificans* в рудничных водах колебалось от 10,0 до 100,0 кл/см3, в рудах – до 10,0 кл/г, причем, бактерии *A. thioparus* встречались лишь в рудных водах. Тиобациллы *A. Thiooxidans* были обнаружены только в одной пробе шахтной воды на верхнем горизонте месторождения. Бактерии вида *A.ferrooxidans* – основные окислители сульфидных руд – не обнаружены, что, видимо, связано с нейтральной реакцией вод и непродолжительным контактом руд с кислородом воздуха.

Наиболее широко в месторождении представлена группа сапрофитов. В шахтных водах число микроорганизмов варьируется от 3,8 до 108,4 тыс. кл/cм3, в руде от 0 до 6,1 тыс. кл/cм3 и были представлены в основном бактериями. Грибы и актиномицеты встречались достаточно часто, но в значительно меньших количествах [27]. Был сделан вывод, что геохимические процессы в рудах и шахтных водах вследствие недостаточного количества тионовых бактерий осуществляются за счет жизнедеятельности гетеротрофных микроорганизмов.

Поскольку с момента последнего обследования указанного месторождения прошло более 50 лет, было решено повторить эти исследования с целью выделения активных культурой бактерии микроорганизмов – деструкторов золото вмещающих минералов. Следует отметить, что золотодобывающее предприятие на Акбакайском месторождении было спроектировано с целью осуществления процесса биологического вскрытия руды, поэтому сведения о наличие в руде разнообразных групп микроорганизмов может дать представление о напряженности и направленности окислительно-восстановительных процессов в рудном теле.

Микробиологические обследования руды двух других месторождений – Бестобе и Большевик был обусловлен отличающимся составом руд и характером упорности – в Руде месторождения Бестобе обнаружен пирит, руда месторождения содержит углистые вещества, адсорбирующие цианидные комплексы благородных металлов. Кроме того, на всех трех месторождениях такие группы ацидофильных бактерий как *Sulfolobu*s, *Leptospirillum* и *Acidiplasma* вообще не изучались.

Анализ литературных данных показывает, что на месторождениях присутствуют различные группы хемолитотрофных бактерий, которые при благоприятных условиях способны окислять сульфидную руду. В зависимости от конкретной обстановки право преимущественного развития может получить две-три группы тионовых бактерий, которые осуществляют этот процесс [28, 29, 30]. В связи с этим нами был исследован широкий спектр хемолитотрофных бактерий, присутствующих в руде трех месторождений. Были определены численность и активность окисления двухвалентного железа бактериями *Aсidithiobacillus ferrooxidans, А.thiooxidans*, *Sulfolobus, Leptospirillum* и *Acidiplasma.* Бактерии учитывали на элективных средах.

**3.3 Экология хемолитотрофных бактерий золото-мышьяковистого месторождения Большевик**

**3.3.1 Географо-экономическое характеристика золото-мышьяковистого месторождения Большевик**

Золото-мышьяковистый месторождения Большевикнаходится на территории Жарминского района Абайской области в северо–западной части Калбинского хребта.

Рельеф местности слабо всхолмленный - приурочен к переходной зоне от горных систем Алтая к мелкосопочнику Центрального Казахстана. Абсолютные отметки варьируют от 180м до 300-350м. Относительные превышения обычно составляют 50-80м.

Гидрографическая сеть района представлена бассейном реки Кызыл–Су. Река берет начало на западном склоне Сенташских гор Калбинского хребта и впадает в Иртыш, протекая в 6 км к юго–западу от Бакырчикского месторождения в направлении с юго–запада на северо–восток. В пределах района работ река принимает ряд притоков, из которых наиболее крупными являются Ала–Айгыр, Акбастау-булак, Холодный Ключ. Притоки имеют постоянный сток во время весеннего паводка. В летний период большинство их частично или полностью пересыхает. Вода в водотоках большей частью загрязнена стоками скотоводческих ферм и непригодна для питья. Средний расход воды в р. Кызылсу составляет 2,6 м3/сек.

Климат резко континентальный, характерный для зон сухих степей и полупустынь. Среднегодовая температура +1,4 градуса. Лето жаркое, сухое, температура воздуха в июле достигает +40°С. Зима продолжительная, суровая, с частыми буранами. Преобладающими направлениями ветров являются северо-западное и юго-восточное. Северо-западные ветры имеют шквальный характер при средней скорости 4-5м/с, достигая 14м\с. Минимальная температура - до -40°С, - отмечается в январе-феврале. Средняя высота снежного покрова – 16см, - отмечается в январе-феврале. Глубина сезонного промерзания почвы в связи с неравномерностью снежного покрова варьирует от 13 до 90см. Снеготаяние начинается 15-20 марта и заканчивается в конце апреля. Среднегодовое количество осадков составляет 250мм при колебаниях от 120-140 до 350- 370мм в год.

Дорожная сеть развита слабо. Основной транспортной магистралью является асфальтированная дорога «Алматы - Усть–Каменогорск». База БГП – пос. Ауэзов, - находится в 32км к западу от этой трассы и связана с ней грунтовой дорогой. Ближайшим населенным пунктом является г. Шар – в 42 км к юго-западу. До него от пос. Ауэзов существует дорога с твердым покрытием. Через г.Шар проходит железнодорожная магистраль – Cемипалатинск - Алматы (часть Турксиба). Остальные дороги являются грунтовыми, т.е. доступными для автотранспорта только в сухое время летнего периода. Передвижение по бездорожью автотранспорта ограничивается отдельными участками сильно расчлененного рельефа, зарослями кустарников, участками развития солонцов и болот. По проходимости площадь относится к удовлетворительной и плохой.

Снабжение населенных пунктов и промышленных объектов электроэнергией осуществляется от Усть–Каменогорской ГЭС, находящейся в 80 км от участка работ.

Источником производственного и хозяйственно-питьевого водоснабжения является водохранилище, построенное на реке Кызыл–Су, а также подземные воды. В районе отсутствует топливная база, нет лесных массивов.

**3.3.2 Влияние различных физико-химических факторов на биовыщелачивания руды золотоносного месторождения Большевик**

Месторождение Большевик охватывает западный 3,5-километровый отрезок Кызыловской зоны, заключенный между Западно-Калбинским разломом на западе и участком Восточная Загадка на востоке. На месторождении по особенностям своего внутреннего строения исторически выделяются 4 участка (с запада на восток) с промышленным оруденением: Западный Большевик, Большевик, Чалобай и Холодный Ключ.

Площадь месторождения Большевик сложена терригенно-осадочными породами каменноугольной системы, корами выветривания развитыми над ними и частично третичными и четвертичными отложениями. В лежачем боку Кызыловской зоны преимущественно развиты песчано-сланцевые отложения, а в висячем боку -полимиктовые разнозернистые песчаники верхней подтолщи алевролито-песчаниковой толщи (C,S2-C2b). В разрезе самой Кызыловской зоны смятия преобладают песчано-сланцевые отложения бакырчикской свиты (Сз).

Верхняя песчано-алевролитовая подтолща (CIS2-C2b') лежит согласно на нижней песчаниковой подтолще и выполняет ядра синклинальных структур. По соотношению песчаников и алевролитов и характера их переслаивания она подразделяется на две пачки.

Нижняя пачка переслаивания алевролитов и песчаников верхней песчанико-алевролитовой подтолщи (CiS^-C^1) представлена преимущественно грубым переслаиванием углисто-глинистых алевролитов и среднезернистых полимиктовых песчаников. Нижней границей ее принята подошва первого мощного слоя алевролитов.

В этой пачке наблюдаются небольшие линзовидные маломощные выходы известняков и андезитовых порфиритов. Максимальная мощность нижней пачки верхней подтолщи составляет 625м. Песчаники составляют около 60%, алевролиты -40%, известняки и базальты - менее 0,001%. Толща повсеместно смята в складки различного порядка и слагает породы висячего бока Кызыловской зоны на месторождении Большевик.

Верхняя пачка (алевролитовая) песчанико-алевролитовой подтолщи (CxS2-C7b2) представлена преимущественно переслаиванием слоев с гравитационной слоистостью (от мелкозернистых песчаников до алевролитов и пелитов) с редкими маломощными (до 5м) прослоями среднезернистых полимиктовых песчаников и, в целом, напоминает верхнюю часть аганактинской свиты. Нижней ее границей является подошва преимущественно алевролитовой пачки с градационной слоистостью. Эта пачка слагает лежачий бок Кызыловской зоны смятия на месторождении Большевик. Ее мощность достигает 393м.

Бакырчикская толща (СУ) представлена черными сильно углистыми аргиллитами и алевролитами, среди которых редко встречаются линзы плохо сортированных грубых гравийных песчаников, гравелитов и мелкогалечниковых конгломератов. Обломки в грубых отложениях представлены, в основном, терригенными породами, среди которых обычны граувакковые и полимиктовые песчаники. В алевролитах и песчаниках, даже в керне скважин, часто встречается детрит листовой и стеблевой флоры.

По преимущественному положению в низах толщи грубых песчаников и линз конгломератов, предполагается несогласное налегание верхнекаменноугольных отложений бакырчикской толщи на отложения алевролито-песчаниковой толщи поздне-серпуховского - среднекаменноугольного возраста. Отложения бакырчикской толщи выполняют Кызыловский грабен. В зоне Кызыловского разлома они сильно дислоцированы, выходят на поверхность в виде тектонических клиньев с неясными взаимоотношениями с терригенными породами северного (висячего) и южного (лежачего) боков зоны. Мощность толщи более 200м.

Детальными исследованиями в разрезе бакырчикской толщи выделены 4 пачки:

1. Первая пачка - нижняя туфогенно-песчаниковая. Залегает в южной части грабена, имеет тектонический контакт с более древними отложениями. Полная мощность ее не установлена. В составе резко преобладают песчаники - аркозовые, часто углистые, средне-мелкозернистые, нередко туфогенные. Присутствуют прослои пепловых туфов риолит-дацитового или трахидацитового состава с витрокластической структурой. Гораздо реже в составе пачки встречаются прослои углистых аргиллитов и алевролитов. Туфогенно-песчаниковая пачка вмещает кварцевые жилы, а также проявления штокверкового оруденения. За пределами Кызыловского грабена к ней приурочена минерализация зоны Параллельной: месторождения Дальний, Дальний-1, Дадьний-2, Дальний-3;
2. Вторая пачка - нижняя аргиллит-алевролитовая. Сложена углисто-глинистыми аргиллитами и алевролитами с маломощными прослоями аркозовых песчаников. Мощность ее 30-50м.;
3. Третья пачка - гравелит-конгломератовая. Наиболее пестрое образование. Сочетание гравелитов с углисто-глинистым цементом, мелкообломочных конгломератов, осадочных брекчий (в том числе своеобразных «мусорных» брекчий крайне неоднородного гранулометрического состава) нередко создают очень своеобразные текстуры. Они выражены четкой параллельной ориентировкой удлиненных обломков в гравелитах, конгломератах и осадочных брекчиях, располагающихся под косым углом к плоскостям напластования. Участками в третьей пачке встречаются прослои углистых аргиллитов и алевролитов, в единичных случаях и маломощные (до 20см.) пропластки каменного угля. Общая мощность пачки колеблется от 40-50м. (в центральной и восточной частях Кызыловского грабена) до 150-200м. (на его западном фланге - месторождении Большевик);

4) Четвертая пачка - верхняя аргиллит-алевролитовая. Связана с подстилающей постепенными переходами, характеризуется таким же обилием углистого материала. В ее составе преобладают углистые аргиллиты и алевролиты, содержащие прослои песчаников и гравелитов (с углисто-глинистым же цементом), объем которых увеличивается к западу. В пачке прослеживаются маркирующие горизонты, обогащенные сидеритовыми конкрециями и фосфатно-глинистыми стяжениями, и постоянно присутствуют маломощные (до 10см.) пропластки каменного угля; в аргиллитах содержатся обильные отпечатки верхнекаменноугольной флоры. Мощность пачки не совсем ясна. Некоторые исследователи оценивают ее в пределах  
40-50 м. Именно эта пачка считается «рудовмещающей» - именно в ней находится вся основная золото-сульфидная минерализация не только месторождения Большевик, но и всех остальных объектов Кызыловской зоны (Бакырчик, Сарбас, Кармен, Бидель, Восточная Загадка).

Бакырчикская толща весьма своеобразна, и по общему мнению, необычайно важна для поисковых работ на золото. Она характеризуется некоторыми особенностями, которые несколько отличают её от других осадочных отложений района. К ним относятся:

1. Бедность петрофонда- автохтонный илистый материал, с погружением в него аллохтонного псаммитового материала терригенного (серые песчаники) и вулканогенного (пепловые туфы) происхождения.
2. Крайняя нестабильность обстановки осадконакопления, находящая отражение в признаках как относительно глубоководных (широкое проявление подводно-оползневых текстур и т.п.), так и мелководных (косая слоистость, знаки ряби и т.п.) фациальных условий;
3. Присутствие вулканогенного материала удаленных фаций вулканизма (присадка пепловых частиц, кремнистые образования и т.п.);
4. Наличие сингенетичной пиритовой минерализации и углистого материала (вплоть до каменных углей).

Поэтому достаточно определенным является вывод о том, что подобные осадки могли формироваться лишь в условиях локального, но достаточно глубокого бассейна -в грабене, возникшем над зоной относительного растяжения.

В целом, характерными признаками и для всех пород месторождения являются: повышенная углистость, карбонатность, наличие первичного - осадочного пирита.

Таблица 3.3 - Состояние запасов по месторождению Большевик на 1.01.2008 г.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № р.т. | Запасы по рудным телам | | | | Примечание |
| № блока и категория запасов | руда, тыс. т | среднее содержание Au, г/т | золота, кг |  |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Состояние запасов на 1.01.2008 г. | | | | | |
| С1 | | 1909,638 | 7,0 | 13422 | балансовые |
| С2 | | 3004,000 | 6,1 | 18260 | сульфидные руды |
| С1+С2 | | 4913,638 | 6,4 | 31682 |  |
| С2 | | 38,000 | 2,9 | 109 | забалансовые руды |
| С2 | | 281,562 | 1,1 | 324 | бедные окисленные руды |
| В том числе по рудным телам: | | | | | |
| Балансовые сульфидные руды | | | | | |
| 3-1 | 1-90-С1 | 80,152 | 6,6 | 529,0 |  |
|  | 30-С2 | 151,176 | 10,2 | 1542 |  |
|  | 3-1-С2-93 | 208,508 | 5,9 | 1230,2 |  |
| 4-1 | 3-90-С1 | 442,927 | 8,2 | 3632 |  |
| 4-3 | 4-С2 | 110,509 | 5,1 | 564 |  |
| 5-1-1 | 2-89-С1 | 226,375 | 8,0 | 1811 |  |
| 5-1-2 | 3-89-С1 | 154,211 | 7,6 | 1172 |  |
|  | 2-90-С1 | 260,045 | 6,1 | 1586 |  |
|  | 7-С2 | 69,806 | 6,9 | 482 |  |
| 5-1-3 | 7-89-С1 | 98,254 | 4,8 | 468 |  |
| 3 (5-1) | 3-310-280-С2 | 31,888 | 5,5 | 176 |  |
| 5-2-1 | 4-89-С1 | 52,819 | 8,5 | 447 |  |
| 5-2-2 | 5-89-С1 | 146,957 | 5,2 | 758 |  |
|  | 10-С2 | 88,999 | 5,2 | 463 |  |
| 4 (5-2) | 4-310-275-С2 | 28,260 | 5,0 | 141,3 |  |
| 4 (5-2, 5-3) | 4-315-275-С2 | 3,705 | 6,1 | 22,6 |  |
| 1 (5-3) | 1-315-280-С2 | 16,380 | 6,4 | 104,8 |  |
| Л-7 (5-3) | Л-7-315-290-С2 | 1,210 | 5,6 | 6,8 |  |
| 5-6 | 6-89-С1 | 188,056 | 7,2 | 1354 |  |
|  | 8-89-С1 | 214,409 | 6,8 | 1456 |  |
| 2 (5-6) | 2-315-265-С2 | 56,831 | 8,4 | 477 |  |
| 6-1 | 13-С2 | 195,078 | 6,3 | 1229 |  |
| 7-1 | 14-С2 | 154,730 | 4,6 | 712 |  |
| 8-1-1 | 15-С2 | 65,643 | 6,6 | 433 |  |
| 8-1-2 | 8-С2 | 130,857 | 4,7 | 615 |  |
| 8-2-1 | 19-С2 | 35,423 | 6,3 | 223 |  |
| 8-2-2 | 18-С2 | 36,442 | 8,2 | 299 |  |
| 8-2-4 | 17-С2 | 61,859 | 4,8 | 297 |  |
| 8-4 | 9-С2 | 207,464 | 4,7 | 975 |  |
| 9-1-1 | 9-90-С1 | 45,435 | 4,6 | 209 |  |
|  | 10-90-С2 | 15,975 | 4,6 | 73 |  |
| 9-1-2 | 1-С2 | 27,488 | 4,2 | 115 |  |
| 9-1-3 | 2-С2 | 123,425 | 3,4 | 420 |  |
| 9-1-4 | 10-С2 | 404,832 | 4,9 | 1985 |  |
| 9-1, л-1 | 11-90-С2 | 8,795 | 4,6 | 40 |  |
| 9-1, л-2 | 12-90-С2 | 7,640 | 5,2 | 40 |  |
| 9-2-1 | 23-С2 | 231,500 | 6,0 | 1389 |  |
| 11 | 11-1-С2-93 | 54,658 | 4,9 | 267,8 |  |
| 11-2 | 11-2-С2-93 | 55,594 | 8,4 | 465,3 |  |
| 12 | 12-С2-93 | 58,009 | 5,0 | 290,0 |  |
| 13-1 | 13-1-С2-93 | 110,290 | 6,0 | 661,7 |  |
| 13-2 | 13-2-С2-93 | 250,782 | 10,1 | 2520,3 |  |
| С1 | | 1909,638 | 7,0 | 13422 |  |
| С2 | | 3004,000 | 6,1 | 18260 |  |
| С1+С2 | | 4913,638 | 6,4 | 31682 |  |
| Бедные окисленные руды | | | | | |
| 6-6 | 6-6-1-С2 | 4,769 | 0,80 | 3,8 |  |
| 6-5 | 6-5-1-С2 | 9,933 | 1,26 | 12,5 |  |
| 6-2 | 6-2-1-С2 | 9,244 | 1,01 | 7,7 |  |
| 6-1 | 6-1-1-С2 | 76,917 | 0,94 | 72,0 |  |
| 7-1-2 | 7-1-2-1-С2 | 19,124 | 0,80 | 15,3 |  |
| 7-1-3 | 7-1-3-1-С2 | 8,734 | 0,80 | 7,0 |  |
| 7-2 | 7-2-1-С2 | 25,764 | 2,09 | 53,8 |  |
| 8-6 | 8-6-1-С2 | 4,588 | 1,00 | 4,6 |  |
| 6-3 | 6-3-С2 | 2,920 | 3,03 | 8,8 |  |
| 6-7 | 6-7-С2 | 12,269 | 2,36 | 29,0 |  |
| 6-8 | 6-8-С2 | 3,818 | 2,03 | 7,8 |  |
| 6-9 | 6-9-С2 | 0,876 | 1,03 | 0,9 |  |
| Р.О-1 | Р.О-1-1-С2 | 32,296 | 0,90 | 29,1 |  |
| 8-2-1 | 8-2-1-С2 | 55,263 | 1,06 | 58,6 |  |
| 8-5 | 8-5-С2 | 6,678 | 0,88 | 5,9 |  |
| 8-8 | 8-8-С2 | 8,369 | 0,83 | 6,9 |  |
| Итого: | С2 | 281,562 | 1,15 | 323,7 |  |
| Забалансовые руды | | | | | |
| 9-1 | 1-С2 | 38,000 | 2,9 | 109,0 |  |
| Добыто за период с 1960 по 2003г.г. | | | | | |
| сульфидные и богатые | | 837,100 | 6,1 | 5132,8 |  |
|  | |  |  |  |  |
| бедные окисленные руды | | 167,700 | 1,04 | 174,9 |  |
| Всего |  | 1004,800 | 5,3 | 5307,7 |  |

Широкое внедрение технологии микробиологического и химического способа выщелачивания на казахстанских месторождениях расположенные северного и севере - восточного региона осложнено суровыми климатическими условиями. В связи с этим, одним из приоритетных путей снижения экономических затрат и повышения степени извлечения золота считается оптимизация температурного режима выщелачивающего раствора, которая может быть выполнена лишь при наличии кинетической модели, учитывающей влияние температуры на скорость извлечения металла из руды. В связи с этим, для ускорения скорости выщелачивания золота в районах холодного климата Казахстана необходима, подогрев растворов и более мелкое дробление руды.

В данной работе впервые предложена комбинированная бактериально-химическая технология проведении постадийного сернокислотного выщелачивания при установленных оптимальных параметрах, приемлимая для переработки труднообогатимой окисленной золото-мышьяковистой руды месторождения «Большевик» [1]. Для описания экспериментальных данных предложен выбор оптимальной температуры для процесса бактериально-химического способа выщелачивания золота из руды месторождения Большевик [2]. В результате исследования было установлено, что максимальное извлечение золота в раствор не зависит от повышения температуры выщелачиваемой среды (40оС) [3]. Достаточен диапазон температуры от 20 до 30оС, который считается оптимальным для роста и развития ацидофильных культур бактерии. Эти полученные данные считаются важными и достаточной информацией для прогноза улучшения показателей извлечения золота при различных температурах. В районах Восточного Казахстана с холодными климатическими условиями для ускорения степени извлечения и скорости выщелачивания золота требуется подогрев растворов и более мелкое дробление руды [4-10].

Для проведения эксперимента отобрали руду месторождения Большевик, который по содержанию относится к золото-мышьяковистым [11].

В качестве объектов исследования служили три культуры бактерии хемилитотрофных бактерий в ассоциации: *Acidithiobacillus ferrooxidans, Aсidithiobacillus acidocaldulans, Acidiplasma sp* [12]. В качестве питательной среды для ацидофильных бактерий использовали Сильвермана и Лундгрена, так называемый 9К [13].

Количество Fe2+ и Fe3+ определяли комплексонометрией согласно методике, предложенной А.А. Резниковым [14], с применением титранта ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевая соль) или трилона Б. Для проведения ситового анализа руды руководствовались рекомендованной методикой [15].

При широком внедрении, продуктивной технологии биовыщелачивания ведущими золотодобывающими странами являются США, Австралия, ЮАР, Канада, которые не только позволили повысить добычу золота в 2-3 раза за последние тридцать лет, но и существенно снизили затраты на переработку руды [16].

Биовыщелачивания кучным способом на казахстанских месторождениях осложнены суровыми климатическими условиями. В связи с этим, считается, что для повышения извлечения золота с наименьшими затратами, необходима оптимизация температурного режима технологии выщелачивания. Мы считаем, что это может быть осуществлено кинетикой модели, которая учитывает влияние температуры на скорость извлечения золота из руды.

Месторождение Большевик является западным объектом Бакырчикского золоторудного поля и расположено всего в 6,0 км западнее главного месторождения поля – Бакырчик [17]. Многие черты последнего оказались характерными и для месторождения Большевик. Оно приурочено к зоне регионального надвига, представляющего структурный элемент так называемой Кызыловской зоны смятия. В висячем (северном) боку надвига преобладают полимиктовые и вулканопластические песчаники с фациально выклинивающимися протяженными линзами и слоями конгломератов. Эти породы смяты в сравнительно мелкие изоклинальные складки [18].

|  |  |
| --- | --- |
| G:\МОИ ДОКУМЕНТЫ\МОИ ФОТО\ОБЕЪЕКТЫ ИССЛ\Большевик\DSCN3463.JPG | G:\МОИ ДОКУМЕНТЫ\МОИ ФОТО\ОБЕЪЕКТЫ ИССЛ\Большевик\DSCN3527.JPG |



Рисунок 3.12. Географическое расположение золото-мышьяковистого месторождения Болшевик

|  |
| --- |
| Описание: Описание: https://labtime.kz/3862-thickbox_default/hi-9043-termometr-portativnyy.jpg  Рисунок 3.13. Шейкер-инкубатор GFL 3031 для поддержания температуры |

Эксперимент начали с исследования биовыщелачивания золото-мышьяковистой руды месторождения Бакырчик агитационным способом в лабораторных условиях, как указано в рисунке 3.14. Эксперимент начали с рудоподготовки. Для этого отобранную руду подвергали к измельчению до размера зерен 0,074 мм в шаровой мельнице. Пробу подвергали рассеву в стандартном наборе сит с постепенно уменьшающимися размерами отверстий (рис. 3.14).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Описание: Описание: Описание: C:\Users\asd\Desktop\Сито\XvfYswCXAfg.jpg | Описание: Описание: Описание: C:\Users\asd\Desktop\Сито\cuTICp8t7rk.jpg | Описание: Описание: Описание: C:\Users\asd\Desktop\Сито\2mKwL2WYy7Y.jpg |

Рисунок 3.14. Сито лабораторное контрольное У1-ЕСЛ-К для определения гранулометрического состава материала

В результате получилось несколько классов, в которых размер частиц имеет определенный размер отверстий восьми смежных сит: верхнего и нижнего. Эти сита характеризуются восемью размерами, а также классифицируется крупностью данного класса. При этом данный диаметр зерна обозначается размером отверстия, через которое оно проходит (рис. 3.14).



**1**

**3**

**5**

**7**

**9**

**8**

**6**

**4**

**2**

**3**

**2**

**8**

8

Рисунок 3.15. Проведение ситового анализа с использованием стандартных сит, изготовленных из проволочных сеток с квадратными отверстиями

*Примечание:* Размер сита составляют: 1- 6,0 мм; 2 - 1,7 мм; 3 - 1,0 мм; 4 - ∅1,0 мм; 5 - 800 мкм; 6 - 670 мкм; 7 - 500 мкм; 8 - 160 мкм; 9 – поддон.

Для проведения ситового анализа мы применили стандартные сита, сделанные из проволочных сеток с квадратными отверстиями. Лабораторное сито имеет цилиндрический ободок диаметром 200,0 мм и высотой 50,0 мм, с натянутой сеткой. Сита изготавливают так, чтобы вставляя их одно в другое, можно было создать комплект сит. В наборе помимо сит имеется поддон и крышка. Сито вносят одно в дру­гое так, чтобы размер отверстий уменьшался от верхнего к нижнему.

Ситовый анализ материалов осуществляли встряхиванием сит в течение 15,0 минут. В данном случае длительность рассева зависела от влажности и крупности материала.

Итоги ситового анализа заносили в таблицу, в которой указан размер и выход классов в весовых единицах и процентах. Размер класса является размером отверстий двух смежных сит: сито через которое прошел материал, обозначают со знаком минус, а на котором он остался, – со знаком плюс.

На первой стадии руда подвергалась биовыщелачиванию, на второй проводилось собственно извлечение золота. Температурный режим обеспечивался культивированием и выщелачиванием, как первой, так и второй стадии в термостатированном шейкере (рис. 3.13). Исследовали режимы температур 20°С, 30°С и 40°С. Соотношение (тяжелого к жидкому) Т:Ж = 1:1,5.

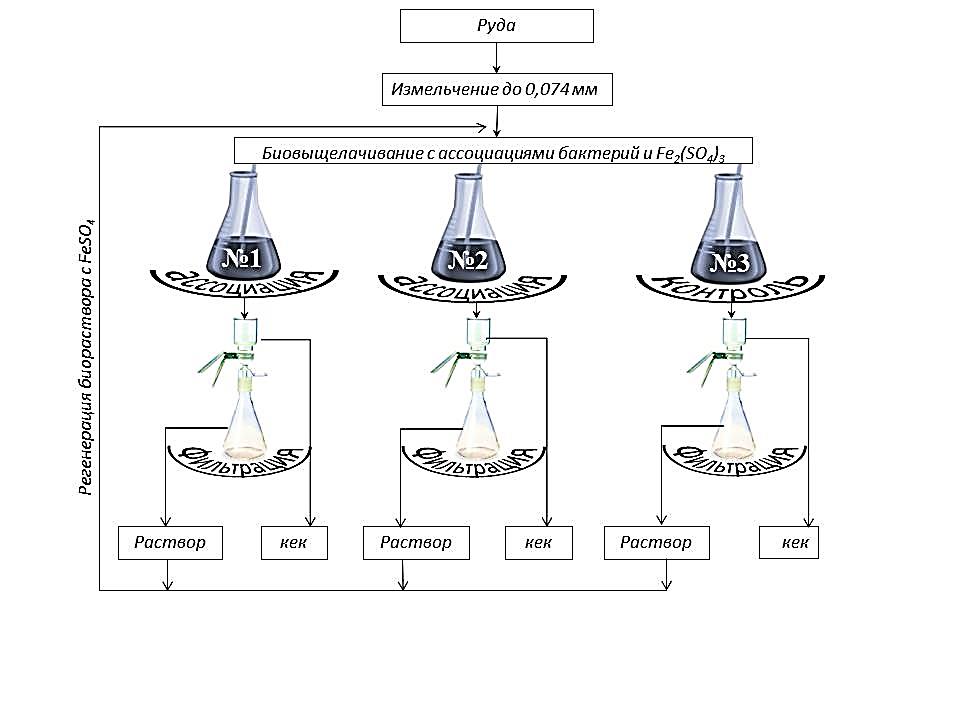


Рисунок 3.16. Стадии бактериально-химического способа выщелачивания золотоносной руды месторождения Большевик.

Руда золото-мышьяковистого месторождения Большевик принадлежит геолого-промышленному типу золоторудных объектов, локализованных в породах углистых песчанико-сланцевых формаций. Это важный в промышленном отношении тип золоторудных месторождений. Одним из факторов, интенсифицирующих процесс цианирования золотосодержащих руд любого типа, может быть температура выщелачивающего раствора [119].

Для осуществления эксперимента была использована руда месторождения Большевик следующего состава, г/т: Au – 2,9; %: Fe – 3,4; Cu - 0,02; S – 1,2; As- 0,91. Объектами исследования служили культуры *Acidithiobacillus ferrooxidans, Aсidithiobacillus acidocaldulans* и *Acidiplasma sp.* Длительность процесса составляла 24, 48 и 72 часов. Полученные данные приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 - Влияние температуры на извлечение золота из руды месторождения Большевик

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Продолжительность выщелачивания,  час | Исходное содержание  Au в руде, % | крупность руды, по  классам, мм | Температура  °С | Извлечение золота, % | | |
| с культураль-ной ассоциа-цией №1 | с культураль-ной ассоциа-цией №2 | Контроль без ассоциаций культур |
| 24 | 2,9 | 0,074 | 20 | 85,0 | 94,5 | 12,9 |
| 30 | 78,0 | 92,4 | 27,8 |
| 40 | 25,0 | 14,2 | 54,7 |
| 48 | 2,9 | 0,074 | 20 | 86,0 | 94,6 | 13,3 |
| 30 | 78,0 | 94,6 | 27,9 |
| 40 | 31,2 | 22,5 | 63,2 |
| 72 | 2,9 | 0,74 | 20 | 88,4 | 94,9 | 15,6 |
| 30 | 78,1 | 94,8 | 31,4 |
| 40 | 39,1 | 27,6 | 66,6 |

Данные таблицы 3.4 свидетельствуют о значительной интенсификации процесса тиосульфатного выщелачивания с повышением температуры процесса. Однако влияние температуры на образцы руды, предобработанной ассоциацией бактериальной культурой, выглядит неоднозначно. В первом случае оно настолько сильное, что появляются негативные явления, выражающиеся в усилении кинетических осложнений, приводящих к разрушению тиосульфатных комплексов и переосаждению металла, о чем говорит резкое снижение извлечения золота при 40°С.

Продуктивный процесс в основном идет первые 24 часа. В данном случае необходимо снижать продолжительность тиосульфатного выщелачивания до 8 – 12 часов. Более устойчив к температурным перепадам процесс предобработкой ассоциацией бактериальных культур №2. В контрольных вариантах процесс идет классическим образом, т.е., повышение температуры приводит к повышению степени извлечения золота.

Рисунок 3.17. Динамика извлечения золота из руды месторождения Большевик при 20°С.

*Примечание:* 1 – ассоциация 1, 2 – ассоциация 2, 3 – контроль

Анализируя данные по концентрации растворенного золота, приведенные на рисунках 3.17, 3.18 и 3.19, следует отметить, что наилучший температурный режим для биохимического выщелачивания является поддержание температуры на уровне 30°С, концентрация золота за 24 часа поднимается до 3,1 мг/л. В контрольном варианте она не достигает 1,0 мг/л.

Рисунок 3.18. Динамика извлечения золота из руды месторождения Большевик при 30°С.

*Примечание:* 1 – ассоциация 1, 2 – ассоциация 2, 3 – контроль

Однако, увеличение температуры до 40°С кардинальным образом меняет всю картину: концентрация золота к концу 24 час резко падает при биовыщелачивании, тогда как в контроле она существенно возрастает. Рассматривая процессы с точки зрения рентабельности, энергетические затраты на поддержание температуры 40°С выше, чем 30°С, поэтому биохимический процесс более экономичен.

Рисунок 3.19. Динамика извлечения золота из руды месторождения Большевик при 40°С

*Примечание:* 1 – ассоциация 1, 2 – ассоциация 2, 3 – контроль

Таким образом, руды золото-мышьяковистого месторождения Большевик состоит сложного вещественного состава, которые обусловлены многообразными вмещающими породами и вредными рудными минералами. Как видно из данных, приведенных в работе, повышение температуры примерно на 20-30оС положительно влияет на процесс биовыщелачивания золота. Помимо этого, указанные уровень температуры значительно интенсифицирует как биохимические, так и химические процессы извлечения золота из руды месторождения Большевик. Оптимальным для биохимического тиосульфатного выщелачивания следует, считать 20-30°С. При этом продолжительность процесса может быть сокращена до 8-12 часов.

**3.3.3 Подбор подходящего к данной ассоциации химического растворителя (тиосульфат, тиомочевина)**

В связи с повышенными требованиями к экологической безопасности поиск альтернативных методов извлечения благородных металлов приобретает особую актуальность. Среди таких методов выделяется тиосульфатный и тиомочевинный. Тиосульфатное выщелачивание золотосодержащей руды имеет большой потенциал для снижения воздействия на окружающую среду. В отличие от цианида, который является высокотоксичным элементом, химические вещества, используемые в процессе тиосульфатного выщелачивания, безопасны. Эта технология имеет большой потенциал в тех областях, где использование цианида абсолютно запрещено или подвергается интенсивному негативному освещению в СМИ по причине вредного воздействия на окружающую среду. В большинстве случаев в ходе этого процесса извлечение проводится практически идентично цианированию. При операциях извлечения, в которых учитывается природная сорбционная активность углистых компонентов руды, использование этого метода выщелачивания значительно эффективнее, чем использование цианида. Тиосульфатное выщелачивание хорошо подходит для инновационной технологии извлечения золота по принципу «смола в пульпе» (RIP).  Процесс является щелочным, обычно выполняемым в диапазоне pH от 8 до 10, поэтому при выполнении извлечении не может возникать беспокойств по поводу коррозии оборудования. К преимуществам его относится также инертность к естественным углеродсодержащим адсорбентам цианидных комплексов. Основными химическими компонентами процесса тиосульфатного выщелачивания (тиосульфат аммония и сульфат аммония) являются обычные удобрения. Это открывает дополнительную возможность для использования растворов отходов шахт в сельском хозяйстве и в тех регионах, где соблюдаются экологические нормы [135].

Химизм процесса выглядит следующим образом:

4Cu(S2O3)35– + O2 + 16NH3 + 2H2O → 4Cu(NH3)42+ + 12S2O32- + 4OH-  (1)

Cu(NH3)42+ + Au + 3S2O32– → Au(NH3)2+ + Cu(S2O3)35– + 2NH3 (2)

Au(NH3)2+ + 2S2O32– → Au(S2O3)23– + 2NH3 (3)

4Au + 8S2O32-+ O2+ 2H2O → 4Au (S2O3)23-+ 4OH- (4)

При участии кислорода тиосульфатный комплекс меди превращается в комплекс с аммонием (реакция 1), служащий катализатором для образования комплекса аммония с золотом (реакция 2), который затем преобразуется в тиосульфатный комплекс (реакция 3). Суммарный процесс выщелачивания золота описан реакцией 4. Таким образом, при тиосульфатном выщелачивании кислород служит окислителем, а ионы аммония и меди - катализаторами [16]. При этом золото должно быть в свободном состоянии, высвобожденным из кристаллической решетки арсенопирита или пирита, чем, собственно, и занимаются ацидофильные бактерии.

При выщелачивании тиосульфатом следует принять во внимание, что этот реагент термодинамически нестабилен в воде и частично окисляется в процессе выщелачивания с образованием политионатов, таких, как тетратионат и тритионат, а также сульфата, являющейся наиболее стабильной формой

S2O32– < S4O62– < S3O62– < SO42

Выщелачивание тиомочевинной имеет преимущество - его можно осуществить непосредственно за процессов биовыщелачивания без изменения рН среды, что экономит реактивы. Однако, следует принять во внимание, что в процессе растворения золота образуется не отрицательно заряженный комплекс, как в случае с цианидом или тиосульфатом, а положительно заряженный. Это, в свою очередь, потребует использования в процессе «смола в пульпе» не анионитов, а катионитов, что может вызвать дополнительные трудности.

В экспериментах по выбору подходящего растворителя для выщелачивания золота была использована двухстадиальная схема. На первой стадии руда выщелачивалась моно- и ассоциативными бактериальными культурами, состоящими из *Acidithiobacillus ferrooxidans* и *Acidiplasma sp*. (ассоциация 1)и *Acidithiobacillus caldulans* и *Acidiplasma sp*.(ассоциация 2). Ассоциации были получены и изучены в 2015 г. Для экспериментов использовали руду месторождения Большевик состава: г/т: Au – 6,9 (5); Ag – 1,2; %: Fe – 3,4; Cu - 0,02; S – 1,2; As- 0,91; Co – 0,007; Ni – 0,003; Sb – 0,0021; С – 1,45. Гранулометрический состав руды по классам: 0,074 мм – 80% и 0,044 мм – 20 %.

Условия эксперимента: соотношение Т:Ж=1:5, интенсивность перемешивания – 120 об/мин, t = 28 - 30 °C, рН = 1,5 – 2,0, продолжительность выщелачивания 5 суток (120 часов). В ходе эксперимента контролировали рН раствора, содержание двух – и трехвалентного железа и концентрацию бактерий.

Результаты представлены в таблице 3.5, из которой видно, что смешанные культуры энергичнее окисляют трехвалентное железо, особенно в течение первых 24 часов биовыщелачивания. В дальнейшем это преимущество сохраняется, но на более низком уровне, т.к. трехвалентное железо постоянно тратится на окислительные процессы в процессе биовыщелачивания.

Таблица 3.5 - Активность накопления Fe3+ при биовыщелачивании руды месторождения Большевик моно и смешанными культурами ацидофильных бактерий

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Культуры | Продолжительность  биовыщелачивания, сутки | рН | Концентрация железа, г/л | |
| Fe 3+ | Fe 2+ |
| *A.ferrooxidans* | 1 | 2,0 | 7,4 | 0 |
| 3 | 2,0 | 5,8 | 0 |
| 5 | 2,0 | 5,8 | 0 |
| *A.caldulans* | 1 | 1,8 | 6,2 | 0 |
| 3 | 2,0 | 5,0 | 0 |
| 5 | 2,0 | 6,6 | 0 |
| *Acidiplasma sp.* | 1 | 2,0 | 5,8 | 0 |
| 3 | 2,0 | 6,2 | 0 |
| 5 | 1,6 | 8,2 | 0 |
| Ассоциация 1 | 1 | 2,0 | 8,4 | 0 |
| 3 | 1,8 | 6,4 | 0 |
| 5 | 1,6 | 6,6 | 0 |
| Ассоциация 2 | 1 | 2,0 | 8,6 | 0 |
| 3 | 1,8 | 6,8 | 0 |
| 5 | 1,5 | 6,8 | 0 |

Концентрация бактерий снижается на два-три порядка в первые сутки, затем восстанавливается, причем, численность *A.ferrooxidans* и *A.caldulans* в ассоциированных с *Acidiplasma sp.* вариантах выше по сравнению с моновариантами (рисунки 3.20, 3.21).

Рисунок 3.20. Численность монокультур ацидофильных бактерий в процессе биовыщелачивания руды месторождения Большевик

1 - *A. ferrooxidans,* 2*- Acidiplasma sp.*  в ассоциации 1; 3 *- A. caldulans ,* 4 *- Acidiplasma sp.*  В ассоциации 2

Рисунок 3.21. Численность ассоциативных культур ацидофильных бактерий в процессе биовыщелачивания руды месторождения Большевик

При сравнении данных, представленных на рисунках 3.20 и 3.21 видно, что *A. ferrooxidans*, штамм 25 в монокультуре к концу эксперимента накопил 107 кл/мл, в ассоциации с *Acidiplasma sp*. - 1010 кл/мл. Численность *A. caldulans* за этот же период наблюдения в монокультуре составила 106 кл/мл, в ассоциации с *Acidiplasma sp.* – 109 кл/мл. Численность *Acidiplasma sp.* в монокультуре - 106 кл/мл, в ассоциации с *A. ferrooxidans*, штамм 25 – 109 кл/мл, в ассоциации с *A. caldulans* 1010кл/мл. Эти данные наглядно демонстрируют преимущество культивирования ацидофильных бактерий в ассоциациях.

После биовыщелачивания кеки были промыты водой и подвергнуты выщелачиванию тиосульфатом и тиомочевинной для извлечения золота. Условия эксперимента: соотношение Т:Ж=1:2, интенсивность перемешивания – 120 об/мин, t = 28 - 30 °C, рН = 8,0 продолжительность выщелачивания 4 суток с ежесуточной заменой выщелачивающего раствора. Концентрация тиосульфата и тиомочевины составила 10 г/л. Результаты представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Сравнительные данные по выщелачиванию золота из руды месторождения Большевик растворами тиосульфата и тиомочевины

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Предобработка | Содержание элементов, мг/кг, % | | | | | | | | | |
| Выщелачивание тиосульфатом | | | | | Выщелачивание тиомочевиной | | | | |
| Au,  мг/кг | Fe | As | Sобщ | Извл. Au, % | Au,  мг/кг | Fe | As | Sобщ. | Извл. Au, % |
| *A.ferrooxidans* | 10,9 | 3,3 | 5,7 | 4,00 | 52,8 | 15,7 | 3,8 | 0,59 | 3,8 | 32,0 |
| *А.caldulans* | 13,3 | 3,87 | 0,6 | 4,64 | 42,4 | 11,4 | 4,4 | 6,8 | 4,3 | 50,7 |
| *Acidiplasma sp* | 12,2 | 4,1 | 0,61 | 4,85 | 47,2 | 11,6 | 4,4 | 0,71 | 6,2 | 49,8 |
| Ассоциация 1 | 10,1 | 3,85 | 0,61 | 4,46 | 56,3 | 15,2 | 2,8 | 0,52 | 4,4 | 34,2 |
| Ассоциация 2 | 9,7 | 6,67 | 0,86 | 5,57 | 58,0 | 12,3 | 3,3 | 0,57 | 4,2 | 46,8 |
| Контроль (без предобработки) | 17,8 | 3,5 | 0,8 | 4,02 | 22,9 | 16,6 | 5,0 | 0,64 | 2,8 | 28,1 |

По результатам выщелачивания золота для дальнейших исследований был выбран растворитель тиосульфат.

**3.3.4 Определение оптимальной концентрации химического растворителя**

Для определения оптимальной концентрации растворителя использовали 3 концентрации тиосульфата – 5, 15, 20 г/л. Условия эксперимента: соотношение Т:Ж=1:2, интенсивность перемешивания – 120 об/мин, t = 28 - 30 °C, рН = 8, продолжительность выщелачивания 32 часа с заменой выщелачивающего раствора через каждые 8 часов.

Результаты представлены в таблице 3.7, из которой видно, что наилучшие показатели по извлечению золота получены при максимальной концентрации тиосульфата в варианте с предобработкой ассоциативной культурой № 2. Извлечение золота в данном случае более, чем в два раза превышает контрольные образцы.

Таблица 3.7 – Влияние концентрации химического растворителя на извлечение золота из руды месторождения Большевик

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Предобработка | Концентрация тиосульфата в выщелачивающем растворе, г/л | | | | | |
| Содержание золота в кеках, мг/кг | | | Извлечение золота, % | | |
| 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 |
| *A.ferrooxidans* | 12,5 | 10,9 | 10,0 | 45,9 | 52,8 | 56,7 |
| *А.caldulans* | 14,1 | 13,3 | 10,8 | 39,0 | 42,4 | 53,2 |
| *Acidiplasma sp.* | 14,9 | 12,2 | 8,6 | 35,5 | 47,2 | 62,8 |
| Ассоциация 1 | 11,2 | 10,1 | 9,1 | 51,5 | 56,3 | 60,6 |
| Ассоциация 2 | 10,4 | 9,7 | 8,2 | 55,0 | 58,0 | 64,5 |
| Контроль (без предобработки) | 18,7 | 17,8 | 16,6 | 19,0 | 22,9 | 28,1 |

Для выщелачивания тиосульфатом в лабораторных исследованиях некоторые авторы рекомендовали следующие условия: концентрация тиосульфата – 0,05 М (5-6 г/л), концентрация меди – 5 ·10-4 М (20-50 мг/л), концентрация аммиака – 0,1 М (2г/л), рН = 7,5 – 8,0, температура = 40 - 60 °С, продолжительность процесса выщелачивания – 8 часов [115]. Однако при использовании предварительного биовыщелачивания присутствие бактерий внесло свои коррективы, поэтому добавление аммиака и солей меди не потребовалось.

**3.3.5 Проверка устойчивости моно и смешанных культур к токсичным элементам руды (сера, мышьяк)**

Известно, что именно серная кислота инициирует процесс бактериального окисления руды, обеспечивая необходимый рН = 1,5-2,0. Она же появляется и в процессе бактериального окисления серы в сульфидах металлов в качестве конечного продукта их окисления. Потому было важно определить пороговые концентрации серной кислоты, которые, запуская процесс биоокисления руды, не отравляли бы популяцию как моно, так и смешанных культур.

Для проверки устойчивости моно и смешанных культур к соединениям серы использовали следующие концентрации SO42-: 5,0; 10,0 и 14,0 г/л, которые получали путем разведения стандартных растворов серной кислоты. Условия проведения экспериментов: интенсивность перемешивания – 120 об/мин, t = 28-30°C, рН = 1,2-2,0, продолжительность 5 суток (120 часов). В ходе эксперимента контролировали рН раствора, содержание двух – и трехвалентного железа и концентрацию бактерий.

Результаты, представленные в таблице 4, свидетельствуют о том, что серная кислота, являясь конечным продуктом окисления серы при воздействии влаги и бактерий на сульфидные минералы, оказывает негативное влияние на накопление трехвалентного железа в среде. При этом страдают как монокультуры, так и их ассоциации.

Таблица 3.8 – Влияние соединений серы на активность окисления трехвалентного железа ацидофильными монокультурами и их ассоциациями

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Бактерии | Длительность наблюдения,  Сутки | Концентрация Fe3+, г/л | | | |
| Контроль | Концентрация SO42- г/л, | | |
| 5,0 | 10,0 | 15,0 |
| *A.ferrooxidans*  исх. железо= 6,6 г/л | 1 | 6,4 | 3,0 | 0 | 0 |
| 3 | 9,0 | 2,8 | 4,0 | 4,6 |
| 5 | 7,2 | 6,6 | 5,0 | 3,2 |
| *A.caldulans*  исх. железо= 6,8 г/л | 1 | 5,2 | 6,0 | 6,4 | 0 |
| 3 | 8,8 | 4,8 | 5,2 | 2,6 |
| 5 | 6,8 | 6,4 | 4,6 | 4,6 |
| *Acidiplasma sp.* исх. железо= 6,0 г/л | 1 | 2,4 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 5,0 | 2,6 | 3,0 | 2,8 |
| 5 | 5,6 | 6,0 | 1,6 | 1,6 |
| Ассоциация 1  исх. железо=6,3 г/л | 1 | 3,0 | 2,4 | 0 | 0 |
| 3 | 7,2 | 5,0 | 3,6 | 4,2 |
| 5 | 6,4 | 6,0 | 3,0 | 2,4 |
| Ассоциация 2  исх. железо = 6,4 г/л | 1 | 2,8 | 4,0 | 2,8 | 0 |
| 3 | 5,0 | 4,2 | 3,2 | 5,0 |
| 5 | 6,6 | 6,2 | 4,2 | 2,2 |

Наиболее чувствительной оказалась *Acidiplasma sp.* Если *A.ferrooxidans* и *A.caldulans* к концу 5-х суток восстановили исходное количество железа при минимальной концентрации 5,0 г/л серной кислоты, то *Acidiplasma sp.* вдвое снизила свою активность. Судя по поведению этой культуры в контрольных вариантах, ей необходим более продолжительный период для восстановления исходных значений трехвалентного железа.

Если сравнить эти данные с полученными в процессе биовыщелачивания руды месторождения Большевик, то очевидно, что для этого микроорганизма в большей степени необходим природный материал для нейтрализации накапливающейся в процессе жизнедеятельности серной кислоты. Наиболее устойчивой оказалась культура *A.caldulans,* которая сохранила способность накапливать трехвалентное железо в присутствии 10,0 г/л токсиканта в течение 24 часов. Наименьшее токсичное влияние на ассоциацию 1 оказало присутствие 5,0 г/л серной кислоты. Из-за подавления ацидофилов, в особенности *Acidiplasma sp* в присутствии серной кислоты, их положительное взаимовлияние в ассоциациях оказалось нарушенным даже при минимальных концентрациях этого токсиканта.

Таблица 3.9 – Влияние соединений серы на численность монокультур ацидофильных бактерий

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Бактерии | Длительность наблюдения,  Сутки | lg численности бактерий, кл/мл | | | |
| Контроль | Концентрация SO42- г/л, | | |
| 5,0 | 10,0 | 15,0 |
| *A.ferrooxidans* исходн. титр 106 кл/мл | 1 | 4 | 4 | 0 | 0 |
| 3 | 4 | 4 | 1 | 1 |
| 5 | 10 | 10 | 10 | 2 |
| *A.caldulans*  исходн. титр 106 кл/мл | 1 | 3 | 2 | 0 | 0 |
| 3 | 4 | 8 | 5 | 2 |
| 5 | 10 | 10 | 10 | 4 |
| *Acidiplasma sp.*  исходн. титр 106 кл/мл | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| 3 | 3 | 4 | 3 | 2 |
| 5 | 10 | 10 | 10 | 6 |

Из всех испытанных микроорганизмов сильнее всего этот токсикант влияет на *Acidiplasma sp.* При культивировании в течение 3-5 суток соединения серы подвергаются дальнейшему окислению, и титр бактерий восстанавливается. При этом ассоциативные культуры в этих процессах более успешны. Так, в присутствии 15,0 г/л серной кислоты *A.ferrooxidans* за 5 суток эксперимента в монокультуре накопил 102 кл/мл, в ассоциации с *Acidiplasma sp.* – 1010кл/мл. То же самое характерно и для других культур. Анализируя влияние соединений серы на численность ацидофильных бактерий в моно и смешанных вариантах, представленные в таблицах 3.9 и 3.10, можно заключить, что концентрация серной кислоты 5,0 г/л не оказывает существенного влияния на этот критерий. Дальнейшее повышение содержания соединений серы влияет отрицательно, особенно в первые 24 часа

Таблица 3.10 – Влияние соединений серы на численность ассоциативных культур ацидофильных бактерий

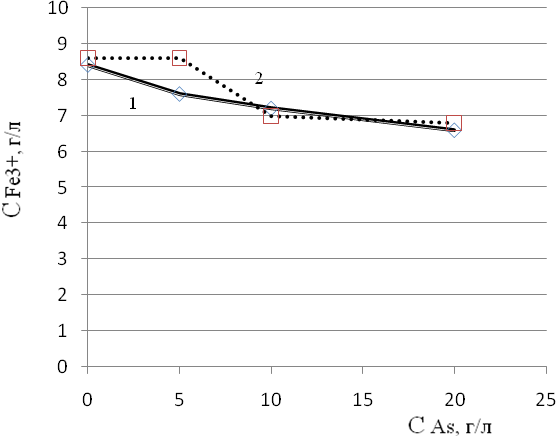
|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Ассоциации | Бактерии | Длительность наблюдения,  Сутки | lg численности бактерий | | | |
| Контроль | Концентрация SO42- г/л | | |
| 5,0 | 10,0 | 15,0 |
| 1 | *A.ferrooxidans*  исходн. титр 106 кл/мл | 1 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| 3 | 5 | 6 | 5 | 1 |
| 5 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| *Acidiplasma sp*  исходн. титр 106 кл/мл*.* | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| 3 | 3 | 5 | 1 | 1 |
| 5 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 2 | *A.caldulans*  исходн. титр 106 кл/мл | 1 | 7 | 3 | 0 | 0 |
| 3 | 7 | 8 | 8 | 1 |
| 5 | 10 | 10 | 10 | 9 |
| *Acidiplasma sp*  исходн. титр 106 кл/мл*.* | 1 | 6 | 6 | 0 | 0 |
| 3 | 7 | 8 | 6 | 1 |
| 5 | 10 | 10 | 10 | 9 |

Таким образом, избыточное накопление серной кислоты как конечного продукта окисления сульфидов в процессе биовыщелачивания оказывает негативное воздействие, как на монокультуры ацидофильных бактерий, так и на их ассоциации. В связи с этим можно заключить, что рудные минералы в данном случае служат средством для нейтрализации полученной серной кислоты.

При исследовании влияния мышьяка на моно и смешанные культуры, ввиду высокой его токсичности мышьяка, эксперименты по определению устойчивости ацидофильных бактерий проводили во время выщелачивания руды месторождения Большевик, варьируя количеством руды, подвергаемой биовыщелачиванию и длительностью процесса. Наименьшее количество растворенного мышьяка – около 5,0 г/л было отмечено при использовании 16 г руды при Т:Ж=1:10 и длительностью 24 часа. При использовании 30 г руды в аналогичных условиях концентрация мышьяка составила около 10,0 г/л. Максимальная концентрация мышьяка - около 20 г/л - была получена в опыте с 40 г руды при соотношении Т:Ж=1:5. В растворах с различным содержанием мышьяка были определены концентрации трехвалентного железа и численность бактерий. Контрольных вариантов в данных экспериментах не было, поскольку были использованы технологические растворы после биовыщелачивания, в которых всегда присутствовал мышьяк.

Результаты по накоплению трехвалентного железа представлены на рисунках 3.22 и 3.23, которые наглядно демонстрируют повышенную устойчивость ассоциативных культур к соединениям мышьяка.

Рисунок 3.22. Влияние концентрации соединений мышьяка на активность накопления трехвалентного железа ацидофильными монокультурами в процессе биовыщелачивания руды месторождения Большевик



1 – Ассоциация 1, 2 – Ассоциация 2

Рисунок 3.23. Влияние концентрации соединений мышьяка на активность накопления трехвалентного железа ассоциациями ацидофильных бактерий в процессе биовыщелачивания руды месторождения Большевик

Это может быть объяснено интенсификацией процесса накопления трехвалентного железа в ассоциативных культурах и, как результат, более интенсивное окисление токсиканта.

Сравнительные данные по влиянию мышьяка на численность бактерий в моно и смешанных вариантах приведены на рисунках 3.24, 3.25, 3.26.

Рисунок 3.24. Влияние концентрации соединений мышьяка на численность *A.ferrooxidans* в моно (1) и ассоциативной (2) культуре

Рисунок 3.25. Влияние концентрации соединений мышьяка на численность *A.caldulans* в моно (1) и ассоциативной (2) культуре

Рисунок 3.26. Влияние концентрации соединений мышьяка на численность *Acidiplasma sp.* в монокультуре (1), в ассоциации №1(2) и в ассоциации № 2 (3)

Как видно из представленных данных, все изученные культуры более успешны в ассоциативных вариантах. Причем, в случае с *Acidiplasma sp.* отмечены более высокие результаты в ассоциации с *A.caldulans* (рисунок 3.26).

Повышенную устойчивость смешанных культур к мышьяку можно объяснить более быстрой его детоксикацией из-за повышенной концентрации продуцируемого бактериями трехвалентного железа.

**3.3.6 Определение активности разрушения основных золотовмещающих минералов руды (арсенопирит, пирит)**

Заключение о разрушении основных золотовмещающих минералов арсенопирита и пирита были сделаны на основании уменьшения содержания в кеках таких элементов как железо, мышьяк и сера в процессе биовыщелачивания и химического выщелачивания, а также по результатам рентгенофазового анализа. По данным химико-аналитических исследований, представленных в таблице 3.11, наибольшее разрушение рудных минералов, содержащих одновременно железо, мышьяк и серу происходит именно при биовыщелачивании при использовании ассоциативных культур. Однако, при последующем химическом выщелачивании тиосульфатом содержание мышьяка в процентном выражении возрастает, что может быть следствием вторичного осаждения арсенопирита в процессе извлечения золота. Не исключено также увеличение относительного содержания этих элементов по мере извлечения золота.

Таблица 3.11 – Извлечение рудных элементов при биохимическом выщелачивании руды месторождения Большевик моно и смешанными культурами ацидофильных бактерий

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Варианты предварительного биовыщелачивания | Содержание элементов в кеках, % | | | | | |
| Биовыщелачивание | | | Химическое выщелачивание | | |
| Fe | As | S | Fe | As | S |
| *A.ferrooxidans* | 6,0 | 0,46 | 10,1 | 3,1 | 0,55 | 4,7 |
| *A.caldulans* | 4,15 | 0,33 | 7,42 | 3,97 | 0,67 | 5,58 |
| *Acidiplasma sp.* | 4,1 | 0,26 | 6,7 | 4,46 | 0,59 | 6,2 |
| Ассоциация 1 | 5,1 | 0,33 | 8,8 | 4,15 | 0,68 | 5,3 |
| Ассоциация 2 | 3,66 | 0,266 | 6,56 | 3,73 | 0,58 | 0,57 |
| Контроль (без предобработки) | - | - | - | 3,68 | 1,1 | 6,1 |

Исследование фазового состава в процессе биовыщелачивания и последующего химического выщелачивания представлены в таблицах 3.12 и 3.13. Более полные данные рентгенофазовых исследований представлены в приложениях. Как следует из таблицы 8 в процессе биовыщелачивания в пробах руды появляются промежуточные формы разложения пирита, такие как пирит-арсениан, пирит-куприан и ярозит, отсутствующие в исходной руде. Причем, ярозит в данном случае представлен в форме гидрониума, то есть содержит в своей структуре воду. Наибольшее количество такого ярозита отмечено в пробах руды, обработанных ассоциацией № 2.

Таблица 3.12 - Изменение фазового состава руды Большевик в процессе биовыщелачивания

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Варианты | Фазы, (S/Q, %) | | | | | |
| пирит-Cu | пирит-As | Пирит | Арсенопирит | арсеникум | ярозит-H2O |
| Исходная руда | - | - | 2,2 | 0,3 | 1,5 | - |
| После биовыщелачивания:  *A.ferrooxidans* | 4,2 | 3,1 | - | - | - | 10,9 |
| *A.caldulans* | 3,4 | 1,8 | - | - | - | 9,8 |
| *Acidiplasma sp.* | ? |  |  |  |  |  |
| Ассоциация 1 | 4,0 | 3,1 | - | - | - | 12,3 |
| Ассоциация 2 | 4,6 | - | - | - | - | 17,2 |

Дальнейшее извлечение золота с помощью тиосульфата несколько меняет фазовый состав руды. Хотя во всех пробах руды присутствует ярозит, однако гидратированная его форма в большей степени характерна для кеков биовыщелачивания. В кеке контрольного варианта наряду с гидратной формой ярозита присутствует обычный ярозит. Этот факт имеет практическое значение, поскольку гидратированный ярозит не осаждается в процессе переработки руды и не затрудняет ее дальнейший передел. Гематит, активно осаждающийся в процессе переработки руды, отмечен только в одной пробе моноварианта. Появление арсенопирита в некоторых пробах, скорее всего, связано с его вторичным осаждением в процессе тиосульфатного выщелачивания. Как правило, такой арсенопирит, также как и пирит – арсениан уже не содержат в своей структуре микроскопического золота. Отмечено также накопление фаилита, имеющего в своем составе ионы магния, железа и силиция, в большей степени характерного для контрольного варианта.

Таблица 3.13 - Фазовый состав руды Большевик после выщелачивания тиосульфатом

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Варианты  Предобработки | Фазы, (S/Q, %) | | | | | | |
| пирит-Cu | пирит-As | Арсенопирит | ярозит-H2O | Ярозит | Фаилит | гематит |
| *A.ferrooxidans* | 2,9 | - | 2,3 | 3,6 | - | 1,9 | - |
| *A.caldulans* | 3,2 | 2,2 | - | 4,3 | - | - | 1,9 |
| *Acidiplasma sp.* | 2,8 | 1,8 | 1,9 | 7,6 | - | - | - |
| Ассоциация 1 | 2,9 | - | 2,6 | 8,9 | - | - | - |
| Ассоциация 2 | 3,3 | 1,8 | - | 6,7 | - | 1,7 | - |
| Контроль (без предобработки) | 3,5 | 1,9 | - | 4,0 | 2,5 | 2,8 | - |

Таким образом, сравнительное изучение фазового состава в процессе биовыщелачивания и последующего тиосульфатного выщелачивания выявило преимущество использования ассоциированных культур для более глубокой переработки руды. Кроме того, наличие в пробах руды, обработанных ацидофильными бактериями, гидратированного ярозита, облегчает дальнейшую переработку руды, так как не засоряет ее осевшими окислами железа.

**3.4 Изучение рентгенофазового свойства золото-мышьяковистой руды месторождения Большевик после биовыщелачивания *Acidithiobacillus ferrooxidans***

Нами были изучены поведения состава руды в процессе агитационного выщелачивания золота. В работе впервые предлагается использовать значения рентгенофазового анализа в качестве критерия оценки полноты извлечения золота из собственных минералов. Руды территории Большевик содержат тонкодисперсное золото, распределенное, в основном, в тонкозернистых и глинисто-шламистых фракциях руды и ассоциированное с сульфидами металлов, породной частью руды – кварцем и минералом золота – алюминидом, трудноизвлекаемое широко распространенным цианидным способом, который, к тому же, характеризуется как экологически опасный метод. В связи с этим разработка экономически эффективной и экологически чистой комбинированной бесцианидной технологии переработки глинистых руд кор выветривания с тонкодисперсным золотом, к числу которых относятся руды территории Большевик, является актуальной научно-технологической задачей. Одним из современных методов определения фазового состава кристаллических тел является метод рентгенофазового анализа (РФА). В основу РФА положено явление дифракции рентгеновских лучей на кристаллической решетке. Для выполнения качественного и количественного фазового анализа используется современная рентгеновская аппаратура – рентгеновские дифрактометры, что позволяет проводить анализ быстро и с большой точностью.

Цель данной работы являлся комплексное минералого-геохимическое изучение золото-мышьковистой руды месторождения Большевик после бактериально-химического способа выщелачивания с помощью рентгенофазового анализа.

Научная новизна работы состоит в том, что с применением бактериально-химического метода выщелачивания образцов впервые полуколичественным рентгенофазовым анализом обнаружены минералы, встречающиеся в образцах золотосодержащих руд коры выветривания месторождения Большевик, такие как галлузит-10Å Al2Si2O5(OH)4·2H2O и иллит K0.75(H3O)0.25)Al2(Si3Al)O10 ((H2O)0.75(OH)0.25)2.

В качестве объекта исследования использовали руду золото-мышьяковистого месторождения Большевик, которые представлены сравнительно крупными зернами или их сростками. При подготовке к исследованию измельчали до состояния тонкого порошка с размерами обломков не более 20-40 мкм для того, чтобы получить как можно большее количество минеральных индивидов, которые будут взаимодействовать с рентгеновскими лучами во время эксперимента [1].

Рентгенодифрактометрических анализов проведен на автоматизированном дифрактометре ДРОН-3 с *Cu*К*α*  – излучением, *β*-фильтр (рис.1). Условия съемки дифрактограмм: *U*=35 кВ; *I*=20 мА; шкала: 2000 имп.; постоянная времени 2 с; съемка θ-2θ; детектор 2 град/мин [122].

.

Рисунок 3.27. Рентгеновский дифрактометр ДРОН-3

Рентгенофазовый анализ на полуколичественной основе выполнен по дифрактограммам порошковых проб с применением метода равных навесок и искусственных смесей. Определялись количественные соотношения кристаллических фаз. Интерпретация дифрактограмм проводилась с использованием данных картотеки ICDD: база порошковых дифрактометрических данных PDF2 (Powder Diffraction File) и дифрактограмм чистых от примесей минералов. Для основных фаз проводился расчет содержания. Возможные примеси, идентификация которых не может быть однозначной из-за малых содержаний и присутствия только 1-2 дифракционных рефлексов или плохой окристаллизованности [133].

Применяют характеристическое излучение, длина волны которого соизмерима с расстояниями между плоскими сетками кристаллической решетки минералов. При прохождении пучка параллельных рентгеновских лучей сквозь минеральный индивид (рис.3.28) имеет место явление дифракции электромагнитных волн: рентгеновские лучи, отраженные соседними параллельными сетками кристаллической решетки вещества, интерферируют. Интерферирующие лучи могут усиливать или гасить друг друга. В данном случае под дифракцией понимается явление сильного рассеяния волн на периодической решетке рассеивателя при определенных углах падения и длинах волн.

*2d ⋅ sinθ = nλ*

где *d* – расстояние между соседними кристоллографическими плоскостями, *м*; *θ -* угол, под которым наблюдается дифракция, град.; *n -* порядок дифракции; λ – длина волны монохроматических рентгеновских лучей, падающих на кристалл, м [154].

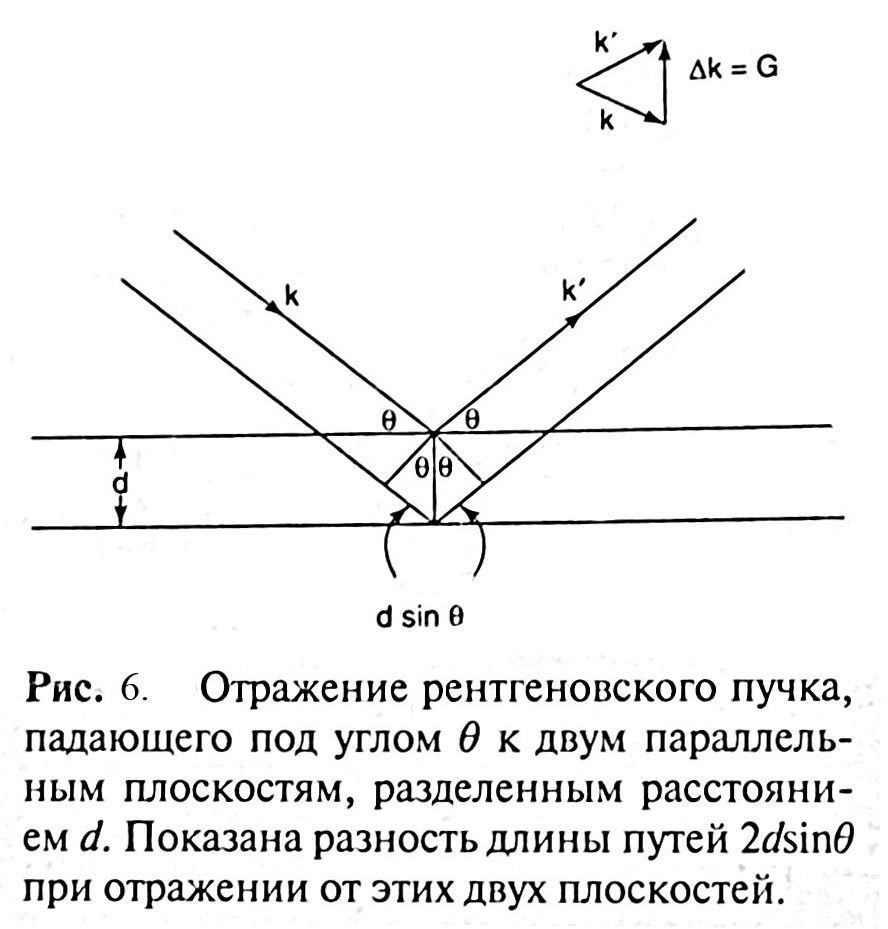


Рисунок 3.28. Дифракция рентгеновских лучей на атомных плоскостях кристаллического вещества

При рассеянии рентгеновского излучения, используемого в рентгенофазовом анализе, в котором в качестве рассеивателя выступает кристаллическая решетка фазы. При этом интенсивные пики рассеяния наблюдается тогда, как выполняется условия Вульфа – Брэгга [155].

В качестве объекта исследования выбрана золото-мышьяковистая руда коры выветривания территории Большевик (Восточно-Казахстанская область) (рис.3.29).

|  |  |
| --- | --- |
| D:\ФОТО\103NIKON\DSCN3484.JPG | D:\ФОТО\103NIKON\DSCN3487.JPG |

Рисунок 3.29. Выветренные руды золото-мышьяковистого месторождения «Большевик»

С целью извлечения золота из золото-мышьяковистой руды к бактериально-химическому выщелачиванию подвергали выветренную руду месторождения Большевик. Процесс выщелачивания проводился агитационным методом в лабораторных условиях с культурой бактерий *A.ferrooxidans,* крупность руды составлял 0,074 мм – 0,1 мм*.*

Рисунок 3.30. Принципиальная схема последовательности проведения опытов

Руда

Измельчение

Выщелачивание

Раствор Кек

Рентгенофазовый

анализ

После завершения процесса выщелачивания раствор отфильтровали, твердый кек в дальнейшем с целью изучения структурного состава, подвергался к рентгенодифрактометрическому анализу (рис.3.30).

По своей характеристике площадь месторождения Большевик сложена терригенно-осадочными породами каменноугольной системы, корами выветривания развитыми над ними и частично третичными и четвертичными отложениями. В лежачем боку Кызыловской зоны преимущественно развиты песчано-сланцевые отложения, а в висячем боку - полимиктовые разнозернистые песчаники верхней подтолщи алевролито-песчаниковой толщи (C,S2-C2b). В разрезе самой Кызыловской зоны смятия преобладают песчано-сланцевые отложения бакырчикской свиты (Сз).

После завершении процесса выщелачивания бактериального раствора отфильтровали, полученного твердого материала после выщелачивания подвергали к рентгенодифрактометрическому исследованию.

Было установлено, что исследуемая руда представлена, в основном, кварцем, и в небольших количествах – сфалеритом и слюдистыми минералами. Термическим анализом пробы верхних горизонтов руд обнаружены рудные минералы – пирит. Полуколичественным спектральным анализом пробы верхних горизонтов исследуемых руд определено содержание небольших количеств следующих элементов: золота, серебра, мышьяка, магния, натрия, титана; больших количеств железа, кремния и алюминия, что является косвенным свидетельством присутствия в рудах глинистых компонентов, при этом низкое содержание золота, видимо, связано с неравномерным его распределением.

По результатам полуколичественного рентгенофазового анализа подтвердилось наличие больших количеств железа, кремния и алюминия и обнаружено, что основную фазу исследуемой руды составляют кварц, мусковит, иллит (табл. 3.14).

В дифрактометре фиксируется кривая зависимости интенсивности дифракционной картины от угла отражения 2θ.  Начальную информацию о состоянии вещества получили из внешнего вида рентгеновских спектров.

Таблица 3.14 – Фазовый состав руды месторождений Большевик после биовыщелачивания *A.ferrooxidans*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Compound Name | Formula | S-Q |
| Quartz, syn | SiO2 | 70,0 |
| Hydronium Jarosite | (K0.84(H3O)0.16)Fe2.73(SO4)2((OH)5.19(H2O)0.81) | 10,9 |
| Pyrite, cuprian, syn | (Cu 0.4 Fe 0.6)S2 | 4,2 |
| Iron Titanium Oxide | FeTiO3 | 3,2 |
| Pyrite, arsenian | Fe(S0.99 As 0.01 )2 | 3,1 |
| Halloysite-10 anstrom | (OH)8Al2Si2O3 | 2,3 |
| Muscovite-1M, syn | KAl2Si3AlO10(OH)2 | 2,2 |
| Chloritoid-M | FeAl2SiO5(OH)2 | 2,1 |
| Illite | K(AlFe)2AlSi3O10(OH)2·H2O | 2,1 |

Хорошо окристаллизованный и однородный по параметрам решетки материал дает узкие и высокие дифракционные пики, плохо окристаллизованный неоднородный материал - широкие и низкие (рис. 3.31).





Рисунок 3.31. Рентгенограмма руды месторождения Большевик после биовыщелачивания культурой бактерий *A.ferrooxidans*

По результатам химического анализа проб исследуемой руды выявлены высокое содержание кварца; наличие больших количеств глинозема, оксидов калия и магния, что также указывает на присутствие слюдистых минералов или глинистых компонентов.

Содержание золота достаточно высокое в окисленных рудах, а его невысокие содержания в сульфидных рудах, не соответствующие результатам ранее проведенных анализов, свидетельствуют о неравномерном характере его распределения в рудах. При изучении физико-механических свойств исследуемой руды обнаружены свойства, свидетельствующие об ее упорности. Это высокое содержание фракции «-0,044 мм», следовательно, шламистых частиц, низкий коэффициент фильтрации.

**3.5 Изучение влияния абиотических факторов на культуру бактерий *A.ferrooxidans* TFV и TFBK**

**3.5.1 Влияние температуры на окисление двухвалентного железа культурой бактерий *A.ferrooxidans* TFV и TFBK**

Так как *Acidithiobacillus ferrooxidans* является облигатным автотрофом, может использовать в качестве единственного источника энергии двухвалентное железо, то о влиянии температуры на физиологическую активность культуры бактерии *A.ferrooxidans* TFV и TFBK судили по скорости окисления ими двухвалентного железа. При проведении опытов в среды инокулировали примерно 107 кл/мл каждого культуры бактерии.

|  |  |
| --- | --- |
| А | Б |

Рисунок 3.32. а – аппарат преназначенный для активации штаммов бактериальной клетки, б – активированные культуры

На рисунке 3.33 показано влияние температуры на окисление железа изучаемыми, культурой бактерии *A.ferrooxidans*. Приведенные данные демонстрируют, что культуры бактерии практически не отличаются друг от друга по оптимальным значениям температуры. Для двух культурой бактерии оптимальным являлся интервал 30-32оС, где железо окислялось обоими микроорганизмами быстрее всего. При этом при 25 и 35оС железо окислялось незначительно медленнее. При 40°С окислительная активность в обоих случаях практически отсутствовала. Интересным является тот факт, что при 37оС культуры бактерии TFBK окислял железо с крайне незначительной скоростью (концентрация Fe2+ снизилась за 2,0 суток опыта с 7.7 г/л до 6.7 г/л), тогда как скорость окисления железа при 37оС культурой бактерии TFV была незначительно ниже, чем при 25оС (за двое суток опыта концентрация железа снизилась до 1.4 г/л).

|  |  |
| --- | --- |
| F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 2 а.png | F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 2 б.png |

Рисунок 3.33**.** Окисление двухвалентного железа культурой бактерии *A.ferrooxidans* TFV и TFBK при разных температурах.

*Примечание:* а – изменение концентрации двухвалентного железа в среде в процессе его окисления культурой бактерии TFV; б – изменение концентрации двухвалентного железа в среде в процессе его окисления культурой бактерии TFBK

Полученные результаты согласуются с ранее полученными данными [133] о том, что культуры бактерии *A.ferrooxidans* могут различаться между собой по верхнему пределу температуры роста: некоторые культуры бактерии являются термотолерантными и могут расти даже при температурах около 40оС, другие не выдерживают температур выше 35–37оС. Влияние концентрации хлорида натрия на окисление двухвалентного железа и элементной серы.

На рис. 3.34. показано влияние концентрации NaCl в среде на окисление железа изучаемыми культурами бактерии *A. ferrooxidans*. Приведенные данные демонстрируют, что NaCl ингибирует окисление железа обоими культурой бактерии. При этом в обоих случаях концентрации 0.5 г/л и 1,0 г/л ингибируют окисление железа незначительно. Культуры бактерииTFV при концентрации NaCl 5,0 г/л начал активно окислять железо после первой сут лаг-фазы, а скорость окисления была значительно ниже, чем при меньших концентрациях NaCl (после шесть суток окисления при концентрации NaCl 0,5 г/л и 1,0 г/л в среде оставались следовые концентрации двухвалентного железа, а при 5,0 концентрации NaCl 5,0 г/л – 1,8 г/л Fe2+). При концентрации NaCl 10,0 г/л скорость окисления железа была еще более низкой (после шестой сутки окисления в среде оставалось 5,0 г/л Fe2+). При концентрации NaCl 20,0 г/л железо окислялось с незначительной скоростью (примерно 0,5 г/л за шесть сут). Окисление железа культурой бактерии TFBK ингибировалось NaCl в меньшей степени. При концентрации NaCl 5,0 г/л скорость окисления была незначительно ниже, чем при меньших концентрациях NaCl (после трое сутки окисления при концентрации NaCl 0, 0,5, 1,0 и 5,0 г/л в среде оставались следовые концентрации двухвалентного железа). При концентрации NaCl 10,0 г/л скорость окисления железа была значительно ниже, чем при меньших концентрациях NaCl, но все равно достаточно высокой (после 3 суток окисления в среде оставалось примерно 5,0 г/л Fe2+). При концентрации NaCl 20,0 г/л железо окислялось с незначительной скоростью, но намного быстрее, чем культурой бактерии TFV (было окислено примерно 2,0 г/л за 6 суток).

|  |  |
| --- | --- |
| F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 3 а.png | F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 3 б.png |

Рисунок 3.34. Окисление двухвалентного железа культурой бактерии *A.ferrooxidans* TFV и TFBK в присутствии различных концентраций NaCl

*Примечание:* а – изменение концентрации двухвалентного железа в среде в процессе его окисления культурой бактерии TFV; б – изменение концентрации двухвалентного железа в среде в процессе его окисления культурой бактерии TFBK

На рис. 3.35 показано влияние концентрации NaCl в среде на окисление серы изучаемой культурой бактерии *A.ferrooxidans*. Приведенные данные демонстрируют, что NaCl ингибирует окисление серы двумя культурами бактерий при высоких концентрациях (10,0-20,0 г/л). При этом в обоих случаях при концентрации 0.5 г/л и 1,0 г/л окисление серы происходило с более высокой скоростью, чем при отсутствии NaCl в среде. Окисление серы культурой бактерии TFV заметно ингибировалось только при концентрации NaCl 20,0 г/л (скорость окисления была значительно ниже, чем при меньших концентрациях NaCl, но окисление не было ингибировано полностью – за 6 сут концентрация сульфата возросла с 40 мМ до 80 мМ). При концентрации NaCl 10 г/л скорость окисления серы была незначительно ниже, чем при 5,0 г/л и в отсутствии NaCl в среде.

Окисление серы культурой бактерии TFBK ингибировалось NaCl в большей степени. При концентрации NaCl 10,0 г/л скорость окисления была значительно ниже, чем при меньших концентрациях NaCl (после 6 суток окисления при концентрации NaCl 0,0 и 5,0 г/л в среде было около 130 мМ сульфата, а при концентрации 10,0 г/л – примерно 100 мМ). Окисление серы культурой бактерии TFBK заметно ингибировалось при концентрации NaCl 20,0 г/л, но также как и в случае культуры бактерии TFV не было ингибировано полностью – за шесть суток концентрация сульфата возросла с 40 мМ до 80 мМ.

|  |  |
| --- | --- |
| F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 4 a.png | F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 4 б.png |

|  |  |
| --- | --- |
| F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 4 в.png | F:\ОТЧЕТ 2015\статья 2015 мос\рис 4 г.png |

Рисунок 3.35. Окисление элементной серы культурой бактерии *A.ferrooxidans* TFV и TFBK в присутствии различных концентраций NaCl

*Примечание:* а – изменение рН среды в процессе окисления серы культурой бактерии TFV; б – изменение рН среды в процессе окисления серы культурой бактерии TFBK; в – изменение концентрации сульфатов в среде в процессе окисления серы культуры бактерии TFV; г – изменение концентрации сульфатов в среде в процессе окисления серы культурой бактерии TFBK

Таким образом, можно утверждать, что окисление культурой бактерии серы подавлялось хлоридом натрия в меньшей степени, чем окисление двухвалентного железа. Это соответствует полученным ранее данным [34] о том, что окисление железа культурой бактерии *A.ferrooxidans* подавляется хлоридом в более низких концентрациях, чем окисление серы. В целом, полученные данные демонстрируют, что изученные культуры бактерии несколько более устойчивы к NaCl, чем некоторые изученные ранее представители вида, например рост типовой культуры бактерии *A.ferrooxidans* DSM 14882T [35] значительно ингибировался 3,5 г/л NaClи полностью подавлялся при концентрации 7 г/л NaCl. Различия в ингибировании окисления разных субстратов разной культурой бактерии одними и теми же концентрациями NaCl может объясняться различиями в составе и структуре мембранных белков – компонентов ЭТЦ окисления разных неорганических субстратов (известно, что у *A.ferrooxidans* ЭТЦ окисления железа и серы состоят из разных компонентов). В работе [36] показано, что культуры бактерии рода *Acidithiobacillus* могут различаться особенностями компонентов ЭТЦ несмотря на филогенетическую близость.

Анализ результатов, полученных в данном исследовании, и сопоставление их с результатами других исследователей, позволяет сделать вывод о приспособленности вида *A.ferrooxidans* к широкому диапазону условий.

Можно говорить о возможности использования культуры бактерии вида в технологических процессах при недостатке пресной воды, так как культуры бактерии оказались устойчивы к весьма высоким концентрациям хлорида натрия.

**Изучение физиологических свойств.** Влияние температуры на рост микроорганизмов изучали на среде 9K. Исследование окисления культуры бактерии элементарной серы проводили на среде того же, но содержащую в качестве, источника энергии элементную серу вместо сульфата железа (10 г/л). При посеве на среду с элементной серой добавляли на 100 мл среды 0,1 мл раствора микроэлементов следующего состава: FeCl3⋅6H2O – 11,0 мг, CuSO4⋅ 5H2O – 0,5 мг, H3BO3 – 2,0 мг, MnSO4⋅H2O – 2,0 мг, NaMoO4⋅ 2H2O – 0,8 мг, CoCl2⋅6H2O – 0.6 мг, ZnSO4⋅7H2O – 0.9 мг, дистиллированная вода – 10 мл. Значение pH доводили 10NH2SO4 до 4 – 2,5 при росте на S0, до 1,7 – 1,8 при росте на Fe2+. При исследовании устойчивости микроорганизмов к различным концентрациям хлорида натрия его добавляли в среду в необходимой концентрации. Определение концентрации ионов двух- и трехвалентного железа проводилось методом комплексометрического титрования [149], сульфат-ионов турбидиметрическим методом [158].

Все приводимые в работе цифровые значения параметров роста получены в двух независимых опытах, выполненные с двумя повторениями.

**Анализ филогенетического положения микроорганизмов** с помощью секвенирования гена *16S рРНК.* Амплифицировали и секвенировали гены *16S рРНК,* используя универсальные для большинства прокариот праймеры [13]. Амплификацию проводили на приборе «Cetus 480», «PerkinElmer», Швеция с применением термостабильной ДНК-полимеразы «BioTaq» («Диалат ЛТД», Москва), согласно рекомендациям фирмы-производителя. После очистки продуктов ПЦР на легкоплавкой агарозе и на колонках «Promega», США проводили, секвенирование фрагментов генов 16S рРНК, используя набор «SilverSequencing», («Promega», США) согласно рекомендация фирмы-производителя. Первичный анализ сходства полученных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК проводили с помощью сервера BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast). Выравнивание последовательностей с соответствующими последовательностями ближайших видов бактерий и построение филогенетического дерева исследуемых бактерий осуществляли с помощью пакета программ *ClustalW2* и *TreeDyn* [141].

**Анализ состава микробного сообщества.** Видовой состав инокулята и микробных сообществ, сформировавшихся в процессе выщелачивания, проводили с помощью ДГГЭ. Пробы пульпы для анализа отбирали после 35 суток с момента начала экспериментов. ДНК из образцов выделяли и очищали по стандартным методикам, описанным в работе [159, 160]. Реакцию амплификации проводили в 20 мкл смеси, содержащей однократный реакционный буфер фирмы «Evrogen», 200 мкг каждого дезоксирибонуклеотид-трифосфата, соответствующее количество каждого праймера, 1 ед. активности Taq ДНК полимеразы (Evrogen, Россия) и 1,0 мкл раствора матричной ДНК в концентрации 1-10 нг. Для амплификации использовались праймеры Univ515F 5'-GTGBCAGCMGCCGCGGTA-3' (универсальный) и Bac907R 5'-CCGTCAATTCMTTTGAGTTT-3' (бактериальный) или Arch915R 5'-GTGCTCCCCCGCCAATTCCT-3' (архейный). Температурную программу подбирали экспериментально, основываясь на стандартном протоколе ПЦР. Перед проведением анализа DGGE к полученным ампликонам добавлялся участок, богатый Г+Ц нуклеотидами, для чего проводилась реамплификация с праймерамом, содержащими так называемый Г+Ц-кламп, состоящий из 40 нуклеотидов:515FGCclamp5'CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGTCCCGCCGCCCCCGCCCGGTGBCAGCMGCCGCGGTAAВ-3'. Во всех экспериментах в качестве одного из отрицательных контролей использовали реакцию без добавления ДНК. Амплификацию проводили на многоканальном ДНК-амплификаторе Терцик (“ДНК-технология”, Россия). Продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле. Полученные с помощью ПРЦ ампликоны разделялись на основании характеристики их плавления в 8% (по объему) полиакриламидном геле с относительным градиентом концентрации денатурирующих агентов от 30% до 70%. В данной работе использовали прибор TV400-DGGE (SCIE-PLAS, Англия). Электрофорез проводили при постоянном напряжении 70 В и температуре 60°C в течение 20 часов. После электрофореза гель промывали бидистиллированной водой и затем окрашивали SYBR® Gold (Molecularprobes, Лейден, Нидерланды) в течение 40 мин. в темноте. После окрашивания гель визуализировали на трансиллюминаторе при длине волны 470 нм и нужные полосы вырезали для дальнейшего анализа. Полосы из геля помещали в пробирки, содержащие 20 мкл дистиллированной воды, и оставляли в холодильнике на ночь для элюирования ДНК из геля. Элюат в количестве 1мкл использовался в качестве матрицы для проведения ПЦР с соответствующими праймерами, продукты реамплификации чистили электрофорезом в 1,5% агарозном геле, ДНК из которого вырезали и чистили с помощью набора для очистки ДНК из геля и реакционных смесей (Цитокин, Россия).

**Секвенирование** проводилось на фирменном приборе марки «Evrogen» по методу Сэнгера [16]. Первичный анализ сходства полученных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК проводили с помощью сервера BLAST [17]. Выравнивание последовательностей и построение филогенетического дерева, исследуемых бактерий осуществляли с помощью пакета программ MEGA 6 [18].

**Проведение генетической идентификации культуры бактерии микроорганизмов.** Идентификация 3-х культур бактерий (таблица 3.15) была осуществлена методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента *16S rRNA* гена, с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных GeneBank, а также построением филогенетических деревьев с нуклеотидными последовательностями референтных культуры бактерии.

Таблица 3.15 - Наименование культуры бактерии в различных средах и образцах

|  |  |
| --- | --- |
| Бактериальные культуры | |
| № п/н | Наименование культуры бактерии |
| 1 | Среда 1 - образец 1 |
| 2 | Среда 1 - образец 2 |
| 3 | Среда 1 - образец 2 |

Амплификация фрагмента 16S rRNA гена. Реакция ПЦР была выполнена с универсальными праймерами [1] 8f 5’ – AgAgTTTgATCCTggCTCAg-3 и806R- 5’ ggACTACCAgggTATCTAAT в общем объеме 30 мкл. ПЦР смесь содержала 25 нг. ДНК, 1Ед. Maxima Hot Start Taq DNA Polymerase (Fermentas), 0,2 mM каждого дНТФ, 1-х ПЦР буфер (Fermentas), 2,5 mM MgCl2, 10 п моль каждого праймера. Программа ПЦР амплификации включала длительную денатурацию 95°С в течение 5 минут; 30 циклов: 95°С – 30 секунд, 55°С- 40 секунд, 72°С – 50 секунд; заключительная элонгация 10 минут при 72°С, ПЦР программа была выполнена с применением амплификатора GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). Результаты ПЦР амплификации приведены на рисунке 3.36.

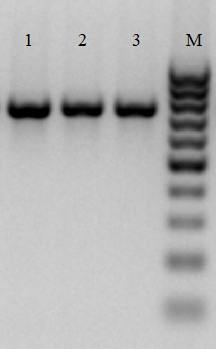


Рисунок 3.36. Электрофореграмма ПЦР продуктов амплификации фрагмента 16S rRNA гена ДНК.

*Примечание:* обозначения: (1-3) образцы, нумерация согласно п/н; (М) маркер молекулярного веса (Fermentas) (100 – 10000 п.н., от 100-1000 шаг 100 п.н.), (К) отрицательный контрольный образец

Как видно на рисунке 3.36 у всех 12 образцов были амплифицированы специфические фрагменты молекулярной массой около 800 п.н. Определение нуклеотидной последовательности. Очистку ПЦР продуктов от не связавшихся праймеров проводили, ферментативным методом используя, ExonucleaseI (Fermentas) и щелочную фосфатазу ([Shrimp Alkaline Phosphatase](http://www.fermentas.com/catalog/modifyingenzymes/shrimpalcphosph.htm), Fermentas).

Реакцию секвенирование проводили с применением BigDye® Terminator v 3.1 CycleSequencingKit (ApplideBiosystems) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730xlDNAAnalyzer (ApplideBiosystems)

Анализ нуклеотидных последовательностей. Нуклеотидные последовательности были анализированы и объединены в общую последовательность в программном обеспечении SeqMan (DNAStar). После чего были удалены концевые фрагменты нуклеотидной последовательности праймеров, фрагменты, имеющие низкий показатель качества. Полученные последовательности были идентифицированы в GeneBank по алгоритму BLAST. Результаты приведены в таблице 3.16.

Дополнительно были построены филогенетические деревья споследовательностями депонированными в международной базе данных GeneBank. Для построения филогенетических деревьев использовали программное обеспечение - Mega 5. Использовали, алгоритм ClustalW для выравнивания нуклеотидных последовательностей построение древ проводили с использованием метода присоединения ближайших соседей (Neiighbor-JoiningNJ).

Принимая во внимание литературные данные [18] свидетельствующие о наличие в международных банках нуклеотидных последовательностей GeneBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), Ribosomal Database Project (RDP-II) http://rdp.cme.msu.edu/html/) ошибок. Мы дополнительно проводили построение филогенетических деревьев с нуклеотидными последовательностями *16S rRNA* гена референтных культуры бактерии данных видов (http://www.bacterio.net). В анализ были включены нуклеотидные последовательности *16S rRNA* гена, филогенетически наиболее связанных микроорганизмов.

Для построения филогенетических деревьев использовали программное обеспечение - Mega 3.1 [18]. Использовали алгоритм *ClustalW* для выравнивания нуклеотидных последовательностей, построение древ проводили с использованием метода.

Результаты генетической идентификации бактериальных культур. Результаты идентификации бактериальных культур на основании анализа фрагмента нуклеотидной последовательности *16S rRNA* гена по алгоритму BLAST приведены в таблице 3.16.

Таблица 3.16 - Результаты идентификации методом анализа нуклеотидной последовательности гена *16S rRNA*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Наименование культуры бактерии | Последовательность фрагмента *16S r RNA* гена | Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных алгоритм BLAST | | |
| Инвентар. № GeneBank | Наименование культ.бакт. | %  совпад. |
| Среда 1-образец 1 | gatgctgacgagtggcggacgggtgagtaatgcgtaggaatctgtcttttagtgggggacaacccagggaaacttgggctaataccgcatgagccctgagggggaaagcgggggatcttcggacctcgcgctaagagaggagcctacgtccgattagctagttggcggggtaaaggcccaccaaggcgacgatcggtagctggtctgagaggacgaccagccacactgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtggggaatttttcgcaatgggggcaaccctgacgaagcaatgccgcgtggatgaagaaggccttcgggttgtaaagtcctttcgtggaggacgaaaaggtgggttctaatacaatctgctattgacgtgaatccaagaagaagcaccggctaactccgtgccagcagccgcggtaatacggggggtgcaagcgttaatcggaatcactgggcgtaaagggtgcgtaggcggtacgttaggtctgtcgtgaaatccccgggctcaacctgggaatggcggtggaaaccggtgtactagagtatgggagagggtggtggaattccaggtgtagcggtg | KY923140.1 | *Acidithiobacillus ferrooxidans* | 100 |
| Среда 1- образец 2 | cacgggcagggcaacctgtcagtggcggacgggtgagtaacgcgtaggaatctatccttgggtgggggacaaccgtgggaaactacggctaataccgcatgatccctgaggggcaaaggcgaaagtcgcctgaggaggagcctgcgtctgattaggtagttggtggggtaaaggcctaccaagcctgcgatcagtagctggtctgagaggatgatcagccacactgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtggggaatattggacaatgggcgaaagcctgatccagcaatgccgcgtggatgaagaaggtcttcggattgtaaagtccttttggcggggacgatgatgacggtacccgcaraataagctccggctaacttcgtgccagcagccgcggtaatacgaagggggctagcgttgctcggaatgactgggcgtaaagggcgcgtaggcggacggcacagtcaggcgtgaaattcctgggctcaacctggggactgcgtctgagacgtgttgtcttgagtatggaagagggttgtggaatttccagtgtagaggtgaaattcgtagatattggaaagaacaccggtggcgaaggcggcaacct | KP208176.1 | *Acidiphilium cryptum* | 99 |
| AP012035.1 | *Acidiphilium multivorum* | 99 |
| AB006712.1 | *Acidiphilium multivorum* | 99 |

Продолжение таблицы 3.16

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Среда 1- образец 7 | Cacgggcagggcaacctgtcagtggcggacgggtgagtaacgcgtaggaatctatccttgggtgggggacaaccgtgggaaactacggctaataccgcatgatccctgaggggcaaaggcgaaagtcgcctgaggaggagcctgcgtctgattaggtagttggtggggtaaaggcctaccaagcctgcgatcagtagctggtctgagaggatgatcagccacactgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtggggaatattggacaatgggcgaaagcctgatccagcaatgccgcgtggatgaagaaggtcttcggattgtaaagtccttttggcggggacgatgatgacggtacccgcagaataagctccggctaacttcgtgccagcagccgcggtaatacgaagggggctagcgttgctcggaatgactgggcgtaaagggcgcgtaggcggacggcacagtcaggcgtgaaattcctgggctcaacctggggactgcgtctgagacgtgttgtcttgagtatggaagagggttgtggaatttccagtgtagaggtg | KP208176.1 | *Acidiphilium cryptum* | 100 |
| AP012035.1 | *Acidiphilium multivorum* | 100 |



Рисунок 3.37. Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента гена *16S rRNA рода Acidiphilium и Acidithiobacillus*

Как видно на рисунке 3.37, образец «среда 1 образец 1» расположен на одной ветке с *Acidithiobacillus ferrooxidans,* образцы «среда 1 образец 2» и «среда 1 образец 3» расположен на одной ветке с *Acidiphilium cryptum.* Учитывая максимальный процент совпадения анализируемой последовательности в международной базе данных по алгоритму BLAST, а также результатов филогенетического анализа установлено, что образец «среда 1 образец 1» является *Acidithiobacillus ferrooxidans, а* образцы «среда 1 образец 2» и «среда 1 образец 3» идентифицированы как *Acidiphilium cryptum.*

На основании анализа 16S rRNA было установлено таксономическое положение идентифиицруемых культурой бактерии: царство - *Bacteria*, тип - *Proteobacteria,* класс - *Acidithiobacillia*, порядок - *Acidithiobacillales*, семейство - *Acidithiobacillaceae*, род - *Acidithiobacillus,* вид *- Acidithiobacillus ferrooxidans.*

**3.5.2 Демэкология аоссоциативных культур *Aсidithiobacillus ferrooxidans* и способы получения эффективных культур бактерий**

Анализируя данные по численности и активности изученных групп бактерий можно сделать вывод о том, что на исследованных месторождениях деятельность основных возбудителей окислительно-восстановительных процессов невелика, в связи, с чем по данным рентгенофазового анализа находки окисленных фаз в рудах редки. Учитывая, что в рудах исследованных месторождений хемолитотрофные бактерии групп *Leptospirillum* и *Sulfolobu*s присутствуют в достаточном количестве, лабораторная ассоциативная культура была ограничена двумя видами хемолитотрофных бактерий. Это значительно упрощает наращивание значительных объемов популяции бактерий в производственных условиях, поскольку совместное длительное культивирование более двух видов бактерий сопряжено с определенными трудностями и неизбежно ведет к потере ценных видов бактерий. Для интенсификации процессов разрушения пирита и арсенопирита, основных золото вмещающих минералов, необходимо интенсифицировать деятельность хемолитотрофных бактерий по разрушению вышеназванных минералов. Для этой цели были осуществлены следующие мероприятия:

1 - пересев и очистка основного окислителя железа - *Aсidithiobacillus ferrooxidans* на среде Сильвермана и Лундгрена 9К;

2 – адаптация лабораторной культуры *Aсidithiobacillus ferrooxidans* к повышенному содержанию двухвалентного железа в среде (25,0-35,0 г/л);

3 - подсев к активизированному *Aсidithiobacillus ferrooxidans* энергичного окислителя железа *- Acidiplasma sp;*

4 – адаптация ассоциативной культуры к режиму совместного культивирования.

Данная последовательность активизации смешанной популяции хемолитотрофных бактерий была разработана после анализа их индивидуальных особенностей. Установлено, что бактерии *Aсidithiobacillus ferrooxidans* хорошо приспосабливаются к лабораторным условиям культивирования, быстро выделяются в индивидуальную популяцию, что сопровождается активизацией их окислительных способностей. Дополнительная адаптация культуры к повышенному содержанию металлов в среде усиливает их конкурентоспособность. Бактерии *Acidiplasma sp.* характеризуются отсутствием клеточной стенки, присущей грамотрицательным бактериям, что делает их монокультуры уязвимыми в реакционных средах. Однако, при их совместном культивировании с *A.Ferrooxidans* их жизнеспособность усиливается, активизируется также их деятельность как окислителей металлов. Возможно, происходит их адсорбция на клеточных стенках *A.ferrooxidans*, что и способствует их активизации. При этом, на наш взгляд важно использовать уже чистую и активизированную культуру полноценных хемолитотрофных бактерий. В противном случае не удается получить смешанную культуру, обладающую повышенной окислительной способностью. Используя разработанную схему получения ассоциативной популяции бактерий, удалось достичь следующих результатов:

- в процессе последовательных пересевов хемолитотрофных бактерий *A.ferrooxidans* на среде 9К все выделенные 14 культуры бактерии были очищены, в результате чего их численность взросла до 106кл/мл, а активность составила 5,0-6,0 г/лFe3+ за трое суток культивирования;

- после двухнедельной адаптации к повышенному содержанию железа в среде 9К численность бактерий взросла до 107кл/мл, активность составила 7,0-9,0 г/л Fe3+ за трое суток культивирования, наилучшие показатели были у культуры бактерии TFV и TFBK, выделенного из руды месторождения Бестобе;

- к активизированной культурой бактерии TFV и TFBK *A.Ferrooxidans* подсеяли хемолитотрофные бактерии *Acidiplasma sp*. Первоначально культивирование ассоциированных культур осуществляли на стерильной среде 9К с добавлением 0,02% дрожжевого экстракта при температуре 28-30 °С;

- в течение последующих 20 суток культивирования смешанной популяции хемолитотрофных бактерий с регулярным пересевом через каждые трое суток была получена устойчивая ассоциативная культура, способная в течение суток накапливать до 1010 кл/мл и активностью окисления двухвалентного железа до 10,0-12,0г/л. Температурный оптимум культуры был повышен до 40°С.

Таким образом, был разработан способ получения ассоциативных культур, выделенных из ряда месторождений Казахстана, где была получена устойчивая популяция умеренно термофильных *Aсidithiobacillus ferrooxidans* и *Acidiplasma sp*.*,* характеризующаяся повышенной скоростью роста и окисления двухвалентного железа.

Учитывая, что руды исследованных месторождений отличаются специфической упорностью, была также получена смешанная культура № 2, состоящая из *Aсidithiobacillus acidocaldulans* и *Acidiplasma sp*. Бактерии *Aсidithiobacillus acidocaldulans* были выделены в России и в течение месяца методом последовательных пересевов адаптированы к повышенному содержанию металлов в среде. Ассоциативная культура № 2 была получена вышеописанным способом. Дальнейшие эксперименты проводились с двумя ассоциациями в сравнительном плане.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

По результатам выполненной работы сделаны следующие выводы:

1. Выявлено частота встречаемости в процессе последовательных пересевов хемолитотрофных бактерий *A.ferrooxidans* на среде 9К Сильвермана и Лундгрена. Установлены, что все выделенные 14 культуры бактерии были очищены, в результате чего их численность увеличилась до 106кл/мл, а активность составила 5,0-6,0 г/л Fe3+ за трое суток культивирования. После двухнедельной адаптации к повышенному содержанию железа в среде 9К численность бактерий возросла до 107 кл/мл, активность составила 7,0-9,0 г/л Fe3+ за трое суток культивирования, наилучшие показатели были у культуры бактерии TFV и TFBK, выделенного из руды месторождения Бестобе. К активизированной культурой бактерии TFV и TFBK *A.ferrooxidans* подсеяли хемолитотрофные бактерии *Acidiplasma sp*.

2. Установлена сезонная динамика микробоценозов золотоносных месторождений, а также их температурная зависимость окружающей среды. Выявлено, что повышение температуры значительно интенсифицирует как биохимические, так и химические процессы извлечения золота из руды месторождения Большевик. Оптимальным для биохимического тиосульфатного выщелачивания следует считать 20-30°С, при этом продолжительность процесса может быть сокращена до 8-12 часов.

3. Разработан способ получения ассоциативных культур, выделенных из ряда месторождений Казахстана и получена устойчивая популяция умеренно термофильных *Aсidithiobacillus ferrooxidans* и *Acidiplasma sp*.*,* характеризующаяся повышенной скоростью роста и окисления двухвалентного железа. По окончании эксперимента концентрация *Acid.ferrooxidans* в растворе оказалась 109 кл/мл, что в 1000 раз превысило исходное содержание "живого вещества".

4. Установлено, что активизация *A.plasma*, является ключевым процессом биоокисления сульфидных руд, которые тесно связаны с активизацией бактерий из рода *Acidithiobacillus*. Оптимальным для технологии биохимического выщелачивания золота является плотность пульпы 33,3% при классе измельчения 0,074 мм.

5. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования ассоциаций хемолитотрофных бактерий, выделенных непосредственно на месторождении для биовыщелачивания упорных руд с последующим выщелачиванием благородных металлов при переработке руд месторождений Восточного Казахстана улучшения экологический среды.

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Материалы диссертационной работы внедрены и используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедрах химии и биологии естественно-технического факультета Жетысуского государственного университета им. И.Жансугурова по курсам: «Основы микробиологических исследований».

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Канаев А.Т. Роль микроорганизмов на объектах кучного выщелачивания урана и возможности их участия в окислительных процессах [Текст] / А.Т. Канаев, Т.К. Бекбауов, С.С. Нуркеев, З.К. Канаева, К.А. Макатаева, М.Р. Камалов // Известия НАН РК, серия биологическая и медицинская, Алматы, 2007, №2.
2. Биотехнология переработки техногенных образований ОАО «Алмалыкский ГМК» [Текст] / А.М. Мавжудова, Г.В. Черкасова, С.И. Борминский [и др.] // Материалы семинара «Проблемы переработки минерального сырья Узбекистана». – Ташкент, 2005. – С. 3-5.
3. Холматов, М.М. Проблемы переработки техногенных отходов [Текст] / М.М. Холматов, В.П. Калинин // Горн. вестн. Узбекистана. – 2003. – № 4. – С. 10-11.
4. Опытно-промышленные испытания технологии подземного выщелачивания урана с использованием микроорганизмов [Текст] / Л.И. Зайнетдинова, С.И. Кунакова, А.П. Хужакулов [и др.] // Международный конгр. «Биотехнология: Состояние и перспективы развития», Москва, 14-18 марта 2005. – М., 2005. – С. 235.
5. Санакулов, К.С. Проблемы и практика комплексной переработки медно-молибденовых руд на Алмалыкском горнометаллургическом комбинате на современном этапе [Текст] / К.С. Санакулов // Материалы семинара «Проблемы переработки минерального сырья Узбекистана». – Ташкент, 2005. – С.45.
6. Камалов, М.Р. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд Казахстана [Текст]: моногр. / М.Р. Камалов. – Алма-Ата: Наука,1990. – 183 с.
7. Опыт биовыщелачивания золотосодержащих руд месторождения Марджанбулак [Текст] / С.И. Куканова, Л.И. Зайнитдинова, Г.С. Саттаров [и др.] // Материалы семинара «Проблемы переработки минерального сырья Узбекистана». – Ташкент, 2005. – С. 18-19.
8. Kravchenko, I. Activity and species composition of methane-oxidizing communities in sphagnum bog [Text] / I. Kravchenko,S. Bykova, V. Galchenko // 8th International Symp. on Biogeochem. of Wetlands. – Gent; Belgium, 14-17 September, 2003. – P.76.
9. Совершенствование технологии извлечения меди из медьсодержащих промышленных растворов [Текст] / И.В. Шадрунова, Е.А. Емельяненко, Н.Н. Старостина [и др.] // Горн. информ.-аналит. бюл. –2001. – № 2. – С. 7-9.
10. Канаев, А.Т. Влияние ионного состава сернокислотных растворов на окислительную активность штаммов бактерий Acidithiobacillus ferrooxidans [Текст] / А.Т. Канаев, Р.А. Хамуда, М.Р. Камалов, З.К. Канаева // Журн. Современный научный вестник, Сборник трудов международной н.-пр.-конференции. – Белгород, - №3, 2009. – С. 55-61.
11. Caldithrix abyssi gen. nov., sp. nov., a nitrate-reducing, thermophilic, anaerobic bacterium isolated from a Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent, represents a novel bacterial lineage [Text] / M.L. Miroshnichenko, N.A. Kostrikina, N.A. Chernyh [et al.] // Intern. J. of Systematic and Evolutionary Microbiol. – 2003. – № 53, part 1. – Р. 323-329.
12. Emission and activity of microbial corrosion cenosis of transported water “astrakhan-mangyshlak” on the region of settlement beyneu (652 km) [Текст] / Kanaev A.T., Kanaeva Z.K., Myrzahanova Y.A., Shokanova A.S. // Биол.науки. Журнал «Современные проб-лемы науки и образование», Импакт-фактор РИНЦ 2011=0,097. – Москва, 2011. – № 5.– С. 18-24.
13. Устойчивость карбамидных комплексов меди в растворах серной кислоты [Текст] / И.В. Шадрунова, И.А. Минеева, Е.А. Емельяненко [и др.] // Горн. информ.-аналит. бюл. –2002. – №4. – С. 185-188.
14. Шадрунова, И.В. Экологические проблемы и новые технологии комплексной переработки минерального сырья [Текст] / И.В. Шадрунова, В.А. Шадрунов, Д.Н. Радченко // Материалы Междунар. совещ. «Плаксинские чтения-2002». – М., 2002. – С. 51-52.
15. Рыльникова, М.В. Исследование закономерностей процесса сульфатизации при подземном и кучном выщелачивании колчеданных руд [Текст] / М.В. Рыльникова, И.В. Шадрунова, Н.Н. Старостина // Развитие идей И.Н. Плаксина в области обогащения полезных ископаемых и гидрометаллургии: тез. докл. юбил. Плаксинских чтений. – М., 2000. – С. 216-217.
16. Рыльникова, М.В. Анализ работыопытно-промышленной установки кучного выщелачивания окисленной медной руды в условиях ОАО БМСК [Текст] / М.В. Рыльникова, И.В. Шадрунова, А.В. Сизиков // Горн. пром-сть. – 2001. – № 3. – С. 55-57.
17. Рыльникова М.В. Разработка комбинированной геотехнологии освоения медь содержащих георесурсов физико-химическим методом [Текст] / М.В. Рыльникова, И.В. Шадрунова, А.В. Сизиков // Горн. информ.-аналит. бюл. – 2001. – № 9. – С. 50-53.
18. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment // Briefings in bioinformatics. – 2004. – Vol. 5, №2. – P. 150–163.
19. Канаев, А.Т. Микробиологические и биофизические исследования транспортируемой воды водовода «Астрахань-Мангышлак» [Текст] / А.Т. Канаев, И.А Мырзаханова // Журнал "Успехи современного естествознания", Импакт-фактор РИНЦ 2011 = 0,186. – Москва, –2012, № 8.
20. Основные направления повышения эффективности переработки окисленных медных руд Удоканского месторождения [Текст] / А.В. Фатьянов, Г.А. Юргенсон, Е.В. Глотова [и др.] // IV Конгр. обогатителей стран СНГ. – М., 2003. – Т. 1.– С. 85-86.
21. Чантурия, А.В. О механизме действия карбамида при серно кислотном выщелачивании окисленных руд [Текст] / А.В. Чантурия, И.В. Шадрунова, Н.Н. Старостина // Цв. металлы. – 2002. – № 5. – С. 37-39.
22. Колмогоров, Н. Расточительное обогащение [Текст] / Н. Колмогоров // Металлы Евразии. – 2001. – № 5. – С. 56-59.
23. Халезов, Б.Д. Историческая справка и обзор зарубежной практики кучного и подземного выщелачивания [Текст] / Б.Д. Халезов, Н.А. Ватомин, В.А. Неживых // Горн. иформ.-аналит. бюл. – 2002. – № 4. – С. 139-143.
24. Исследование процессов вторичного минерало образования медь содержащих руд месторождения Бакр-Узяк [Текст] / И.В. Шадрунова, К.А. Ляховец, Е.А. Горбатова [и др.] // Горн. информ.-аналит. бюл. – 2001. – № 9.– С. 138-140.
25. Sulfobacillus sibiricus sp. nov., a new moderately thermophilic bacterium [Text] / V.S. Melamud, T.A. Pivovarova, T.P. Tourova [et al.] // Microbiology. – 2003. – № 72, N 5.–Р. 605-612.
26. Production of resting forms by the gram-negative chemolithoautotrophic bacteria Thioalkalivibrio versutus and Thioalkalimicrobium aerophilum [Text] / N.G. Loiko, V.S. Soina, D.Yu. Sorokin [et al.] // Microbiology. – 2003. – № 72, N 3.–Р. 285-294.
27. Anaerobic desulfurization of thiophenes by mixed microbial communities from oilfields [Text] / C.L. Marcelis, A.E. Ivanova, A.J. Janssen, A.J. Stams // Biodegradation. – 2003. – Vol. 14, N 3. – Р. 173-182.
28. Induction of SOS response by autoregulatory factors of microorganisms [Text] / A.B. Margulis, O.N. Il’inskaya, A.I. Kolpakov, G.I. El’-Registan // Russian J. ofGenetics. – 2003. – № 39, N 9. –Р. 993-996.
29. Зубков, А.А. Переработка пиритных огарков [Текст] / А.А. Зубков, З.М. Шуленина // IVКонгр.обогатителей стран СНГ. – М., 2003. – Т. 1. – С. 95-97.
30. Isotopic and biogeochemical characteristics of tabular ground ice on the Yugorskii and Yamal Peninsulas [Text] / A.Yu. Lein, M.O. Leibman, A.S. Savvichev [et al.] // Geochemistry International. – 2003. – N 10.– Р. 993-1012.
31. Lein, A.Yu. The isotopic composition of methane and of the products of its anaerobic microbial oxidation in the Black Sea. “Pasr and Present Water Columne Anoxia” [Text] / A.Yu. Lein, N.V. Pimenov, M.V. Ivanov // Proc. NATO ADV. Res. Workshop, 4-8 October 2003. Crimea, Ukraine. – Sevastopol, 2003. – Р. 53-54.
32. Isotope-biogeochemical structure of tabular ground ice in the Russian Arctic [Text] / A.Yu. Lein, A.S. Savvichev, Yu.M. Miller [et al.] // Proceedings ot the 8th International Conf. on Permafrost, Zurich, Switzerland, 21-25 July 2003 /eds.: M.Phillips, S. Springman, L.Arenson), A.A. Balkema Publishers. – Vol. 2. – P.661-668.
33. Species specificity of bacterial response to a 50-Hz magnetic field[Text] / V.I. Lobyshev, D.I. Nikitin, L.E. Nikitin, I.Yu. Petrushanko // Biophysics.– 2003.–Vol. 48, N 4.–Р. 631-635.
34. Канаев, А.Т. Биогеотехнология техногенных экосистем Казахстана [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева // Монография, - Германия,Lambert Academic Publishing.– 2012.
35. Канаев, А.Т. Роль микроорганизмов на объектах кучного выщелачивания урана и возможности их участия в окислительных процессах [Текст] / А.Т. Канаев, Т.К. Бекбауов, С.С. Нуркеев, З.К. Канаева, К.А. Макатаева, М.Р. Камалов // Известия НАН РК, Серия биологическая и медицинская. – Алматы, – 2007. – № 2.
36. Башлыкова, Т.В. Бактериальное выщелачивание шлака медной плавки и пиритных огарков [Текст]/ Т.В. Башлыкова // Научные основы и практика переработки руд и техногенного сырья благородных металлов. – Екатеринбург, 2002. – Т.3.– С. 11-12.
37. Канаев, А.Т. Биовыщелачивание благороднгых металлов из упорной руды [Текст] / А.Т. Канаев, Г.В. Семеченко, А.А. Шильманова, Ж. Шемшеева // XI М.науч. конф. "Актуальные научные исследования в современном мире. - Украйна, Переяслав-Хмельницкий – 2016, 26-27 марта.
38. Interaction between chromosomal and plasmid DNA of Acidithiobacillus ferrooxidans strain sadapted to different oxidation substrates [Text] / T.F. Kondratieva, V.N. Danilevich, S.N. Ageyeva, G.I. Karavaiko//Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 6.–Р. 23-26.
39. Kravchenko, I. K. Nitrogen-fixing activity in peat soils from a raised bog [Text] / I.K. Kravchenko, E.V. Doroshenko // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 1.–Р. 98-102.
40. Methane oxidation and nitrogen transformations in gray forest soil [Text] / I.K. Kravchenko, V.M. Semyonov, T.V. Kuznetsova [et al.] // Soil Science. – 2003. – № 12. –Р. 31-33.
41. Microbial reduction of 99Tc (as TcO4-) in anaerobic conditions[Text] / T.V. Khijniak, N.N. Medvedeva-Lyalikova, M. Simonoff [et al.] // Czechoslovak J. of Physics. – 2003. –Vol. 53, suppl. 1. – P. А113-A117.
42. Арене, В.Ж. Физико-химическая геотехнология [Текст]: учеб.пособие. – М.: Изд-во МГУ, 2001. –656 с.
43. Phylogenetic heterogeneity of the species Acidithiobacillus ferrooxidans [Text] / G. Karavaiko, T. Tоurova, T. Kondrateva [et al.] // Jutern. Syst. Enolutionary Microbiol. – 2003. – Vol.53, N 1. – Р. 113-119.
44. Khijniak, T.V. Reduction of pertechnetate by haloalkaliphilic strains of Halomonas [Text] / T.V. Khijniak, N.N. Medvedeva-Lyalikova, M. Simonoff // FEMS Microbiol. Ecology. – 2003. –Vol.44, N 1.–Р. 109-115.
45. Каравайко, Г.И. Роль микроорганизмов выщелачивании металлов из руд [Текст] / Г.И. Каравайко, С.И. Кузнецов, Э,И. Голомзик. –М.: Наука, 1972. –248 с.
46. Микробиологический способ выщелачивания урана кучным способом [Текст] / А.Т. Канаев, М.Р. Камалов, Т.К. Бекбауов // Журн. «Промышленность Казахстана». – Алматы, – 2008. – № 8.
47. Кернс-Смит, А.Дж. Первые организмы [Текст] / А.Дж. Кернс-Смит // В мире науки. – 1985. – № 8.– С. 46-55.
48. Ivanov, М.V. Interaction samongcarbon, sulphur and nitrogen cycles in anoxicandextrememarineen vironments [Text] / M.V. Ivanov, A.Yu. Lein // Interactions of the Major Biogeochemical Cycles / ed.: J.Melillo, C.Field, B. Moldan. –Washington; Covelo; London, 2003. – P.323-336.
49. Pseudomonas extremorientalis sp. nov., isolated from a drinkihg water reservoir [Text] / E.P. Ivanova, N.M. Gorshkova, Njvjj Sawabe [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2002.– Vol.52, pt. 6. –Р. 2113-2120.
50. Evaluation of a current stastus of operating and closed landfills in Russia, Finland and Ireland with regards to water pollution and methane emission [Text] / S. Kalyuzhnyi, A. Epov, K. Sormunen [et al.] // Water Sci. Technol.– 2003. –Vol. 48, N 4.–Р.37-44.
51. Sustainable treatment and reuse of diluted pig manure streams in Russia: from laboratory trials to full scale implementation [Text] / S. Kalyuzhnyi, V. Sklyar, A. Epov [et al.] // Appl.Biochemistry and Biotechnology. – 2003. – Vol.109, issue 1/3. – P. 77-94.
52. Полезные растения и биотехнология их приготовления [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева // Учебное пособие. – Алматы, "Қазақ университеті", 2015.
53. Бекбауов, Т.К. Кинетика бактериального окисления железа в сернокислых растворах выщелачивания урана [Текст] / т.к. Бекбауов, з.к. Канаева, М.Р. Камалов // Биотехн. в Казахстане: пробл. и перспект. иннова-ого развития. Алматы, 19-21 мая.
54. Булаев, А.Г. Биоокисление упорных сульфидных золотых руд [Текст]/ А.Г. Булаев, А.Т. Канаев, З.К. Канаева, Т.Ф. Кондратьева // Межднар.совещ. "Современные процессы компл. перераб.тр. обогот. мин.сырья. - Плаксинские чтение-2015, Россия г. Иркутск – 2015. – 21-26 сентябрь.– С. 164-175.
55. Канаев, А.Т. Геохимические и минералогические особенности руды уранового месторождения «Восток» [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева // Журн. "Совр.наукоё техн/и", Импакт-фактор РИНЦ 2011 = 0,170. – г.Москва, (Россия), Геолого-минералогичес-кие науки. – 2012, № 3.
56. Канаев, А.Т. [Укрупненно-лабораторное бактериально-химическое выщелачивание золота из руды месторождения Бакырчик](http://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=36405) [Текст] / А.Т. Канаев, К.М. Баймырзаев, Г.В. Семеченко, З.К. Канаева, Н.Ж. Советова, К.М. Токпаев, Ж.Б. Шемшеева, Ж.Т. Умирбекова, У.И. Аманбаева. – Журнал "Успехи современного естествознания". Химические науки (02.00.00). Москва, РФ, 2017, № 3.
57. Влияние концентрации меди, молибдена, цинка и алюминия на активность A.ferrooxidans [Текст] / А.Т. Канаев, Р.А. Хамуда, М.Р. Камалов // Журн.. «Биотехнология». – 2008. – г.Астана, № 3.
58. Дженбаев Б.М., А.М. Мурсалиев. Монография «Биогеохимия природных и техногенных экосистем кыргызстана». Бишкек, 356 с.
59. Канаев, А.Т. Химический состав и кучное бактериальное выщелачивание золотосодержащих месторождений Аксу [Текст] / А.Т. Канаев, Р.А. Хамуда, М.Р. Камалов, З.К. Канаева // Журн. Современный научный вестник. Сборник трудов международной н.-пр.-конференции. – г.Белгород (Россия), – 2008. – № 3.
60. Hamouda, R. Microbial leaching of iron, sulfur and pyrite using Acid.ferrooxidans [Текст] / R. Hamouda, A.T. Kanaev, Z.K. Kanaeva, M. Kamalov // J.of Biological Chemistry & Environmental Sciences. – V.3. (4)., 2008, December, (Egypt) – P. 207-216.
61. Изучение сообществ микроорганизмов урановых месторождений [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева, Н.М. Мухабетов, С.С. Ералиев, А. Сагымбаева // Вестник КазНУ им.аль-Фараби, сер. экологическая. Алматы, «Казақ университеті» – 2014. – № ½ (40).
62. Канаев, А.Т.  [Изучение культуры Acidithiobacillus ferrooxidans месторождения "Восток и активирование методом последовательного пересева](http://elibrary.ru/item.asp?id=26302643) [Текст] / А.Т. Канаев, А.Г. Булаев, Г.В. Семеченко, З.К. Канаева, А.А. Шильманова //[Прикладная биохимия и микробиология](http://elibrary.ru/title_about.asp?id=7955). - ISSN 0003- Scopus - 0,735 Москва, РФ – 2016. – Т. 52, № 4.– С. 392-401.
63. Канаев, А.Т. Глубокое извлечение золота методом биовыщелачивания ассоциацией ацидофильных бактерий [Текст] / А.Т. Канаев, К.М. Баймырзаев, З.К. Канаева // XXIII междун.н.-техн.конф. «Научные основы и практика переработки руд и техногенного сырья». Екатеринбург. РФ. – 2018. – 10-13 апреля, – С. 233.
64. Group report: How important are the material and energy fluxes from hydrothermal circulation to the ocean [Text] / J.R. Hein, E.T. Baker, J.P. Cowen [et al.] // Report of the 89th Dahlem Workshop on Energy and mass transfer in marine hydrothermal systems / ed.: P.E.Halbach, V.Tunniclife, J.R. Hein. – Berlin, 2003. – P. 337-355.
65. Development and application of microbial biotechnologies for oil recovery enhancement [Text] / R.R. Ibatullin, I.F. Glumov, R.S. Hisamov [et al.] // Oil Industry Magazine. – 2003.– № 8.
66. Канаев, А.Т. Геологические и минералогические особенности руды золотоносного месторождения «Большевик» [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева, Н.М. Мухабетов, А. Мураталиева, А.К. Кемелбаева, А. Мухаметсадыкова. – Вестник КазНУ им.аль-Фараби, сер.экологическая: Алматы, «Казақ университеті», 2013. – №3 (39).
67. Канаев, А.Т., Изучение микробоценозов хемолитотрофных бактерий растворов подземного выщелачивания урана месторождений «Канжуган» [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева. – Журнал "Современ-ные наукоёмкие технологии» Журн. "Совр. наукоё техн."., (Россия) РИНЦ= 0,170, 2011.
68. Применение железоокисляющих бактерий при выщелачивании урана с месторождения шантобе [Текст] / А.Т. Канаев, К.М. Токпаев, Т.А. Дишель // XVII Всероссийская с международным участием школа – семинар по структурной макрокинетике для молодых ученых имени академика А.Г. Мержанова. – Сборник научных материалов РИНЦ – 2019. – 16-18 октября.
69. Канаев, А.Т. Распределение золотоносной руды по классам крупности с применением гранулометрического анализа [Текст] / А.Т. Канаев, Т.А. Дишель, К.М. Токпаев, Г.М. Талгарбаева // «Устойчивое развитие территорий: Теория и практика» Материалы X Всероссийской научно-практической конфер.. – Сибай, РИНЦ., 2019. – 14-16 ноября - С. 101-103.
70. Kanaev, A.T. Species diversity of vegetation in the ash dump of the heat and power station-2 in Аlmaty [Текст] / A.T. Kanaev, Zh.Suiessinova. – Pоlish journal of science biological sciences.: Warszawa, Poland, №14 VOL. 1. РИНЦ, 2019. – P 8-11.
71. Канаев, А.Т. Определение массы семян в лабораторных условиях [Текст] / А.Т. Канаев, К.Б Аскарбекова., А. Абдильдаулы., А. Сердалин. – Проблемы гуманитарных наук и образования в современном мире. Сб.науч.статей V Все росской н.-пр.конф.: Высш. шк., Республика Башкортстан, г.Сибай, 21-22 марта 2019 г. РИНЦ. – С.74--75.
72. Gavrilov, S.N. Physiologyoforganotrophic and lithotrophic growth of the thermophilic iron-reducing bacteria Thermoterrabacterium ferrireducens and Thermoanaerobacter siderophilus [Text] / S.N. Gavrilov, E.A. Bonch-OsmolovskayaA.I. Slobodkin // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 3. – Р. 132-137.
73. Gerasimenko, L.M.Microcoleus mats from alkaliphilic and halophilic communities [Text] / L.M. Gerasimenko, L.L. Mityushina, B.B. Namsaraev // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 1.–Р. 71-79.
74. A new regulatory function of a-factor: stimulation of the germination of streptomycete spores [Text] / V.D. Gruzina, E.V. Gorbatyuk, O.V. Efremenkova [et al.] // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 6.–Р. 682-685.
75. Influence of the degree of aeration on halotolerance of yeasts of the genera Candida, Rhodotorula and Malassezia [Text] / O.V. Heidebrecht, V.G. Arzumanyan, V.K. Plakunov, S.S. Belyaev // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 3.–Р. 270-276.
76. Канаев,А.Т. Выделение из природных экосистем казахстана ацидохемолитотрофных микроорганизмов, перспективных в биогеотехнологии извлечения золота из сульфидных руд[Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева *//* VIII Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития»*. -* РФ, Москва, Новый Арбат, 36/9. [www.mosbiotechwold.ru](http://www.mosbiotechwold.ru) – 2015. –17-20 марта.
77. Kanaev, A.T. Microbiological neutralization of heap leaching waste from cyanide and thiocyanate [Text] / A.T. Kanaev, G. Semenchenko, A. Shilmanova, Z. Kanayeva, Z. Chemsheyeva // International Science, Technology and Engineering Conference ISTEC 2016. – 2016. – april 20-23, SCOPUS. – equatorial hotel, penang, Malaysia.
78. Kanaeva, A.T. Biooxidation of Gold-Bearing Sulfide Ore and Subsequent Biological Treatment of Cyanidation Residues [Text] / A.T. Kanaev, A.G. Bulaev, G.V. Semenchenko // Applied Biochemistry And Microbiology. - Web of Science/ SCOPUS – 2016. –T. 52, № 4.–P.397-405.
79. Djenbaev B.M., 1 T.E. Toktoeva, 1 B.K. Kaldibaev, B.T. Zholbolduev Radiation monitoring of soil cover of natural uranium in the issyk-kul province/ Journal of Radiation Research, Baku, 2015. vol.2, №2, P.57-63.
80. Канаев А.Т. Выщелачивание благородных металлов изруды месторождения Акбакай ассоциативными культурами ацидофильных бактерий [Текст] / А.Т. Канаев, Г.В. Семенченко, А.А. Шильманова // Журн. «Актуальная биотехнология». – РФ, г.Воронеж., 2016. - ISSN 2304-4691. - №1(16).
81. Разработка биотехнологического метода извлечения золота из руд и продуктов их обогащения месторождений Казахстана [Текст] / А.Т. Канаева – Международная научно-практическая конф.Вклад микробиологии и вирусологии в современную биоиндустрию: Алматы, Казахстан, 2016. – 3 июня.
82. Ракин, В.И. Самоорганизация гелевой системы кристаллообразования [Текст] / В.И. Ракин // Минералогия и жизнь. – Сыктывкар, 1996. – С. 11-12.
83. Канаев, А.Т. Состояние почвенного покрова в зоне влияния золоотвала Алматинской ТЭЦ-3 [Текст] / А.Т. Канаев, М.Е. Айтжанова, М.М. Даулетбаева // The scientific heritage. – (Budapest, Hungary) РИНЦ, 2017. - №9(9) – С. 16.
84. Канаев, А.Т. Исследования физико – механических характеристик золы алматинского ТЭЦ-3 [Текст]: / А.Т. Канаев, К.М. Баймырзаев, Р.К. Сатымбеков, М.М. Даулетбаева. // Журн. «Известия» Киргизского гос. техн. ун-та им.И.Раззакова. – Кыргызстан, г.Бишкек.: РИНЦ, - №41. 2017.
85. Brombacher, C. Devolopment of a laboratory scaleleachingpl and formetalextraction from flyash by Thiobacilluss trains [Text] / C. Brombacher,R. Bachoven, H. Brandl // Appl.andenviron. Microbiol. –1998.– Vol.64, №4. –Р. 1237 – 1241.
86. Канаев, А.Т. Изучение рентгенофазового свойства золото-мышьяковистой руды месторождения Акбакай после биовыщелачивания Acidithiobacillus ferrooxidans [Текст] / А.Т. Канаев, Ж.Т. Умирбекова, З.К. Канаева, У.И. Аманбаева, К.М. Токпаев, Ж.Б. Шемшеева. – American scientific jornal. – 90 st. – Elmhurst AV, Queens, NY, United States of America.: , РИНЦ, 2017. – №1(9).
87. Дженбаев Б.М., Алексеенко В.А. Эколого-биогеохимические особенности растительности г. Бишкек. Известия НАН КР. 2014.
88. Дженбаев Б.М., Калдыбаев Б.К. Методические указания (отбор проб и пробоподготовка для определения тяжелых металлов в объектах окружающей среды). – Бишкек: Илим, 2014. – 35 с.
89. Серебряная, М.З.Бактериальная трансформация окисных марганцевых минералов и их биоминеральных смесей [Текст] / М.З. Серебряная, Л.К. Яхонтова, Л.Н. Петрова // Минералогия. – 1991. – Т. 60, вып. 2.– С. 285-291.
90. Funtikova, N.S. Sporangiospores of the fungus Mucor lusitanicus 12M: correlation between lipid composition, viability, and morphology of growth upon germination [Text] / N.S. Funtikova, I.S. Mysyakina // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 6.–Р. 686-689.
91. Garnova, E.S. Carbohydrate metabolism of the saccharolytic alkaliphilic anaerobes Halonatronum saccharophilum, Amphibacillus fermentum, and Amphibacillus tropicus [Text] / E.S. Garnova, E.N. Krasil’nikova // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 5.–Р. 558-563.
92. Anoxynatronum sibiricumgen. nov., sp.nov. alkaliphilic saccharolytic anaerobe from cellulolytic community of Nizhnee Beloe (Transbaikal region) [Text] / E. Garnova, T. Zhilina, T. Tourova, A. Lysenko // Extremophiles. – 2003.–Vol. 7, N 3. –Р. 213-220.
93. Канаев, А.Т. Оценка микробоценоза почвы нефтепровода «Павлодар-Шымкент» [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева, И.А. Мырзаханова, Г. Бектемирова // Журн. «Вестник КазНУ им.аль-Фараби», сер.биол.– 2011. – № 2 (48).–С. 125-129.
94. Канаев, А.Т. Моделирование процесса выщелачивания урана из отработанной руды штабеля [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева. – М.конф. «проблемы радиоэкологии и уп-равления отходами уранового производ-ства в Центр. Азии», - г.Бишкек-Иссык-Куль-«Аврора», - 2011, - 6-9 июня. –С. 69-71.
95. Канаев, А.Т. Изучение влияние различной концентрации окислителей на извлечение урана месторождений «Восток» [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева // М.к. «пробл. радио-экол и упр/я отхо-и уранового произв. в Центр. Азии», - г.Бишкек-Иссык-Куль-«Аврора», - 2011, - 6-9 июня. – С. 71-75.
96. Канаев, А.Т. Оценка состояния микробиоценозов и геохимического состояния золотоносного месторождения Аксу [Текст] / А.Т. Канаев, А.А. Мураталиева, З.К. Канаева // Ce volume contient des travaux des Seminaires de l'Academie Internationale . - CONCORDE : 9-18 novembre 2013 (Rome-Venise-Paris)**.** – 2013, 10-18 novembre. –V. 5.
97. Канаев, А.Т. Проведение первичной идентификации выделенных штаммов хемолитотрофных бактерий [Текст] / А.Т. Канаев, Г.В. Семеченко, З.К. Канаева, П.С. Маденова // Журнал "Современные наукоёмкие технологии". – РФ, Москва (РИНЦ 0,761)., - 2014. - №12 (часть 3).
98. Канаев, А.Т. Распределение сапрофитных микроорганизмов в шахтных водах и рудном теле золото-мышьяковистого месторождения Бакырчик [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева, Г.В. Семеченко, А.А. Мураталиева // Журнал "Успехи современного естествознания. - РФ, Москва (РИНЦ 1,582)., - 2014. - №12 (часть 3).
99. Influence of vitamin K1 on the lipoxygenase activity of Pythiumdebaryanum – the polyunsaturated fatty acids producer [Text] / V.I. Djukova, E.A. Demcheva, E.P. Tkachevskaya [etal.] // Biotechnology. – 2003. – №6.
100. Methylocellasilvestris sp. nov., anovelmethane-oxidizing bacterium isolated from an acidic forest cambisol [Text] / P.F. Dunfield, V.N. Khmelenina, N.E. Suzina [et al.] //Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2003. – № 53, pt. 5.–Р. 1231-1239.
101. Search for a-factor-dependent variants in actinomycete populations [Text] / O.V. Efremenkova, V.D. Gruzina, I.G. Sumarukova,V.D. Kuznetsov // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 6. –Р. 678-681.
102. Feofilova, E.P. Deceleration of vital activity as a universal biochemical mechanism ensuring adaptation of microorganisms to stress factors: a review [Text] / E.P. Feofilova // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2003. –Vol. 39, N1.–P. 1-18.
103. Канаев, А.Т. Микробоценозы золото-мышьяковистого месторождения бакырчик и их роль в окислительно-восстановительном процессе[Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева, Г.В. Семеченко // Журнал "Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований"*.* – РФ, Москва (РИНЦ 0,804), - 2014. - №12 (часть 2).
104. Anaerobic gro- wth of T.ferrooxidans [Text] / J.T. Pronk, J.C. de Bruyn, P. Bos, J.G. Kuenen // Eth. Int. symp. Microbiol. Ecol. (ISME-G), Barcelona, G-11, Sept.1992. – Barcelona, 1992. –Р.292.
105. Канаев, А.Т. Биоразнообразия микробного ценоза тионовых бактерий золото-мышьяковистого месторождения Бакырчик [Text] / А.Т. Канаев, Г.В. Семеченко, З.К. Канаева // Вестник КазНУ им.аль-Фараби. Сер.экол*. –* ККСОН ВАК РК.– 2015. № 2/2 (44).
106. Nriagu, I.O. Проблемы геохимической экологии уранового месторождения Казахстана [Text] / I.O. Nriagu // IV-й м-нар. конф. «Горнодобывающая промышле нность, проблемы геохи-мической экологии, сохранения биораз-нообразия и ООПТ»*.* – НАН КР Биолого-почвенный институт. – Бишкек, 2015, 17-19 сентября. – P. 318-329.
107. Radioisotopic, culturebased, and oligonucleotide microchip analyses of thermophilic microbial communities in a continental high-temperature petroleum reservoir [Text] / E.A. Bonch-Osmolovskaya, M.L. Miroshnichenko, A.V. Lebedinsky [et al.]// Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – Vol. 69, № 10. – P. 6143-6151.
108. Borzenkov, I.A. Development of microbiological processes during activation of stratal microbial communities [Text] / I.A. Borzenkov,S.S. Belyaev // Prospects for the development of biotechnologies for oil recovery enhancement in strata at the later stage of oilfield exploitation. – Almetievsk, 2003. –Р. 17-25.
109. Differential detection of type II methanotrophic bacteria in acidic peatlands using newly developed 16S rRNA-targeted fluorescent oligonucleotide probes [Text] / S.N. Dedysh, P.F. Dunfield, M. Derakshani [et al.] //FEMS Microbiol. Еcol. – 2003. –Vol. 43, N 3. –Р. 299-308.
110. Karavaiko, G.I. Plasmid profiles of Acidithiobacillus ferrooxidans strains adapted to different oxidation substrates [Text] / G.I. Karavaiko,S.N. Ageyeva, T.F. Kondratieva // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 5. – Р. 579-584.
111. Detection of hyperthermophilic archaea of the genus desulfurococcus by hybridization with oligonucleotide probes [Text] / A.A. Perevalova, A.V. Lebedinsky, E.A. Bonch-Osmolovskaya, N.A. Chernyh // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 3.–Р. 340-346.
112. Microbial processes of the carbon and sulfur cycles in Lake Shira (Khakasia) [Text] / N.V. Pimenov, I.I. Rusanov, O.V. Karnachuk [et al.] // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 2. – Р. 221-229.
113. Microbial processes at the oxic/anoxic interface in the water column of the Black Sea[Text] / N.V. Pimenov, I.I. Rusanov, S.K. Yusupov [et al.] // “Past and Present Water Column Anoxia”: Proc. NATO ADV. Res. Workshop, 4-8 October 2003, Crimea, Ukraine. – Sevastopol, 2003. – Р. 72-74.
114. Assignment of *«*Alteromonas marinoglutinosa*» NCIMB 1770 to* Pseudoalteromonas marinoglutinosa sp. nov., comb. nov. [Text] / L.A. Romanenko, N.V. Zhukova, A.M. Lysenko [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2003. – Vol. 53, pt. 4. –Р. 1105-1109.
115. Chistotin, M.V. A gradient method for measurement of methane fluxes from soil (economical method). Theory and practice [Text] / M.V. Chistotin, M.V. Glagolev // Materials of the 2nd Intern. Conf. “Emission and Sink of Greenhouse Gases in Northern Eurasia”. Poushchino, Russia, 16-20 July 2003.
116. Chistotin, M.V. An economical method for measurement of methane fluxes from bog soil [Text] / M.V. Chistotin, M.V. Glagolev // Materials of the 7th Conf. for Young Scientists "Biology - The Science of XXI Century". Poushchino, Russia, 14-18 April 2003.
117. Dubinina, G.A. The role of oxygen in metabolism regulation of aerotolerant spirochetes forming sulfur mats of Thiodendron [Text] / G.A. Dubinina, M.Yu. Grabovich // 1th FEMS Congr. of Eur. Micr., Slovenia, Abstract books, 2003.– Р. 325.
118. Effect of vitamins E, K and their analogus on lipids’ metabolism enzymes of Pythium debaryanum [Text] / V.I. Dukova, E.P. Tkachevskaya, E.A. Demcheva [et al.] // II Intern. conf. “Enzymes in environment: activity, ecology and application”, Prague, Czech Republic, 14-17 July 2003. – Prague, 2003.
119. Bulaeva, A.G*.* Physiological properties of acidithiobacillus ferrooxidans strains ısolated from sulfide ore deposits in Kazakhstan [Текст] / A. G. Bulaeva, Z. K. Kanaeva, A. T. Kanaev, T. F. Kondrat’eva// ISSN 0026\_2617, Microbiology, Thomson reuters. Scopus 0,642. –Мoscow, - 2015. – V. 84. № 3. – Pp.323-330.
120. Silaniz, M. Характеристика нового изолята Thiobacillus мобилизирующего металл [Text] / M. Silaniz, L.P. Isabel, M.P. Murua // Dep. de Bioquimicay Biol. molecular, Fac.deincias. Univ. Complutense, E28040, Arch. microbiol. – Madrid, 1993. –Vol. 159, N 3.–Р. 303-308.
121. Molecular mechanism in the oxidation of Fe2+ by their on oxidizing bacterium T.ferrooxidans [Text] / T. Yamanaka, T. Yano, M. Kai[et al.] // 6th Int. Symp. Microb.еcol. (ISME-G), Abstr., Borcelona, 11 sept. 1992. – Borcelona, 1992. – Р.135.
122. Suzuki, I. Oxidation of elemental suilfur to sulfute by T.ferrooxidans cells[Text] / I. Suzuki,C.W. Chan, T.L. Takeuchi // Appl. and Environ. Microbiol. – 1992. – Vol. 58, N 11. –Р. 3767- 3769.
123. Berry, V. Obserr of selective attachment of bacteria on low-grade ore evidans for direct contact bacter leaching of sulfide minerals / V.Berry, L. Murr // Proc. 34-th Ann. Meet. Electron Microsc. Soc. Amer. Miami. Beach, Ela. Baton Ronge, 1976. - P. 45-53.
124. Канаев, А.Т. Оценка состояния микробоценозов золото-мышьяковистого месторождения Бакырчик [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева, Н.М. Мухабетов, А. Мураталиева, А.К. Кемелбаева, А. Мухаметсадыкова // Вестник КазНУ им.аль-Фараби, сер.биологическая. - «Казақ университеті» – 2013. – № 3/2 (59).
125. Kanaev, A.T. Column bioleaching of refractory goldores [Text] / A.T. Kanaev, A.G. Bulaev, Z.K. Kanaeva, M.I. Muravyov, T.F. Kondrat’eva // Proceedings of 21st International Biohydrometallurgy Symposium. / SCOPUS. - Bali. Indoneziya. –2015. –4-8 october.
126. Belyaev, S.S. Microorganisms of oil reserveoirs and their role in biotechnologies for the enhancement of oil recovery [Text] / S.S. Belyaev,R.R. Ibatullin // The materials of the 2nd Moscow Intern. Cong. “Biotechnology: Conditions and Development Prospects”. Moscow, 10-14 november 2003. – M., 2003. – Vol. 2.–Р. 247-248.
127. Tereshina, V. M. Zygote formation in Blakeslea trispora: morphological peculiarities and relationship with carotenoid synthesis [Text] / V.M. Tereshina, A.S. Memorskaya, E.P. Feofilova // Microbiology. – 2003. –Vol. 72, N 4.–Р. 448-454.
128. Канаев, А.Т. Оценка активности хемолитотроф-ных бактерий на разложения цианидов в процессе кучного выщелачи-вания золота месторождения Бакырчик [Текст] / А.Т. Канаев, Г.В. Семеченко, А.А. Шильманова, З.К. Канаева, А.А. Конысбаева // Исследование живой природы Кыргызстана. - БПИ НАН КР. – Бишкек. – 2015. –№1,2. –С.97-105.
129. Канаев, А.Т. Геологическое строение, минера-лого -геохимические особенности и условия образования свинцово – цинкового месторождения Шалкия [Текст] / А.Т. Канаев, А.Е. Рахимова // М.За IX меж.Н. пр. конф. «Бъдещите изследвания - 2013. - Том 12 Педа-гогически науки, София «Бял ГРАД-БГ» ООД. – 1953, 17-25 февраль.
130. Kanaev, A.T. Method of gold extraction from ores of bakyrchik deposit by percolation bioleaching [Text]: / A.T. Kanaev, G.V. Semenchenko, A.A. Konysbaeva, A.A. Shilmanova, Z.K. Kanaeva // International journal of biology and Chemistry. аl-Farabi Kazakh national university. – ISSN 2218-7979., - V. 8. - № 2. - 2015. –P. 28-35.
131. Канаев, А.Т. Синэкологические характеристики микроорганизмов участка кучного вычелачивания урана [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева. – Электронная статья.: РАЕ, Москва, 2012.
132. Канаев, А.Т. Микробоценозы хемолитотрофных бактерий растворов подземного выщелачивания уранового месторождения «Карамурун» [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева. // Журнал «Фундамен-тальные исследова-ния» РИНЦ 2011 = 0,144. – Москва, (Россия), Биологические науки . – 2012, № 5 (1) .– С. 153-157.
133. Выявление наиболее оптимальной степениизмельчения руды для эффективного извлечения золота микробиологическим методом [Текст] / М.О. Бекебаева, А.Канаев, К. Баймырзаев [и др.] // Вестн. Каз. нац. ун-та.Сер. экологическая. – 2017. – №2 (51). – С. 103-113.
134. Бекебаева, М.О. Эффективное использование микробиологического метода очистки экологической системы Казахстана [Текст] / М.О. Бекебаева, А. Канаев // Материалы І Междунар. науч.-практ. конф. «Агропромышленный комплекс и сельскохозяйственные науки», Шымкент, 17-18 нояб., 2017 г. – Шимкент, 2017. – С. 137-140.
135. Заварзин, Г.А. Гетеротрофный спутник Thiobacillus ferrooxidans [Текст] / Г.А. Заварзин // Микробиология. – 1972. – Т. 41, № 2. – С. 369-370.
136. Гольбрайхт, А.И. Численность гетеротрофных бактерий в полиметаллических месторождениях Восточного Казахстана [Текст] / А.И. Гольбрайхт // Вестн. АН КазССР. – 1970. – № 10.– С. 53-56.
137. Рercolation bioleaching the gold from ores of Kazakhstan: Web of Science Core Collection European Biotechnology Conference [Text] / M.O. Bekebayeva, A.T. Kanayev, A.A. Konysbayeva [et al.] // J. of Biotechnology (Latvia).– 2016. – Vol. 231.
138. Гольбрайхт, А.И. Роль тионовых бактерий в окислении руд в Казахстане [Текст] / А.И. Гольбрайхт // Микробиология. – 1970. – Т. 39, вып. 1.– С. 139-145.
139. Nutrient on the biological leaching of a black-schist ore [Text] / S.I. Niemela, V.M. Riekkola, C. Sivela [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. –1994. – Vol. 60, N 4. – P. 1287-1291.
140. Дженбаев Б.М., Жумалиев Т.Н.Современное экологическое и биогеохимическое состояние ураново-техногенной провинции Мин-Куш // Известия НАН КР, 2018. №3. С. 71-77.
141. Бекебаева, М.О. Особенности химического состава руд месторождения Риддер-Сокольное [Текст] / М.О. Бекебаева, А.Т. Канаев // «Актуальные проблемы биотехнологии, экологии и физико-химической биологии» в рамках ІV Международных Фарабиевских чтений, Алматы, 6-7 апр., 2017 г.– Алматы, 2017. – С. 111-113.
142. Холодный, Н.Г. О правильных и неправильных путях в исследовании железобактерий [Текст] / Н.Г. Холодный // Микробиология. – 1991. – Т. 10, № 4. – С. 415- 418.
143. Бекебаева, М.О. Микробиологическая оценка золотоносного месторождения Риддер-Сокольное [Текст] / М.О. Бекебаева // Труды Междунар. науч.-практ. конф. «Ауэзовские чтения – 16: «Четвертая промышленная революция: новые возможности модернизации Казахстана в области науки, образования и культуры». – Шымкент, 2018 . – С. 186-189.
144. Рыльникова, М.В. Геотехнологическая подготовка медных руд к обогащению [Текст] / М.В. Рыльникова, И.В. Шадрунова, Е.А. Горбатова // Экологические проблемы и новые технологии комплексной переработки минерального сырья: материалы Междунар. совещ. «Плаксинские чтения-2002». – М., 2002. – С. 42-43.
145. Аккумуляция тяжелых металлов эндемичными растениями хребта Каратау [Текст] / М.О. Бекебаева, К.М. Баймырзаев, А.Т. Канаев [и др.] // Изв. Нац. АН Кырг.Респ. – 2018. – № 5: Материалы Междунар. науч. конф. «Инновационная наука на пороге ХХI века», посвящ. 75-летию основания Хим. ин-та. – С. 89-95.
146. Антропогенная трансформация растительности в зоне влияния промышленных объектов г. Кентау [Текст] / М.О. Бекебаева, К.М. Баймырзаев, А.Т. Канаев, З.К. Канаева // Изв. Нац. АН Кырг.Респ. – 2018. – № 5: Материалы Междунар. науч. конф. «Инновационная наука на пороге ХХI века», посвящ. 75-летию основания Хим. ин-та. – С. 228-234.
147. Bekebayeva M.O., Kanaev A.T., Tokseyt D.E. Assessment of the state of the dominant vegetation species of anthropogenic disturbed areas of the southern slope of the Karatau ridge [Текст] // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. – 2019. – № 1. – С. 38-43.
148. Бекебаева, М.О. Влияние антропогенных факторов на состав и структуру растительных сообществ [Текст] / М.О. Бекебаева, А.Т. Канаев // Вестн. соврем. исслед. (Омск). –2019. – № 2/12 (29). – С. 7-13.
149. Тарасов, А.В. Комбинированные технологии цветной металлургии [Текст] / А.В. Тарасов, В.А. Бочаров. –М.: Металлургия, 2001. –304 с.
150. Рыльникова, М.В. Освоение запасовмощных рудных месторождений [Текст] / М.В. Рыльникова, И.В. Шадрунова, Н.Н. Старостина // Межвуз. сборник, МГТУ. - Магнитогорск, 2001. -С. 193-195.
151. Bekebayeva, M.O. State of surface of the ash dump and formed phytocenosis of CHP-2 [Text] / М.О. Bekebayeva, М.Е.Aitzhanova // Междунар. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы биотехнологии, экологии и физико-химической биологии» в рамках ІV Междунар. Фарабиев. чтений. Алматы, 6-7 апр. 2017 г.– Алматы, 2017. – С. 107-108.
152. Спектры экотопов, обуславливающие биотоп и формирующие растительные сообщества на золоотвале Алматинского ТЭЦ-3 [Текст] / М.О. Бекебаева, А.Т. Канаев, К.М. Баймырзаев [и др.] // Материалы Всерос. науч.-практ. конф. «Экологические проблемы южного Урала». Сибай 24-26 мая, 2017 г.– Сибай, 2017. – С. 99-104.
153. Оценка состояния растительных сообществ в хвостах отвалов ТЭЦ-2 г.Алматы [Текст] / М.О. Бекебаева, А.Т. Канаев, М. Айтжанова [и др.] // Междунар. журн. прикл. и фундам. исслед.– 2016. – №4, ч. 4.– С. 727-731.
154. Грудев, А.П. Концепция эффективной устойчивости минералов [Текст]: автореф. дис. ... д-ра геол.-минерал. наук: 04.00.20 / А.П. Грудев. – М., 1995. –88 с.
155. Солодухин В.П., Дженбаев Б.М. Проблемы чистой воды на территории трансграничного сектора «Казахстан-Кыргызстан» и перспективы их решения // Вестника НЯЦ РК, 2018, 1(73) вып. С.75-84. [http://old.nnc.kz/images/stories/bulletin/2018/1\_73.pdf](https://e.mail.ru/cgi-bin/link?check=1&refresh=1&cnf=4f1cfa&url=http%3A%2F%2Fold.nnc.kz%2Fimages%2Fstories%2Fbulletin%2F2018%2F1_73.pdf&msgid=15280943240000000998;0;0;1&x-email=bekmamat2002%40mail.ru)
156. Канаев, А.Т. Распределение тионовых бактерий в шахтных водах и рудном теле золото-мышьяковистого месторождения Бакырчик. [Текст] / А.Т. Канаев, З.К. Канаева, Г.В. Семеченко. – Научное обозрение. Биологические науки. - ISSN 2500-3399 ПИ №ФС77-57454, - 2015.
157. Камалов, М.Р. Изучение распространения и роли тионовых бактерий в различных технологических растворах уранового месторождения «Канжуган» [Текст] / М.Р. Камалов, А.Ж. Ускембаева, А.Т. Канаев // Материалы 2-й Междунар. конф. «Актуальные проблемы экологии». – Караганда, 2003. – С.13.
158. Бекебаева, М.О. Влияние оптимальных параметров температуры и размера частиц на процесс биовыщелачивания золота из золото-мышьяковистой руды месторождения «Большевик» [Текст] / М.О. Бекебаева, А.Т. Канаев, А.С. Спабекова, К.М. Токпаев // Евразийское Научное Объединение (Москва). – 2021. – № 5-2 (75). – С. 71-75.
159. Бекебаева, М.О. Определение численности микроорганизмов в золотоносных месторождениях Казахстана [Текст] / М.О. Бекебаева, А.Т. Канаев // Евразийское Научное Объединение (Москва). – 2021. – № 5-2 (75). – С. 76-77.
160. Дженбаев Б.М. Изучение микробоценозов золотоносных месторождений Риддер-Сокольное и Большевик и повышение эффективности технологии выщелачивания руд микробиологическим методом [Текст] / Дженбаев Б.М., М.О. Бекебаева, А.Т. Канаев // The scientific heritage (Будапешт). – 2024. – № 133 (133) (2024) – С. 40-48.