

УДК 606:662.7:504

**ОКИСНЕННЯ РІЗНИХ ДЖЕРЕЛ ЕНЕРГІЇ І ОСОБЛИВОСТІ
РОСТУ НОВИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ, ІЗОЛЬОВАНИХ З
ТЕХНОГЕННИХ СУБСТРАТІВ**

**І.А. БЛАЙДА, Т.В. ВАСИЛЬЄВА, О.А. ДЖАМБЕК, О.І. ДЖАМБЕК,
В.Ю. БАКЛАН**

Біотехнологічний науково-навчальний центр
Одеського національного університету імені І.І. Мечникова

*Підбір умов культивування нових штамів *Acidithiobacillus ferrooxidans*, що сприяють активному накопиченню біомаси на стадії її нарощування до внесення в вилуговуючі субстрати, дозволяє значно інтенсифікувати процес біовилуговування. Вивчали особливості росту ізольованих з відвалів вуглезбагачення та золи-виносу від спалювання вугілля нових мезофільних штамів *Acidithiobacillus ferrooxidans* МФLv6 і МФLad5 на різних джерелах енергії - двовалентному залізі ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) і тіосульфаті натрію ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), та встановили інтенсивність окиснення цих енергетичних субстратів досліджуваними штамми. Контрольованими параметрами були значення рН і Eh, концентрація окисненого Fe^{+3} і кількість клітин. Встановлено особливості поведінки обох штамів при культивуванні з великими концентраціями двовалентного заліза у якості джерела енергії, зокрема, існування критичної концентрації $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, при перевищенні якої спостерігається різке уповільнення росту і лізис клітин досліджуваних штамів. Встановлено, що оптимальною концентрацією $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ у якості єдиного джерела енергії є $12,0 \text{ г/дм}^3$ для максимального накопичення біомаси штамів і $44,5 \text{ г/дм}^3$ для найбільш ефективного вилуговування металів з досліджуваних субстратів. Ізольовані штами відрізняються за швидкістю росту і активністю окиснення джерел енергії - тіосульфату і двовалентного заліза, що дозволяє припустити*

існування кореляції між умовами існування штамів і їх ознаками та є відображенням штамового поліморфізму.

Ключові слова: породні відвали, зола-винос, ацидофільні хемолітотрофні бактерії, ізольовані штами мікроорганізмів, активність вилуговування, джерела енергії, германій.

Робота є продовженням досліджень із спрямованої селекції культур мікроорганізмів, стійких до токсичних сполук і спроможних окислювати різні джерела енергії та мінеральні субстрати [1]. Раніше було встановлено, що найбільш активною групою мікроорганізмів у аборигенному консорціумі субстратів породних відвалів вуглезбагачення та золи-виносу від спалювання вугілля є група ацидофільних хемолітотрофних мікроорганізмів, як мезофільних, так і помірно термофільних – представників родів *Acidithiobacillus* і *Sulfobacillus* [2–4]. Вивчення властивостей найбільш активних виділених з аборигенної асоціації субстратів чистих культур мікроорганізмів дозволило віднести їх до представників *Acidithiobacillus ferrooxidans* і присвоїти їм штамові номери МФLv6 і МФLad5 з урахуванням їх місця існування. Була встановлена їх більш висока окислювальна активність та стійкість до іонів важких металів у порівнянні з типовим та колекційним штамми роду *A. ferrooxidans*; встановлено мінімальні інгібувальні концентрації важких і токсичних металів та визначено ряд металів з негативного впливу на ріст ізольованих культур [1]. Оскільки бактерії *Acidithiobacillus ferrooxidans* є відносно повільно зростаючими мікроорганізмами, підбір умов їх культивування, що сприяють активному накопиченню біомаси досліджуваних мікроорганізмів на стадії їх нарощування до внесення в вилуговуючі субстрати, дозволив би значно інтенсифікувати процес біовилуговування. Одним з таких факторів є використання мікроорганізмами різноманітних джерел енергії для асиміляції вуглецю, побудови клітинного тіла і здійснення всіх життєвих функцій. Відомо, що бактерії *Acidithiobacillus ferrooxidans* здатні використовувати у якості

енергетичних субстратів різні сполуки сірки, як неорганічні (тіосульфат), так і органічні (тіосечовину), сульфід металів, а також двовалентне залізо [5, 6]. За інтенсивністю окислення джерел енергії можна судити про окислювальну активність досліджуваних культур бактерій.

Метою роботи було вивчення особливостей росту ізольованих з відвалів вуглезбагачення та золи-виносу від спалювання вугілля нових мезофільних штамів *Acidithiobacillus ferrooxidans* МФLv6 і МФLad5 на різних джерелах енергії - двовалентному залізі ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) і тіосульфаті натрію ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), та встановлення інтенсивності окиснення цих енергетичних субстратів штамми *A. ferrooxidans* МФLv6 і МФLad5.

Об'єкти і методи досліджень. Ізольовані мезофільні штами *Acidithiobacillus ferrooxidans* МФLv6 і МФLad5 зберігаються у музеї кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету імені І.І. Мечникова, який є філією Національної колекції мікроорганізмів і описані в роботі [1].

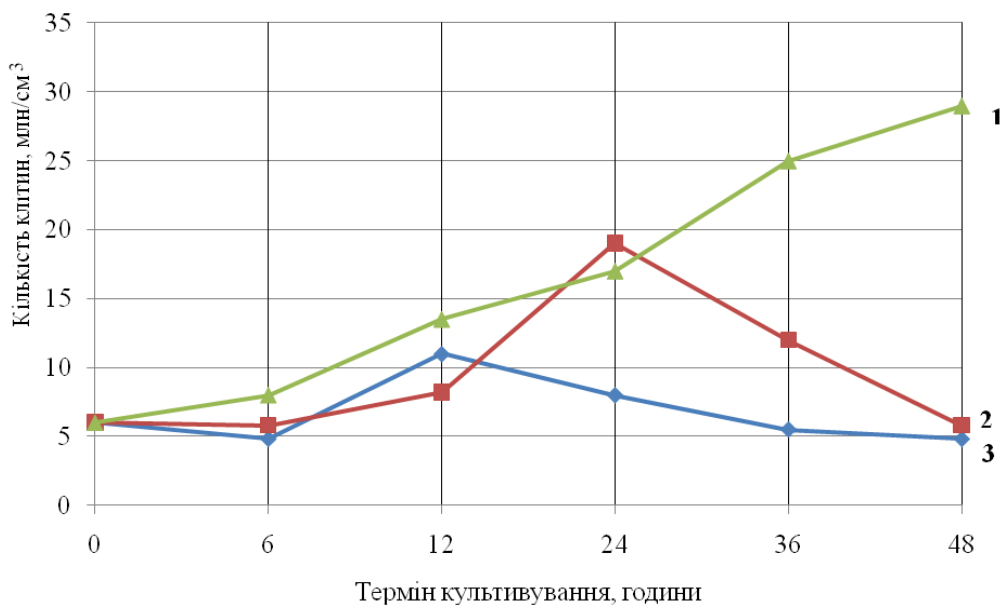
Для культивування штамів з метою накопичення біомаси і для вилуговування іонів металів з субстратів застосовували поживне середовище 9К, г/дм³: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ –3,0; KCl–0,1; MgSO_4 –0,5; K_2HPO_4 –0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ –0,01 з використанням у якості джерела енергії сполук $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (у концентрації 44,5; 30,0 і 12,0 г/дм³) і $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (у концентрації 5,0 г/дм³). Періодичне культивування обох штамів здійснювали у круглодонних колбах об'ємом 250,0см³ з 100,0см³ поживного середовища при постійному перемішуванні на інкубаторі-шейкері Innova 43R зі швидкістю 150 об/хв., за температуру $35,0 \pm 2,0$ °С. Колби, піпетки, середовище 9К та техногенні відходи, що досліджували, стерилізували при 1 атм протягом 30 хв.; розчини двовалентного заліза та тіосульфату - при 0,5 атм 30 хв. Посівним матеріалом слугували клітини *A. ferrooxidans* МФLv6 і *A. ferrooxidans* МФLad5 у експоненціальній фазі росту, інокулят вносили із розрахунку 10,0 об. %. Контролюючими параметрами були – значення рН і Eh, концентрація окисленого Fe^{+3} і кількість клітин. Значення рН і Eh визначали за допомогою рН-метра InoLab (Німеччина). Концентрацію

Fe^{+3} визначали комплексометричним титруванням трилоном В [7]. Чисельність клітин бактерій підраховували під мікроскопом Primo Star PC (Німеччина) у камері Горяєва [8].

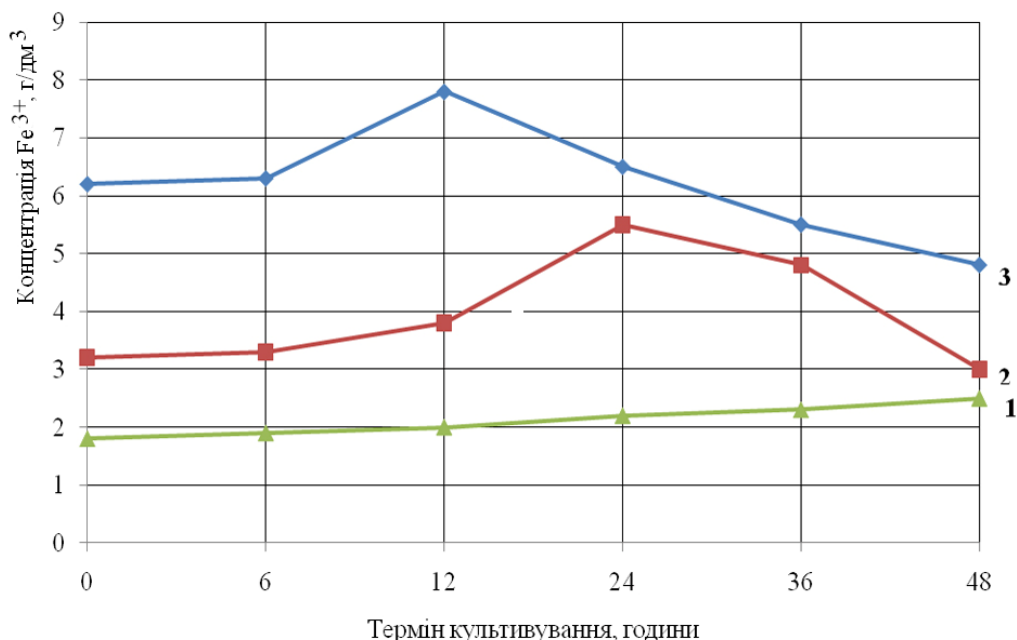
Об'єктами досліджень були субстрат породних відвалів, які утворюються в результаті збагачення вугілля шахт Львівсько-Волинського вугільного басейну гравітаційними і флотаційними методами на Центральній збагачувальній фабриці (ЦЗФ) «Червоноградська» ПАТ «Львівська вугільна компанія» і субстрат золи-виносу від спалювання суміші вітчизняного викопного вугілля на ДТЕК Ладижинська ТЕС, склад і властивості яких описані в роботі [1].

Експерименти з викугування проводили на моделі чанового біовилуговування за температури $30,0 \pm 2,0$ °C, $\text{pH} \leq 2,0$, співвідношенні твердої і рідкої фаз Т:Р=1:10 протягом 7 днів. Вихідний титр для усіх досліджуваних штамів був однаковий і становив $(4,1 \pm 0,3) \times 10^3$, паралельно ставили контрольний дослід без внесення бактерій. Аналіз розчинів на вміст металів здійснювали із застосуванням атомно-абсорбційної спектроскопії на приладах ААС-1 (Німеччина) і С-115ПК Selmi (Україна).

Результати та їх обговорення. На рис. 1-2 приведені криві росту *A.ferrooxidans* МФLv6 і *A.ferrooxidans* МФLad5 на стандартному середовищі 9К з різним вмістом $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ як єдиного джерела енергії при $\text{pH}=3,0$. При культивуванні *A.ferrooxidans* МФLad5 у присутності великих концентрацій джерела енергії максимальна кількість клітин бактерій досягала $11,0$ млн/см³ через 12 годин культивування при 44 г/дм³ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і $18,0$ млн/см³ через 24 години культивування при $30,0$ г/дм³ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Це відповідало досягненню максимальної концентрації окисленого Fe^{+3} у поживному середовищі $7,8$ і $5,5$ г/дм³ відповідно (рис. 1).



a

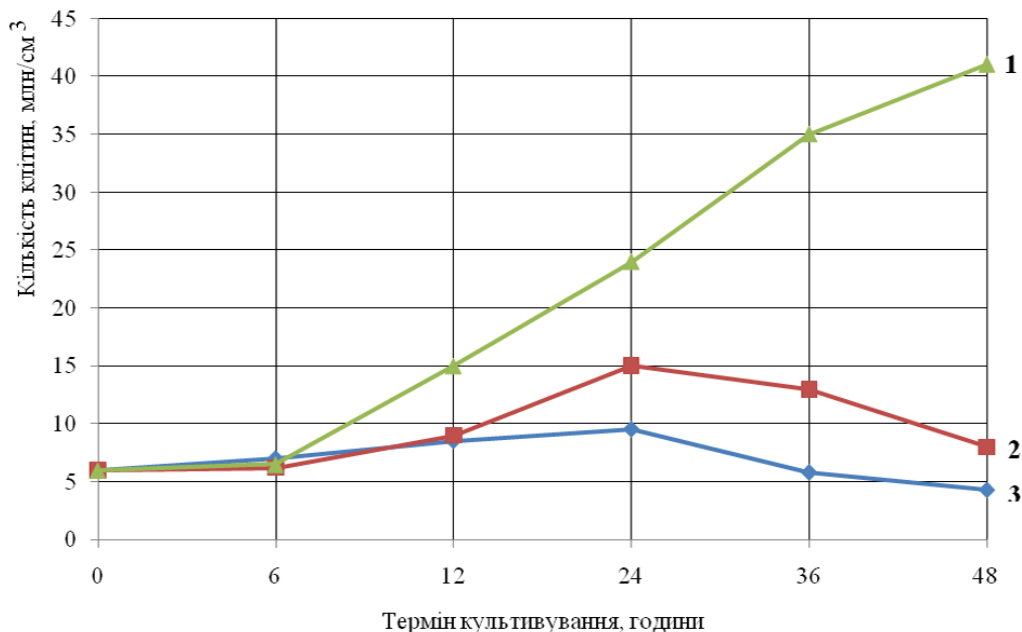


б

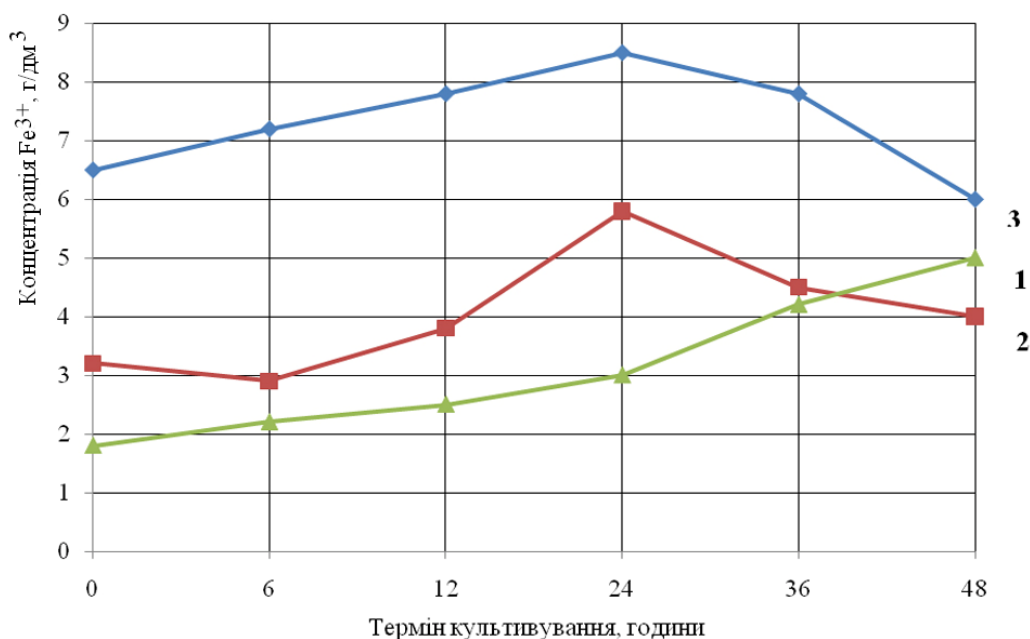
Рис. 1. Кількість клітин (а) і концентрація Fe^{+3} (б) при культивуванні *A. ferrooxidans* МФLad5 на стандартному середовищі 9К з $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, г/дм³: 1 – 12,0; 2 - 30,0; 3 – 44,5.

Аналогічні закономірності отримали при культивуванні штаму *A. ferrooxidans* МФLv6 на середовищі 9К з 44,5 і 30,0 г/дм³ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (рис. 2), але з досягненням найбільшої кількості клітин штаму у середовищі - 9,5 і 15,0 млн/см³ відповідно при 24 годинах культивування. У даному варіанті дослідження

концентрація Fe^{+3} у поживному середовищі через 24 години культивування складала 8,5 і 5,7 г/дм³ відповідно.



a

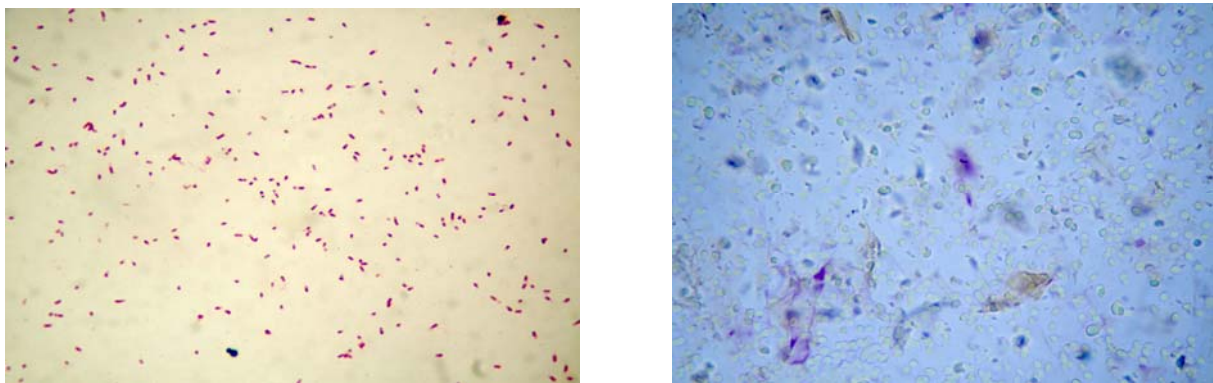


б

Рис. 2. Кількість клітин (a) і концентрація Fe^{+3} (б) при культивуванні *A.ferrooxidans* МФLv6 на стандартному середовищі 9К з $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, г/дм³: 1 – 12,0; 2 - 30,0; 3 – 44,5.

Треба відзначити особливість поведінки обох штамів при культивуванні з великими концентраціями джерела енергії, в даному випадку – двовалентного

заліза, яка виявлялася у припиненні росту, появи круглих великих розмірів клітин (рис. 3б), а також лізисі клітин через 24 і 36 годин культивування. Це співпадало з початком осадження нерозчинених сполук Fe^{+3} . Появу округлих великих клітин також спостерігали при довгостроковому культивуванні досліджуваних штамів. Слід відмітити, що після пересіву такої культури до стандартного поживного середовища з $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (у концентрації $12,0 \text{ г/дм}^3$) або з $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (концентрація $5,0 \text{ г/дм}^3$) вже після першого пасажу відмічали розвиток нормальних клітин.



а

б

Рис. 3. Клітини *A. ferrooxidans* МФLv6, що зростали на середовищі 9К з $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, г/дм^3 : а – 12,0; б – 44,5; зб. $\times 1000$.

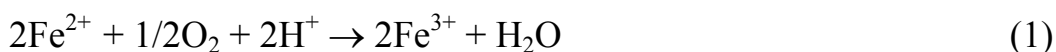
При додаванні до середовища 9К $12,0 \text{ г/дм}^3 \text{ FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ як для *A. ferrooxidans* МФLv6, так і для *A. ferrooxidans* МФLad5 реєстрували поступове зростання біомаси і концентрації Fe^{+3} . Протягом усього терміну культивування не спостерігали осадження сполук заліза і появи клітин з ознаками лізису.

Таким чином, особливістю розвитку *A. ferrooxidans* МФLv6 і *A. ferrooxidans* МФLad5 на стандартному середовищі 9К з $44,5$ і $30,0 \text{ г/дм}^3 \text{ FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ є існування критичної концентрації оксидного заліза, при перевищенні якої спостерігається різке уповільнення росту і лізис клітин досліджуваних штамів. У цьому випадку на клітини бактерій негативно впливають іони Fe^{+3} , які є конкурентними інгібіторами, а також нерозчинені кисневі сполуки оксидного

заліза. Припинення росту, поява роздутих клітин та їх лізис є результатом швидкого окиснення Fe^{+2} та його переходу до Fe^{+3} і, як результат, недолік джерел енергії.

У результаті проведення цих досліджень встановлено, що оптимальною концентрацією двовалентного заліза як джерела енергії для максимального накопичення кількості біомаси обох штамів є $12,0 \text{ г/дм}^3 \text{ FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Однак як показали наступні експерименти при додаванні такої кількості двовалентного заліза до поживного середовища 9К ступінь вилуговування металів з техногенних відходів був мінімальним, незалежно від штаму (рис. 4). Порівняльний аналіз свідчить, що для обох штамів ступінь вилуговування металів є максимальною за концентрації у середовищі 9К $44,5 \text{ г/дм}^3 \text{ FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

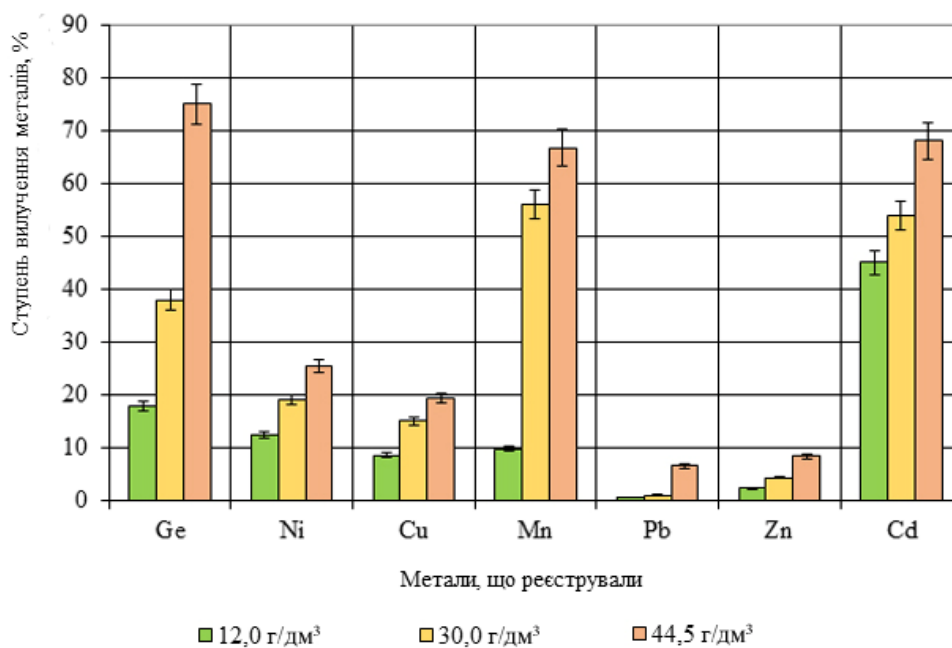
Слід зазначити, що зміни показників рН і Eh при культивуванні досліджуваних штамів на середовищі 9К з різними концентраціями двовалентного заліза є взаємозалежними (рис. 5), а їх характер не відрізняється від подібних залежностей для усіх штамів *Acidithiobacillus ferrooxidans* при їх зростанні з використанням у якості єдиного джерела енергії двовалентного заліза. Це пов'язано з єдиним механізмом процесів окиснення Fe^{+2} , що проходять зі споживанням іонів водню за загальною схемою:



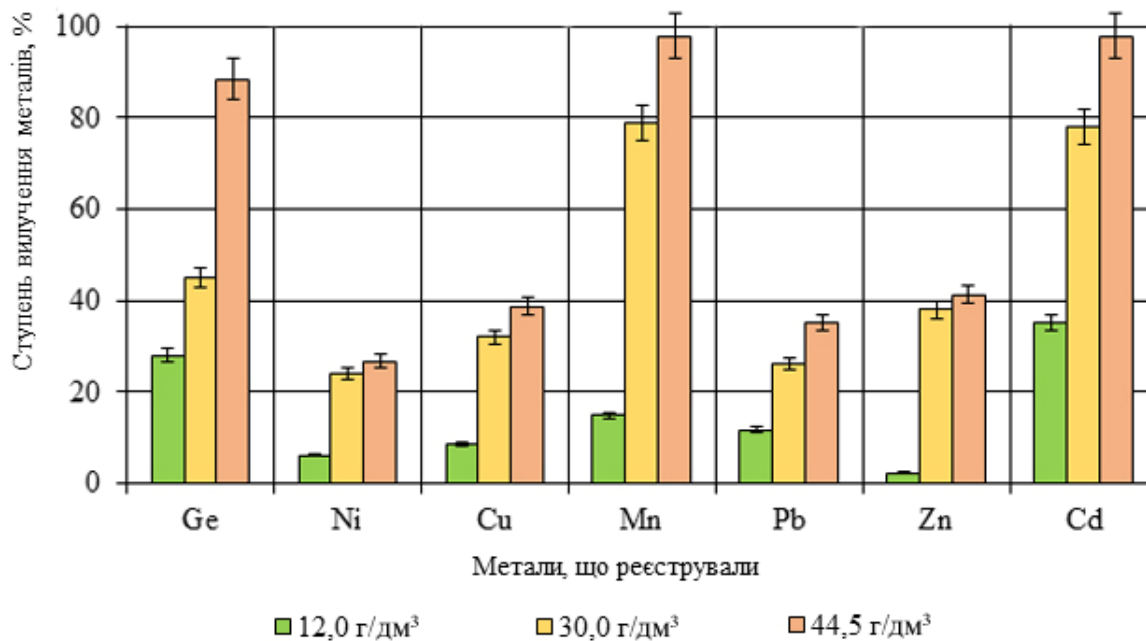
і подальшими реакціями утворення гідратів заліза [9, 10]. Зміна потенціалу у процесі експерименту обумовлена зміною співвідношення концентрацій Fe^{+2} : Fe^{+3} . При досягненні рівноваги



і випадку в осад іону $\text{Fe}(\text{OH})^{+2}$, який слабо дисоціює, відбувається стабілізація концентрації Fe^{+3} на фоні монотонного зниження Fe^{+2} . Це призводить до росту Eh і зниженню рН.

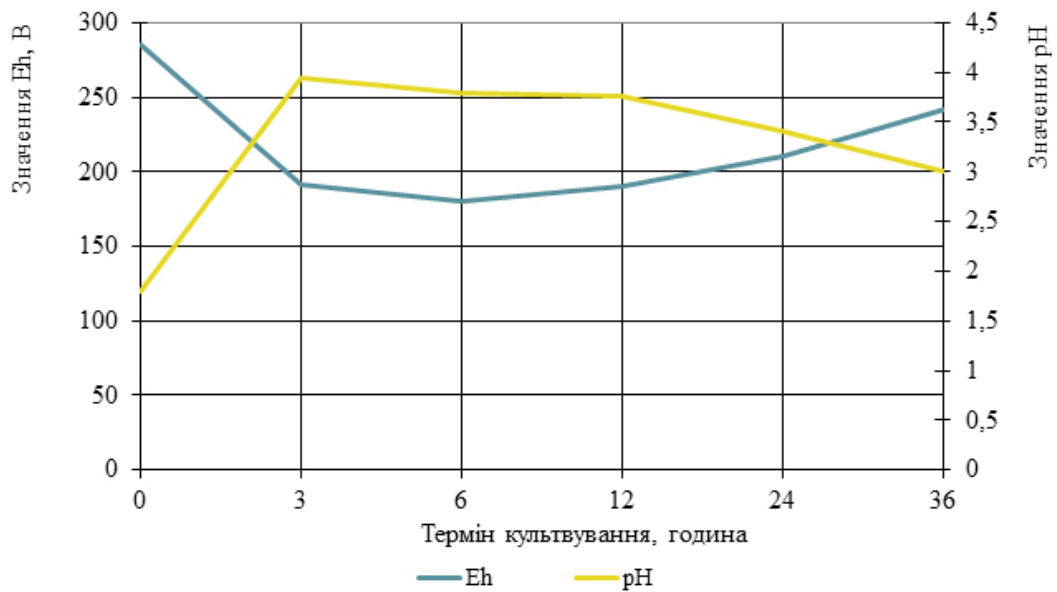


a

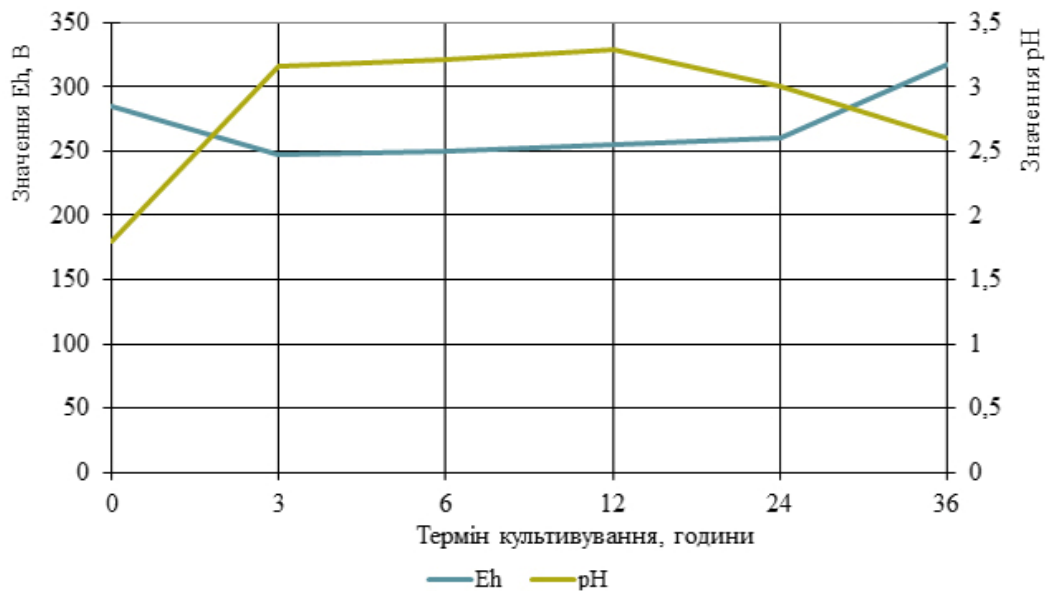


б

Рис. 4. Ступінь вилучення металів *A. ferrooxidans* MFLv6 із породних відвалів (а) і *A. ferrooxidans* MFLad5 із золи-виносу (б) середовищем 9К з $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, г/дм³: 1 – 12,0; 2 - 30,0; 3 – 44,5.



a



б

Рис. 5. Зміна показників Eh і рН при культивуванні *A. ferrooxidans* MFLad5 (a) і *A. ferrooxidans* MFLv6 (б) на середовищі 9К з 44,5 г/дм³ FeSO₄·7H₂O

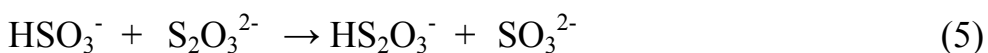
Зростання показника Eh на середовищі 9К, яке містило 44,5 г/дм³ FeSO₄·7H₂O, після трьох - шести годин культивування є наслідком споживання Fe⁺² і накопичення Fe⁺³. Автори роботи [11] запропонували механізм біохімічного окиснення двовалентного заліза за допомогою *A. ferrooxidans*, який протікає у дві стадії. На першій стадії при контакті клітин бактерій з

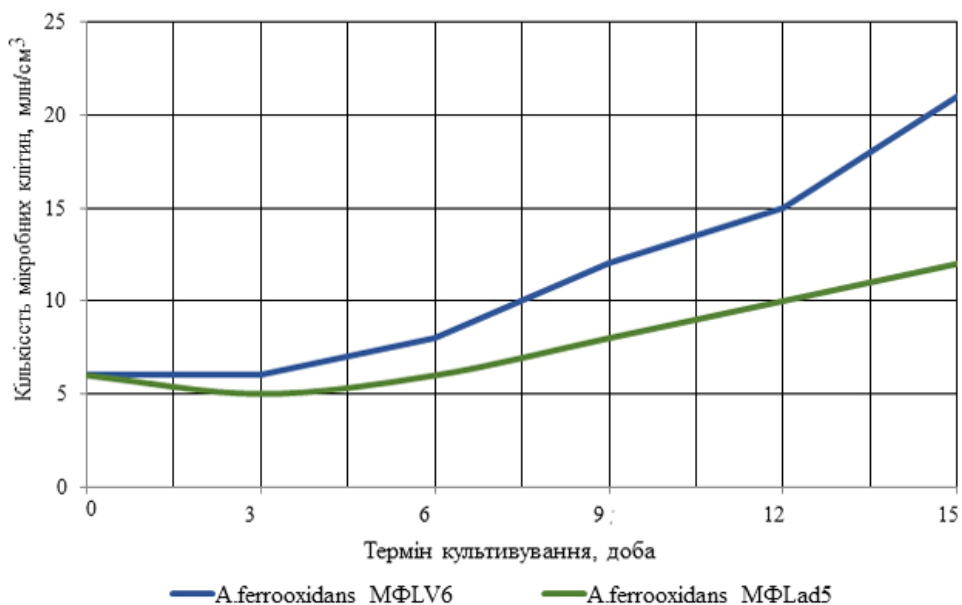
іонами Fe^{2+} останні переходять у периплазматичний простір клітини, у якому електрон, що звільняється при окисненні Fe^{+2} до Fe^{+3} , акцептується клітинним білком рустіціаніном і переноситься по цитохромному ланцюгу через цитоплазматичну мембрану, тобто рустіціанін взаємодіє з Fe^{2+} . На другій стадії електрон по цитохромному ланцюгу переноситься на кисень, який споживає клітина бактерій, і відновлює його на внутрішній стороні цитоплазматичної мембрани за реакцією $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$. При цьому катіони Fe^{+3} створюють з органічними сполуками клітини хелати і виводять їх до навколишнього середовища.

Експериментально доказано, що на відміну від інших бактерій, що здатні до автотрофного росту і окисненню Fe^{+2} , штами *A. ferrooxidans* окислюють двовалентне залізо із швидкістю у 500 тисяч разів більшою, ніж швидкість хімічного окиснення закисного заліза. Тому цей процес був використаний для отримання сульфату Fe(III) для промислових цілей [5, 12].

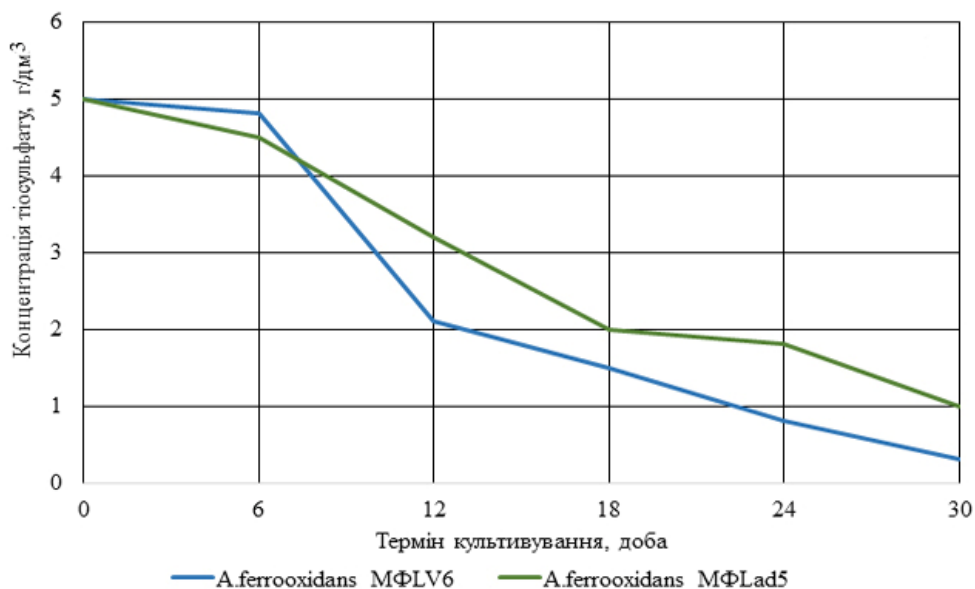
Наступна серія експериментів підтвердила здатність *A. ferrooxidans* МФLv6 і *A. ferrooxidans* МФLad5 використовувати у якості єдиного джерела енергії тіосульфат натрію $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (рис. 6).

Проведені дослідження свідчать, що штам *A. ferrooxidans* МФLv6 мав більшу швидкість росту і протягом усього терміну культивування кількість клітин його приблизно у 1,5 рази перевищувала кількість клітин *A. ferrooxidans* МФLad5. У процесі росту і розвитку обидва штами практично повністю окиснювали $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$: зниження його кількості реєстрували на 95,0 і 86,0 % відповідно. Згідно даних хімічного аналізу, одночасно зі зниженням концентрації тіосульфату в середовищі накопичувалися тетратіонат, сульфат і, у меншій мірі, сульфат, що дозволяють припустити окиснення тіосульфату бактеріями у кислих умовах за такої схемою [13]:





а



б

Рис. 6. Ріст (а) і окиснення тіосульфату (б) штамами *A. ferrooxidans* MΦLV6 і *A. ferrooxidans* MΦLad5

Окиснення $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ призводить до уворення колоїдної сірки, яка відкладається у клітинах бактерій і є особливою відмінністю тіонових бактерій. Для різних представників роду *Acidithiobacillus* встановлено використання внутрішньоклітинної сірки у відсутності двовалентного заліза. Кінцевим продуктом окислення тіоновими бактеріями молекулярної сірки є сульфат:



Питання про окиснення сірки тіоновими бактеріями вельми складне і до кінця не вивчене. Існує дві точки зору, яким чином бактерії взаємодіють з нерозчинною у воді сіркою. Або це безпосередній контакт клітин бактерій з сіркою, або сірка використовується бактеріями після попереднього її розчинення в речовинах ліпідної природи, які виділяються самими бактеріями у середовище. Цілком імовірно, що для окиснення сірки бактеріями важливий і контакт її з клітинами, і виділення ними певних речовин, які «змочують» сірку [5, 14, 15].

У процесі проведення досліджень встановлено, що у присутності тіосульфату ізольовані штами досить ефективно вилуговували метали з «рідних» субстратів: *A.ferrooxidans* МФLv6 - з породних відвалів збагачення вугілля, а штам *A.ferrooxidans* МФLad5 – із золи-виносу ТЕС (рис. 7).

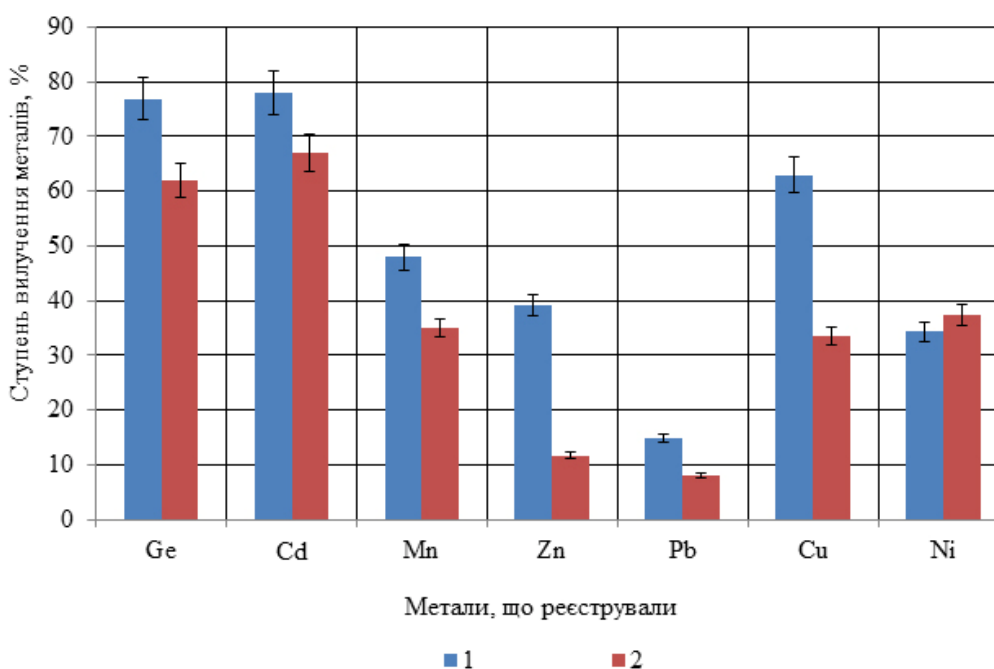


Рис. 7. Ступінь вилуговування металів *A.ferrooxidans* МФLv6 з породних відвалів (1) і *A.ferrooxidans* МФLad5 із золи-виносу (2) при використанні $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ у якості єдиного джерела енергії

ВИСНОВКИ

Таким чином, основним результатом роботи є отримання нових знань про особливості росту і окиснення різних джерел енергії двома штамми,

ізолюваними з аборигених співтовариств техногенних субстратів вугільної і енергетичної промисловості - *Acidithiobacillus ferrooxidans* МФLv6 і *Acidithiobacillus ferrooxidans* МФLad5. Встановлено особливості поведінки обох штамів при культивуванні з великими концентраціями двовалентного заліза у якості джерела енергії, зокрема, існування критичної концентрації $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, при перевищенні якої спостерігається різке уповільнення росту і лізис клітин досліджуваних штамів. Встановлено, що оптимальною концентрацією $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ у якості єдиного джерела енергії є $12,0 \text{ г/дм}^3$ для максимального накопичення біомаси штамів і $44,5 \text{ г/дм}^3$ для найбільш ефективного вилуговування металів з досліджуваних субстратів. Показано, що ізолювані штами відрізняються за швидкістю росту і активністю окиснення джерел енергії - тіосульфату і двовалентного заліза, що дозволяє припустити існування кореляції між умовами існування штамів і їх ознаками та є відображенням штамового поліморфізму.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Васильєва Т.В. Порівняльний аналіз вилучення рідкісних та важких металів з відходів ізолюваними, колекційним та типовим штамми мікроорганізмів [Електронний ресурс] / Т.В.Васильєва // Проблеми екологічної біотехнології 2015. – №2. – Режим доступу:

<http://ecobio.nau.edu.ua/index.php/ecobiotech/article/view/9566>

2. Состав и выщелачивающая активность микробиоценоза техногенных отходов энергетики [Електронний ресурс] / [Блайда И. А., Васильєва Т. В., Слюсаренко Л. И. та ін.] // Проблеми екологічної біотехнології. – 2013. – № 1. – Режим доступу до журналу:

<http://jrnl.nau.edu.ua/index.php/ecobiotech/article/view/4592>

3. Блайда І. А. Особливості співтовариства хемолітотрофних бактерій відходів вуглезбагачення [Електронний ресурс] / І. А. Блайда // Проблеми екологічної біотехнології. – 2014. – № 1. – Режим доступу до журналу:

<http://ecobio.nau.edu.ua/index.php/ecobiotech/article/view/6658>

4. Васильєва Т. В. Різноманітність співтовариств мікроорганізмів у техногенних екосистемах паливно-енергетичного комплексу України [Електронний ресурс] / Т. В. Васильєва // Проблеми екологічної біотехнології. – 2014. – № 1. – Режим доступу до журналу:

<http://ecobio.nau.edu.ua/index.php/ecobiotech/article/view/6660>

5. Заварзин Г.А. Литотрофные микроорганизмы / Заварзін Г.А. – М.: Наука, 1972. – 322 с.

6. Каравайко Г. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд / Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик Э. И. – М.: Наука, 1972. – 248 с.

7. Черняк С.М. Методы гидрохимического анализа объектов морской среды / Черняк С.М., Колобова Т.П., Першина И.В. // Методические основы комплексного экологического мониторинга океана. – М.: Гидрометеиздат, 1988. – С. 23–25.

8. Методы общей бактериологии. Т. 2. – М.: Мир, 1984. – 265 с.

9. Потенциометрическое исследование процесса биовыщелачивания / [Джамбек О.И., Джамбек А.А., Блайда И.А., Васильєва Т.В.] // Материалы II Междунар. конф. “Прикладная физико-неорганическая химия”. – Севастополь, 2013. – С. 293–294.

10. Электрохимическое исследование окислительно-восстановительных процессов, протекающих при химическом выщелачивании металлов / [Джамбек А.А., Джамбек О.И., Блайда И.А. та ін. // Вісник ОНУ. Хімія. – 2013. – Т. 18, вип. 1 (45). – С. 39–43.

11. Куликова О.В. О механизме биохимического окисления Fe(II) бактериями *Thiobacillus ferrooxidans* в условия промышленного производства биомассы коагулянта на основе Fe⁽³⁺⁾ / [Куликова О.В., Розвага Р.И., Клец А.Н.] // Цветная металлургия. – 2000, № 7. – С. 29–31.

12. Иванов М.В. Геологическая микробиология / [М.В. Иванов, Г.И. Каравайко] // Микробиология. – 2004. – Т.73., № 5. – С.581–597.

13. Волынский Н.П. Тиосерная кислота. Политионаты. Реакция Вакенродера / Волынский Н.П. – М.: Наука, 1971. – 80 с.
14. Кузякина Т. И. Биотехнология извлечения металлов из сульфидных руд / [Кузякина Т. И., Хайнасова Т. С., Левенец О. О.] // Вестник наук о Земле. – 2008. – Т. 60., №12. – С. 76–85.
15. Каравайко Г. И. Литотрофные микроорганизмы окислительных циклов серы и железа / [Каравайко Г. И., Дубинина Г. А., Кондратьева Т. Ф.] // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 5. – С. 593–629.

**ОКИСЛЕНИЕ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКОВ ЭНЕРГИИ И ОСОБЕННОСТИ
РОСТА НОВЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ,
ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ТЕХНОГЕННЫХ СУБСТРАТОВ**

**И.А. БЛАЙДА, Т.В. ВАСИЛЬЕВА, А.А. ДЖАМБЕК, О.И. ДЖАМБЕК,
В.Ю. БАКЛАН**

Биотехнологический научно-учебный центр
Одесского национального университета имени И.И. Мечникова

*Подбор условий культивирования новых штаммов *Acidithiobacillus ferrooxidans*, способствующих активному накоплению биомассы на стадии ее наращивания до внесения в выщелачиваемые субстраты, позволяет значительно интенсифицировать процесс биовыщелачивания. Изучали особенности роста изолированных из отвалов углеобогащения и золы-уноса от сжигания угля новых мезофильных штаммов *Acidithiobacillus ferrooxidans* МФLv6 и МФLad5 на разных источниках энергии - двухвалентном железе ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) и тиосульфате натрия ($Na_2S_2O_3$), и установили интенсивность окисления этих энергетических субстратов исследуемыми штаммами. Контролируемыми параметрами были значение pH и Eh, концентрация окисленного Fe^{+3} и количество клеток. Установлены особенности поведения обоих штаммов при культивировании с большими концентрациями*

двухвалентного железа в качестве источника энергии, в частности, существование критической концентрации $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, при превышении которой наблюдается резкое замедление роста и лизис клеток исследуемых штаммов. Установлено, что оптимальной концентрацией $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ в качестве единственного источника энергии является $12,0 \text{ г/дм}^3$ для максимального накопления биомассы штаммов и $44,5 \text{ г/дм}^3$ для наиболее эффективного выщелачивания металлов из исследуемых субстратов. Изолированные штаммы отличаются по скорости роста и активности окисления источников энергии - тиосульфата и двухвалентного железа, что позволяет предположить существование корреляции между условиями существования штаммов и их признаками и является отражением штаммового полиморфизма.

Ключевые слова: породные отвалы, зола-унос, ацидофильные хемолитотрофные бактерии, изолированные штаммы, активность выщелачивания, источники энергии, германий.

THE OXIDATION OF DIFFERENT ENERGY SOURCES AND FEATURES OF THE GROWTH OF NEW STRAINS OF MICROORGANISMS, ISOLATED FROM INDUSTRIAL SUBSTRATES

**I.A. BLAYDA, T.V. VASYLEVA, A.A. DGAMBEK, O.I. DGAMBEK,
V.YU. BAKLAN**

Biotechnological centre of I.I. Mechnikov Odessa National University

The selection of cultivation conditions for new strains of Acidithiobacillus ferrooxidans allows significantly intensify the process of bioleaching. This approach promotes active accumulation of biomass at the stage of active growth before adding the biomass in substrates. The strains were isolated from waste dumps coal beneficiation and fly ash from coal combustion. Have been studied the growth characteristics of new strains of mesophilic Acidithiobacillus ferrooxidans (MFLv6

and MFLad5) at different energy sources - ferrous iron ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) and sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). We set the intensity of the oxidation of energy substrates investigated strains. The intensity of oxidations of energy substrates by studied strains has been established. The index pH and Eh, the concentration of oxidized Fe^{+3} and the number of cells were parameters that are been monitored. The features of behavior both strains at cultivation with high concentration of ferrous iron, as an energy source, have been established. In particular, the existence of a critical concentration of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, above which there is a dramatic slowdown in growth and lysis of the cells has been observed. It has been established that for maximum biomass accumulation of strains the concentration of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ as the only energy source in 12.0 g/dm^3 is optimum and 44.5 g/dm^3 for the most efficient leaching of metals from the studied substrates. The isolated strains differ in the growth rate and oxidation activity of energy sources - ferrous iron and thiosulfate. The obtained results suggest the existence of a correlation between the conditions of growth of the strains, their characteristics, and is a reflection a polymorphism strains

Key words: waste dumps, fly ash, acidophilus chemolithotrophic bacteria, isolated strains, the activity of leaching, energy sources, germanium.