

СОСТАВ И ВЫЩЕЛАЧИВАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТЕХНОГЕННЫХ ОТХОДОВ ЭНЕРГЕТИКИ

**И.А. БЛАЙДА, Т.В. ВАСИЛЬЕВА, Л.И. СЛЮСАРЕНКО,
И.Н. БАРБА, В.А. ИВАНИЦА**

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

*Впервые дана характеристика техногенных отходов энергетической промышленности на примере золы от сжигания Павлоградских углей на Ладыжинской ТЭС (Украина). Определена структура микробного ценоза исследуемой золы, представленная гетеротрофными и ацидофильными хемолитотрофными бактериями, как мезофильными, так и умеренно термофильными. В процессе исследований установлена высокая выщелачивающая активность консорциума ацидофильных хемолитотрофных бактерий. Подтверждена лидирующая роль в процессах выщелачивания металлов бактерий рода *Acidithiobacillus*, в том числе *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Полученные новые знания о структуре и выщелачивающей активности собственной микробиоты золы от сжигания углей легли в основу разработки унифицированной многостадийной технологии бактериального выщелачивания ценных компонентов из отходов предприятий энергетической промышленности.*

Ключевые слова: зола, уголь, сообщество, консорциум, микробный биоценоз, гетеротрофные микроорганизмы, ацидофильные хемолитотрофные бактерии, активность, биовыщелачивание.

Вступление. Главным направлением использования углей является их сжигание с целью получения электрической и тепловой энергии. При этом

ценные компоненты, входящие в минеральную (зольную) составляющую углей, концентрируются в зольных уносах и золах в количествах, значительно превышающих их содержание в исходном угле. Поэтому отходы, образующиеся в процессе сжигания углей, в последнее время привлекают к себе особое внимание как сырье для получения таких редких металлов, как германий и галлий, а также целого ряда ценных цветных металлов (алюминий, медь, железо, кадмий, никель и т.д.) [1].

Для извлечения металлов из исходного сырья применяют отработанные пиро- и гидрометаллургические методы, предусматривающие использование сильных кислот и оснований, высоких температур и давления [1, 2]. Однако в связи с ужесточением мер по охране окружающей среды стандартные химические методы нецелесообразны как с экологических, так и с экономических позиций. В сложившейся ситуации возникает обоснованная необходимость разработки и внедрения современных методов бактериального выщелачивания [3-5]. Для их успешного применения необходимо в первую очередь провести комплексную химико-биологическую оценку исходного сырья – изучить количественный и качественный состав, выщелачивающую активность консорциума собственной микробиоты и возможность селективного выделения активных культур ацидофильных хемолитотрофных бактерий.

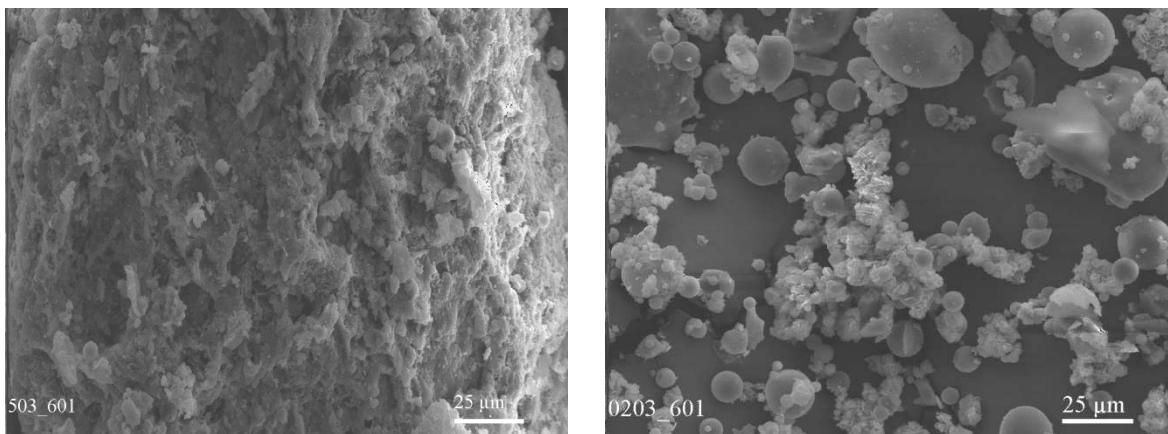
Ключевым фактором, определяющим скорость и степень биовыщелачивания металлов, является видовой состав и окислительная активность микробиоценоза металлсодержащих техногенных отходов. Изучение микробного состава минерального сырья природного (геогенного) происхождения свидетельствует о наличии в них представителей мезофильных и умеренно термофильных ацидофильных бактерий. Оценка их биогеохимической активности показывает, что эти микроорганизмы в природных условиях играют важную роль в выщелачивании металлов из сульфидных руд [6-8]. Аналогичные процессы могут происходить и в минеральном сырье техногенного происхождения. Однако данные о структуре и соотношении различных групп микроорганизмов, физиолого-биохимических

особенностях и практически полезных свойствах бактерий, обитающих в этих искусственных экосистемах, отсутствуют.

В связи с этим целью работы было определение структуры микробиоценоза золы от сжигания угля Павлоградского месторождения (Украина, Днепропетровская обл.) на Ладыжинской ТЭС, а также оценка вклада различных групп микроорганизмов, населяющих золу, в выщелачивание металлов.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования служила зола от сжигания Павлоградского угля на Ладыжинской ТЭС, состав которой по основным металлам представлен в таблице 1. Зола представляет собой аморфный пылевидный мелкодисперсный продукт с однородными частицами серого цвета (размером $\leq 1,00 \pm 0,05$ мм), содержащим выкристаллизованные вкрапления основных фаз сырья – кварца $\alpha\text{-SiO}_2$, оксидов железа Fe_2O_3 , алюминия $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, кальция, магния, калия, натрия, значителен вклад карбонатов и силикатов (рис. 1а). Содержание в золе невыгоревшего углерода достигает, % – 10,0; SiO_2 – 45,0; серы – 2,0. Основными ценными составляющими золы являются редкие и цветные металлы (германий, галлий, свинец, цинк, молибден, вольфрам, олово, бериллий, цирконий, висмут, селен, кадмий, ртуть и др.) в количествах, превышающих их промышленно значимые концентрации (табл. 1) [9].

Предметом исследования служил консорциум собственной микробиоты, присутствующий в исследуемом минеральном сырье, а именно – создание условий для обнаружения широкого спектра различных представителей аборигенной микробиоты и дальнейшей оценки их вклада в процессы извлечения металлов. Для обнаружения различных физиологических групп микроорганизмов методом накопительных культур были использованы стандартные питательные среды. Для хемолитотрофных ацидофильных бактерий использовали среды 9К и 9К* (состав приведен в табл. 2); для гетеротрофных – среду Горбенко; для мицелиальных грибов – среду Чапека [6, 10-13].



а – до обработки

б – после обработки

Рис. 1. Микрофотографии золы Ладыжинской ТЭС до и после микробиологической обработки

Накопление биомассы различных представителей микробиоценоза исследуемой золы проводили в колбах объемом $0,2 \text{ дм}^3$, в которые вносили по $2,0 \text{ г}$ исследуемой золы и $20,0 \text{ мл}$ соответствующей питательной среды. Посевы инкубировали при температуре $30,0 \pm 2,0 \text{ }^\circ\text{C}$ или $45,0 \pm 2,0 \text{ }^\circ\text{C}$ при $\text{pH} \leq 2,0$ в течение 3-7 суток. О развитии бактерий судили по появлению микробных клеток. Определение численности бактерий различных физиологических групп проводили методом предельных десятикратных разведений [11].

О биогеохимической активности сообщества гетеротрофных и хемолитотрофных, как мезофильных, так и умеренно термофильных бактерий, обитающих в техногенных отходах, судили по концентрации металлов, перешедших из твердой фазы в среду культивирования. Содержание металлов в растворах определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии на приборах ААС-1 и С-115ПК Selmi [14].

Достоверность полученных результатов оценивали по критерию Стьюдента. При определении содержания элементов в образцах относительное стандартное отклонение для трех повторяемых измерений не превышало $0,03-0,05$.

Таблица 1

Содержание металлов в золе Ладыжинской ТЭС

| Элемент | Промышленные концентрации, мг/кг | Обнаруженные концентрации, мг/кг |
|----------|----------------------------------|----------------------------------|
| Медь | 45,0–60,0 | 50,0 |
| Цинк | 65,0–70,0 | 70,0 |
| Марганец | $(0,8–1,0) \cdot 10^3$ | 700,0 |
| Свинец | 18,0–22,0 | 30,0 |
| Никель | 80,0–120,0 | 50,0 |
| Кадмий | 45,0–55,0 | 2,0 |
| Железо | $(1,5–2,0) \cdot 10^3$ | $73,9 \cdot 10^3$ |
| Галлий | 10,0–15,0 | 10,0 |
| Германий | 5,0–7,0 | 700,0 |
| Олово | 90,0–120,0 | 351,9 |
| Хром | 190,0–210,0 | 99,1 |
| Ванадий | 140,0–160,0 | 214,5 |
| Кобальт | 37,0–42,0 | 116,1 |
| Алюминий | $(2,5–5,0) \cdot 10^3$ | $59,4 \cdot 10^3$ |

Таблица 2

Состав сред, используемых для обнаружения ацидофильных хемолитотрофных бактерий

| Вещество | Используемые среды | |
|-----------------------------------|---|---|
| | 9К для представителей рода <i>Acidithiobacillus</i> , г/л | Модифицированная 9К* для представителей рода <i>Sulfobacillus</i> , г/л |
| $\text{NH}_4(\text{SO}_4)_2$ | 3,0 | 0,450 |
| KCl | 0,1 | 0,05 |
| K_2HPO_4 | 0,5 | - |
| KH_2PO_4 | - | 0,05 |
| MgSO_4 | 0,5 | 0,5 |
| $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 0,01 | 0,014 |
| Na_2SO_4 | - | 0,150 |
| Дрожжевой экстракт | - | 20,0 |
| | Источник энергии | |
| $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ | 5,0 | - |
| S^0 | 2,0 | - |
| FeSO_4 | 44,5 | 30,0 |

Результаты и их обсуждение. В результате проведенной работы из золы Ладыжинской ТЭС стандартными микробиологическими методами получены накопительные культуры микроорганизмов различных физиологических групп - гетеротрофных, мицелиальных грибов и ацидофильных хемолитотрофных сероокисляющих бактерий. О развитии микроорганизмов судили по появлению бактериальных клеток, помутнению и изменению цвета культуральной жидкости. Результаты определения качественного и количественного состава микробиоценоза золы Ладыжинской ТЭС приведены в табл. 3.

Таблица 3

Количественный (КОЕ/мл накопительной культуры) и качественный состав микробиоценоза золы Ладыжинской ТЭС

| Гетеротрофные микроорганизмы | | | Ацидофильные хемолитотрофные бактерии | | | | |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------|---|----------------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | | | Мезофиллы, окисляющие различные источники энергии-представители рода <i>Acidithiobacillus</i> | | Умеренные термофилы - представители родов | | |
| Среда Горбенко | | Среда Чапека | Среда 9К | | Среда 9К | Среда 9К* | |
| Спорообразующие | Неспорообразующие | Мицелиальные грибы | Источники энергии | | | | |
| | | | $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ | S^0 | Fe^{+2} | Fe^{+2} | Fe^{+2} |
| $1,2 \pm 0,24 \times 10^5$ | $4,5 \pm 0,28 \times 10^5$ | $2,5 \pm 0,32 \times 10^2$ | $3,5 \pm 0,43 \times 10^3$ | $1,5 \pm 0,24 \times 10^2$ | $6,6 \pm 0,64 \times 10^4$ | $6,4 \pm 0,37 \times 10^8$ | $6,4 \pm 0,59 \times 10^7$ |

Примечание: 9К* модифицированная среда 9К для представителей рода *Sulfobacillus*

Техногенные отходы энергетической промышленности относят к биокосным системам, но, несмотря на это, в них обнаружены в большом количестве гетеротрофные бактерии – как спорообразующие, так и неспорообразующие. Количество микроскопических грибов, населяющих исследуемые техногенные отходы, было незначительным.

В ацидофильных условиях сообщества микроорганизмов включают представителей хемолитотрофных бактерий, относящиеся к родам *Acidithiobacillus*, *Sulfobacillus*, *Leptospirillum*, *Acidimicrobium*, а также археи, принадлежащие к родам *Acidianus*, *Sulfolobus*, *Ferroplasma*. Лидирующими в

процессах выщелачивания металлов считаются тионовые бактерии [3, 5, 7, 13, 15]. Поэтому в наших исследованиях именно этой группе было уделено особое внимание.

Количество этих групп бактерий практически не отличалось друг от друга (табл. 3), но было в 10^2 - 10^3 раз меньше численности гетеротрофных бактерий. Условия развития накопительных культур и полученные результаты позволяют считать, что в исследованной золе обитают представители рода *Acidithiobacillus*, а широкий спектр окисляемых источников энергии - наличие основной группы выщелачивающих бактерий – *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Acidithiobacillus thiooxidans* в отличие от *Acidithiobacillus ferrooxidans* окисляет только восстановленные соединения серы. В исследуемом минеральном сырье количество бактерий, окисляющих тиосульфат и серу, было минимальным. Результаты, полученные при проведении данных исследований, согласуются с имеющимися литературными данными [5, 7, 16].

В последнее время исследователи уделяют особое внимание группе умеренно термофильных бактерий, так как при повышенной температуре процессы выщелачивания проходят интенсивнее и в более короткие сроки. Эта группа бактерий, как и тионовые, играет значительную роль в биогидрометаллургических процессах. Среди умеренно термофильных бактерий встречаются представители рода *Sulfobacillus* и *Acidithiobacillus* [3, 7, 15].

В отдельной серии наших экспериментов были созданы условия для развития умеренно термофильных бактерий. Как было установлено, их численность даже превышала количество гетеротрофных микроорганизмов, населяющих исследуемые техногенные отходы (табл. 3). Полученные результаты соответствуют современным литературным данным [3, 6, 7, 13, 15].

Параллельно с определением численности различных групп бактерий, была оценена их способность выщелачивать металлы из исследуемой золы. В сульфидных рудах и природных концентратах целевыми металлами являются медь, цинк, свинец и железо. В исследуемых нами техногенных отходах в качестве целевых были выбраны редкие металлы – германий, галлий, а также

макрокомпоненты, содержание которых в минеральном сырье позволяет отнести их к промышленно рентабельным (табл. 1).

Несмотря на высокую численность гетеротрофных бактерий, эффективность выщелачивания ими металлов, в том числе германия и галлия, не превышала 10,0% (рис. 2).

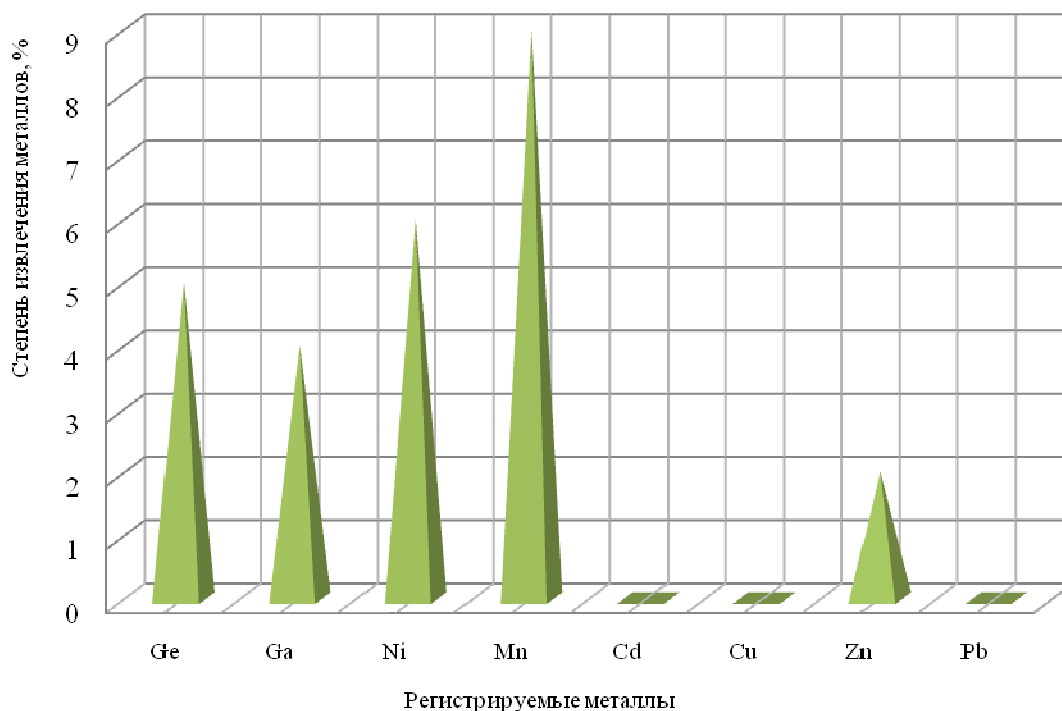


Рис. 2. Степень извлечения (%) металлов ассоциацией гетеротрофных бактерий, обитающих в золе Ладыжинской ТЭС

При развитии сообщества мезофильных ацидофильных хемолитотрофных бактерий, способных окислять двухвалентное железо и тиосульфат, в раствор, независимо от источника энергии, практически полностью переходили германий, галлий и кадмий, а также от 61,0 до 76,6 % никеля (рис. 3). Максимальное количество извлеченных в раствор марганца, меди и цинка - 10,7, 19,0 и 20,2 % соответственно - происходило при внесении в среду двухвалентного железа в качестве энергетического субстрата.

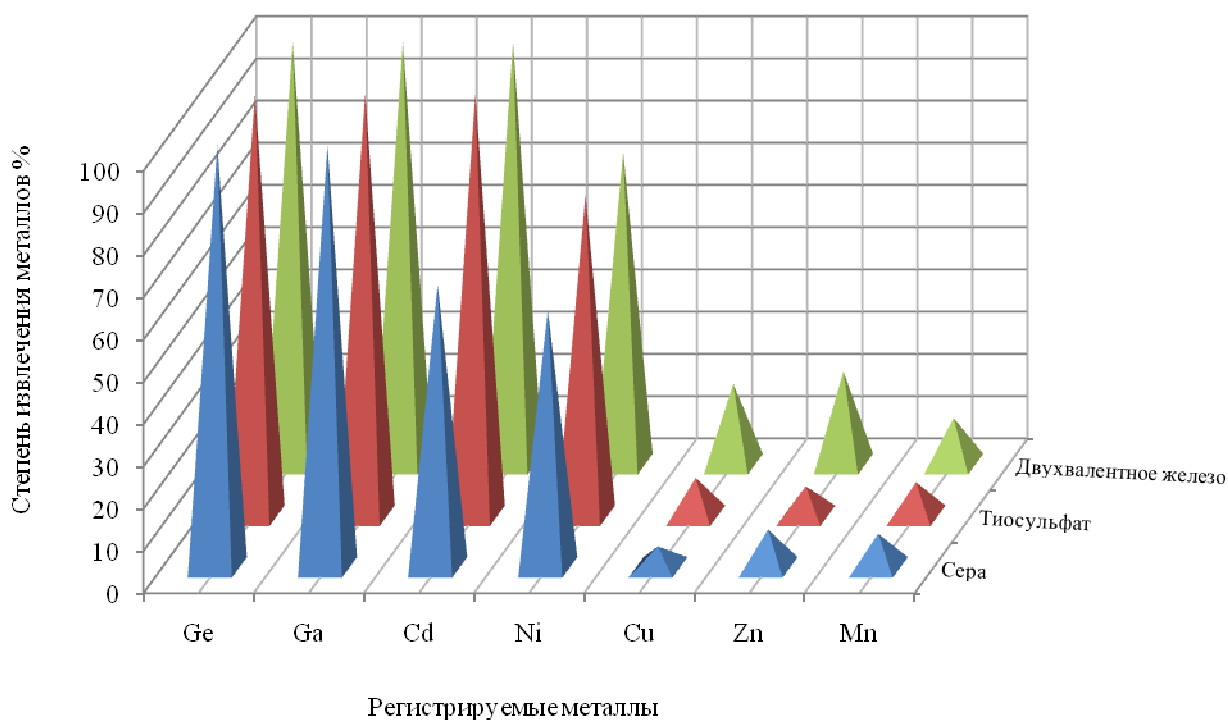


Рис. 3. Степень извлечения (%) металлов ассоциацией мезофильных ацидофильных хемолитотрофных бактерий, обитающих в золе Ладыжинской ТЭС

Таким образом, несмотря на то, что численность ацидофильных хемолитотрофных бактерий, входящих в микробиоценоз золы Ладыжинской ТЭС, была минимальной, их выщелачивающая активность относительно извлечения металлов превышала выщелачивающую активность сообщества гетеротрофной микробиоты. Также следует отметить, что при внесении двухвалентного железа в среду эффективность извлечения металлов была выше, чем при использовании других энергетических субстратов. Полученные результаты подтверждают ведущую роль *Acidithiobacillus ferrooxidans* в процессах бактериального выщелачивания металлов [6, 7, 16].

Количественные показатели извлечения металлов из золы Ладыжинской ТЭС различными представителями умеренно термофильных ацидофильных бактерий достигали 60,0 – 100,0% (рис. 4).

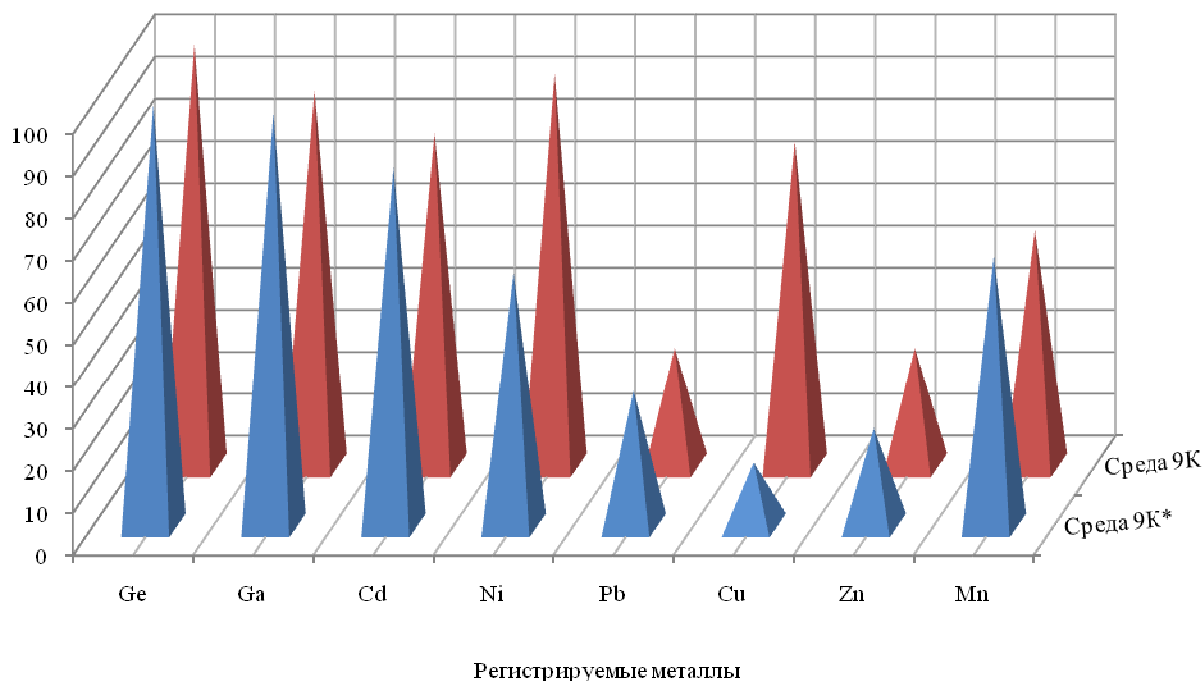


Рис.4. Степень извлечения (%) металлов ассоциацией умеренно термофильных ацидофильных хемолитотрофных бактерий, обитающих в золе Ладыжинской ТЭС

Основным результатом проведенной работы было установление наличия в исследуемых техногенных отходах сравнительно богатого специфического микробиоценоза, представленного сообществами гетеротрофных и ацидофильных хемолитотрофных бактерий. Сравнение собственных результатов и имеющихся литературных данных позволяет считать, что качественный состав ацидофильных хемолитотрофных бактерий, обитающих в техногенных отходах различного происхождения, практически не отличается от структуры микробиоценозов природных сульфидных руд. Присутствующие в исходном субстрате в качестве собственной микробиоты сообщества гетеротрофных и ацидофильных хемолитотрофных бактерий, как мезофильных так и умеренно термофильных, способны выщелачивать металлы из золы с высокими показателями, разрушая достаточно устойчивые кристаллические структуры, образуя пустоты и увеличивая аморфность субстрата после микробиологической обработки (рис. 1б).

Полученные новые знания о структуре микробного ценоза техногенных экологических ниш позволят с одной стороны судить об окислительно-восстановительных процессах, протекающих в исследуемых субстратах, с другой стороны - оценить вклад различных групп микроорганизмов в процессы извлечения металлов и, как результат, разработать унифицированные биотехнологические подходы эффективного выщелачивания металлов из техногенных отходов различного происхождения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пашков Г.Л. Зола природных углей – нетрадиционный сырьевой источник редких элементов / Г.Л. Пашков // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7, № 11. – С. 67-72.
2. Шпирт М.Я. Физико-химические основы переработки германиевого сырья / М.Я. Шпирт. – М.: Металлургия, 1977. – 264 с.
3. Блайда И.А. Извлечение ценных металлов при переработке промышленных отходов биотехнологическими методами (Обзор) / И.А. Блайда // Энерготехнологии и ресурсосбережение. – 2010. – № 6. – С. 39–45.
4. Каравайко Г.И. Литотрофные микроорганизмы окислительных циклов серы и железа / Г.И. Каравайко, Г.А. Дубинина, Т.Ф. Кондратьева // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 5. – С. 593–629.
5. Каравайко Г. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд / Г.И. Каравайко, С.И. Кузнецов, Э.И. Голомзик. – М.: Наука, 1972. – 248 с.
6. Каравайко Г.И. Практическое руководство по биогетехнологии металлов / Г.И. Каравайко. – М.: АН СССР, 1989. – 371 с.
7. Кузякина Т. И. Биотехнология извлечения металлов из сульфидных руд / Т.И. Кузякина, Т.С. Хайнасова, О.О. Левенец // Вестник наук о Земле. – 2008. – Т. 60, Вып. 12. – С. 76–85.
8. Полькин С.И. Технология бактериального выщелачивания цветных и редких металлов / С.И. Полькин, Э.В. Адамов, В.В. Панин. – М.: Недра, 1982. – 288 с.

9. Зубова Л.Г. Терриконики угольных шахт – источники сырья для металлургии / Л.Г. Зубова // Уголь Украины. – 2000. – № 6. – С. 32–33.
10. Методы общей бактериологии. Т. 2. – М.: Мир, 1984. – 265 с.
11. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Изд-во Московского университета, 1976. – 507 с.
12. Современная микробиология. Прокариоты // Под ред. Ленгелера Й., Дрекса Г., Шлегеля Г. Перевод с англ. / Под ред. Нетрусова А.И. – М.: Мир, 2005. – Т. 2. – С. 178–180.
13. Т.И. Bogdanova *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov., a thermotolerant chemolithotrophic bacterium / Т.И. Bogdanova, I.A. Tsaplina, T.F. Kondrat'eva et al. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2006. – V. 56. – P.1039–1042.
14. Хавезов И. Атомно-абсорбционный анализ / И. Хавезов, Д. Цалев. – Л.: Химия, 1983. – 144 с.
15. К.В. Hallberg Characterization of *Thiobacillus caldus* sp. nov., a moderately thermophilic acidophile / К.В. Hallberg, E.B. Lindstrom // Microbiology. – 1994. – V. 140. – P. 3451-3456.
16. Канаева З.К. Микробиоценозы хемолитотрофных растворов подземного выщелачивания уранового месторождения «Карамурун» / З.К. Канаева, А.Т. Канаев // Биологические науки – 2012 – № 5. – С. 153-157.

СКЛАД І ВИЛУГОВУЮЧА АКТИВНІСТЬ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ТЕХНОГЕННИХ ВІДХОДІВ ЕНЕРГЕТИКИ

І.А. БЛАЙДА, Т.В. ВАСИЛЬЄВА, Л.І. СЛЮСАРЕНКО,

І.М. БАРБА, В.О. ІВАНИЦЯ

Біотехнологічний науково-навчальний центр

Одеського національного університету імені І.І. Мечникова

*Вперше дана характеристика техногенних відходів енергетичної промисловості на прикладі золи від спалювання Павлоградського вугілля на Ладизинській ТЕС (Україна). Визначено структуру мікробного ценозу досліджуваної золи, яка представлена гетеротрофними і ацидофільними хемолітотрофними бактеріями, як мезофільними, так і помірно термофільними. У процесі досліджень встановлена висока вилуговуюча активність консорціуму ацидофільних хемолітотрофних бактерій. Підтверджено важливу роль у процесах вилуговування металів бактерій роду *Acidithiobacillus*, в тому числі *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Отримані нові знання про структуру і вилуговуючу активність власної мікробіоти золи від спалювання вугілля лягли в основу розробки уніфікованої багатостадійної технології бактеріального вилуговування цінних компонентів з відходів підприємств енергетичної промисловості.*

Ключові слова: *зола, вугілля, співтовариство, консорціум, мікробний біоценоз, гетеротрофні мікроорганізми, ацидофільні хемолітотрофні бактерії, активність, біовилуговування.*

COMPOSITION AND LEACHING ACTIVITY OF ENERGY INDUSTRIAL WASTE MICROBIOCENOSIS

*I.A. BLAYDA, T.V. VASYLEVA, L.I. SLYSARENKO,
I.N. BARBA, V.O. IVANYTSIA*

Biotechnological centre of I.I. Mechnikov Odessa National University

For the first time ever characteristics of energy industrial wastes as an example of ash from the combustion of Pavlogradskij coal at Ladyzhynskaya TPP (Ukraine) was given. The structure of investigated microbial coenosis ash was presented by acidophilic chemolithotrophic and heterotrophic bacteria, as mesophilic and moderately thermophilic. During the study high activity of the consortium of acidophilic chemolithotrophic bacteria was determined. Confirmed the leading role bacteria of the genus Acidithiobacillus, including Acidithiobacillus ferrooxidans, in the process of metal leaching. The obtained new knowledge about the structure and leaching activity of their own microbiota of ash from the burning of coal formed the basis for the development of a unified multi-stage technology bacterial leaching of valuable components from waste energy industry.

Keywords: *ash, coal, community, consortium, microbial biocoenosis, heterotrophic bacteria, acidophilus chemolithotrophic bacteria, activity, bioleaching.*