

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ ВА МИКРОБИОЛОГИЯ
ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ 14.07.2016.В.01.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ
КЕНГАШ**

МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

ЗАЙНИТДИНОВА ЛЮДМИЛА ИБРАХИМОВНА

**ҒАРБИЙ ЎЗБЕКИСТОН КОНЛАРИНИНГ КАМ МИҚДОРДАГИ
СУЛЬФИД МАЪДАНЛАРИГА ФИЛЬТРАЦИОН ИШЛОВ
БЕРИШНИНГ МИКРОБИОЛОГИК ТЕХНОЛОГИЯЛАРИ**

**03.00.04 – Микробиология ва вирусология
(биология фанлари)**

ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

ТОШКЕНТ – 2016

Докторлик диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата докторской диссертации
Content of the abstract of doctoral dissertation

Зайнитдинова Людмила Ибрахимовна Гарбий Ўзбекистон конларининг кам микдордаги сульфид маъданларига филтрацион ишлов беришининг микробиологик технологияси.....	3
Зайнитдинова Людмила Ибрахимовна Микробные технологии фильтрационного выщелачивания бедных сульфидных руд месторождений западного Узбекистана	33
Zaynitdinova Lyudmila Ibrahimovna Microbial technologies of filtrational leaching of base silphide ores of deposits of the western Uzbekistan.....	63
Эълон қилинган ишлар рўйхати Список опубликованных работ List of published works.....	90

ЗАЙНИТДИНОВА ЛЮДМИЛА ИБРАХИМОВНА

**ҒАРБIIЙ ЎЗБЕКИСТОН КОНЛАРИНИНГ КАМ МИҚДОРДАГИ
СУЛЬФИД МАЪДАНЛАРИГА ФИЛЬТРАЦИОН ИШЛОВ
БЕРИШНИНГ МИКРОБИОЛОГИК ТЕХНОЛОГИЯЛАРИ**

**03.00.04 – Микробиология ва вирусология
(биология фанлари)**

ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

ТОШКЕНТ – 2016

3

Докторлик диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида № 14.07.2016/В2016.3.В35 рақам билан рўйхатга олинган.

Докторлик диссертацияси Микробиология институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз) Илмий кенгаш веб-саҳифасининг ik.bio.nyu.uz ҳамда «ZiyoNet» ахборот-таълим портали www.ziyounet.uz манзилларига жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи: Арипов Таҳир Фатихович

биология фанлари доктори, академик

Расмий оппонентлар: Мавлоний Машхура Игамовна

биология фанлари доктори, академик

Давранов Кахрамон Давранович

биология фанлари доктори, профессор

Ахунов Али Ахунович

биология фанлари доктори, профессор

Ётақчи ташкилот: Ўсимлик ва ҳайвонот олами генофонди институти

Диссертация ҳимояси Ўзбекистон Миллий университети ва Микробиология институти ҳузуридаги 14.07.2016 й. 01.03 рақамли Илмий кенгашнинг 2016 йил 29-ноябр куни, соат 16:00 даги мажлисида бўлиб ўтди. (Манзил: 100174, Тошкент ш., Олмазор тумани, Университет-4 кўч., Ўзбекистон Миллий университети, Биология факультети мажлислар зали. Тел. (+99871) 227-12-24, факс: (+99871) 246-53-21; (+99871) 246-02-24, e-mail: nauka@nuu.uz).

Докторлик диссертацияси билан Ўзбекистон Миллий университетининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (23 рақам билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Университет кўчаси, 4-уй. ЎЗМУ Мазмунрий биноси, 2-қават, 4-хона. Тел. (+99871) 236-46-55; факс: (+99871) 246-02-24.

Диссертация автореферати 2016 йил 14-ноябр куни тарқатилди.
(2016 йил 14-ноябр даги 15 рақамли респстр бўлинмаси)



Г.Н. Джуманизова
Фан доктори илмий даражасини берувчи илмий кенгаш
раиси, б.ф.д., профессор

З.А. Маматова
Фан доктори илмий даражасини берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.н.

Т.Г. Гулямова
Фан доктори илмий даражасини берувчи илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (Докторлик диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бутун дунёда сульфид маъданларини қайта ишлаб, рангли металллар ва уранни олиш учун бактериал суюкликда эритиб ажратиб олиш танилган усул ҳисобланади. Бу

усулда маъданларни қайта ишлаш бошқа усулларга караганда экологик, иқтисодий томондан жуда ҳам самарали ҳисобланади. Балансланмаган мис ва уран маъданлари ва қатламларидан АҚШ, Канада, Болгария, ЖАР ва бошқа давлатларда саноат даражасида бактериал суюқликда эритиб ажратиб олишни уюмли ва ер остидан металлларни ажратиб олишда қўлланилади¹.

Мамлакатимиз мустақилликка эришгандан бошлаб кон-металлургия соҳасини ривожлантириш, жумладан сульфидли маъданлардан қимматбаҳо металлларни ажратиб олишнинг биотехнологияларини ишлаб чиқиш ва такомиллаштириш бўйича чора-тадбирлар амалга оширилиб, муайян натижаларга эришилди. Бу борада сульфидли маъданларни қайта ишлаш учун микробиологик усуллар ишлаб чиқилиб, ва бу типдаги маъданлардан қимматбаҳо металлларни юқори даражада ажратиб олишга геохимёвий фаол, темир оксидловчи ацидофил микроорганизмлар ассоциацияси олинганини алоҳида таъкидлаш мумкин.

Дунё миқёсида маъданларни гидрометаллургия услубларига муқобил бўлган бактериал суюлтириш йўли орқали ажратишнинг муҳимлиги кундан кунга ошиб бормоқда. Микроорганизмларнинг субстратга таъсирини, йўналтирилган популяциялардан фойдаланиш, маҳаллий маъдан спецификасига боғлиқ, микроорганизм-маъдан тизимида биогеохимёвий реакцияларнинг рўй беришини ўрганиш алоҳида долзарбликни касб этади. Уюмли олтин сульфид маъдан ва ер ости ҳудудида урани суюқликда эритиб ажратиб олишда мукамал ва максимал филтрацион биологик суюқликда эритиб ажратиб олиш имконини беради. Шу сабабли, маъданларни микробиологик қайта ишлаш бўйича илмий-тадқиқот ишларини олиб бориш долзарб вазифа ҳисобланади ва илмий-амалий ҳамда экологик аҳамиятга эга.

Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2014 йил 5 августдаги 216-сон «Давлат экологик назоратини амалга ошириш тартиби тўғрисидаги», 2014 йил 27 октябрдаги 295-сон «Чиқиндилар билан боғлиқ ишларни амалга ошириш соҳасида давлат ҳисоби ва назоратини олиб бориш тартиби» қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг Ўзбекистон республикаси фан ва технологиялари ривожланишининг устивор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V.«Қишлоқ

¹SchippersA, Hedrich S, et al. Biomining: metal recoveryfromoreswithmicroorganisms. *AdvBiochemEngBiotechnol.* 2014;141:1-47. doi: 10.1007/10_2013_216.

хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» устивор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи². Сульфид маъданидан металлларни ажратиб олиш жараёнида автотроф ацидофил микроорганизмларидан фойдаланишга йўналтирилган илмий

изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, Department of Biological Sciences, University of Southern California (АҚШ), Department of Physics, Northern Arizona University (АҚШ), Geomicrobiology, Federal Institute for Geosciences and Natural resources (Германия), School of Biological Sciences, University of Wales (Буюк Британия), Department of Microbiology, University of Stellenbosch (Жанубий Африка), Россия Фанлар академияси Микробиология институти, Москва пўлат ва қотишмалар институти, Геология қидирув илмий–тадқиқот маркази рангли ва қимматли металллар институти, Россия Фанлар академияси Биофизика институти (Россия), Микробиология институтида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

Сульфид минераллари биодеструкциясига оид жаҳонда олиб борилган тадқиқотлар натижасида қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: турли хил микроорганизмлар гуруҳида генетик таърифи тасдиқланган (Department of Biological Sciences, University of Southern California, АҚШ); ацидофил микроорганизмлар генетик таҳлил маълумотларига кўра таснифланган ва минераллар бактериал оксидланишининг айрим аспектлар механизми аниқланган (School of Biological Sciences, University of Wales, Буюк Британия); сульфид маъданидан металлларни ажратиш учун саноатда микроорганизмларни қўллаш усуллари ишлаб чиқилган (Department of Microbiology, University of Stellenbosch, Жанубий Африка); термофил микроорганизмларнинг фенотипик ва генотипик ўзига хос хусусиятлари аниқланган (Россия Фанлар академияси Микробиология институти, Россия).

Дунёда металлларни микробли суюқликда эритиб ажратиб олиш бўйича бир қатор жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: табиатда маъданга оид турли хил микроорганизмлар кенг аниқланиши; рангли, асл ва нодир металлларни суюқликда эритиб ажратиб олиш ва сульфид минераларининг оксидланиш жараёнида микроорганизмлар ролини аниқлаш; металлларни ажратиб олишни ошириш учун янги мўтадил термофил ацидофил микроорганизмларни саноатда қўллаш усуллари ишлаб чиқиш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Сўнги йилларда геологик микробиология тез авж олиб ривожланиши кузатилмоқда. Кўпгина тадқиқотлар сульфат ва металл ионлари сульфидлар оксидлашнишида иштирок этиши микроорганизмларни ўрганишга бағишланган (Johnson D.B.,

2

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи <http://www.ibp.ru/labs/hab.php>; <http://www.tsnigri.ru>; Uranium – Past and Future Challenges, B.J. Merkel and A.Arab, Eds./2015, International Journal of Research in Environmental Science and Technology 5(1)/2015 ва бошқа манбалар асосида ишлаб чиқилган.

6

Gericke M., Hallberg K.B. Schippers A. Заварзин Г.А., Каравайко Г.И., и др.), янги ажратиб олинган микроорганизмлар яъни *Ferroplasma cupricumulans sp. nov.* фенотипик ва генотипик ўзига хос хусусиятлари ўрганилган (Hawkes R.B., Franzman P.D. et al), *Ferroplasma acidiphilum gen.nov.,sp.nov.* (Пивоварова Т.А.,

Кондратьева Т.Ф. ва бошқ.), *Sulfobacillus thermotolerans sp.nov.* (Богданова Т.И., Цаплина И.А. ва бошқ.), *Sulfobacillus disulfidooxidans sp. nov.* (Dufrense S., Bousquet J. et al), *Sulfobacillus thermoferrooxidans sp. nov.* (Головачева Р.С. ва бошқ.), *Sulfobacillusibiricus sp. nov.* (Меламуд В.С., Пивоварова Т.А. ва бошқ.), шунингдек, бу микроорганизмларни амалиётда қўлланилиши ўрганилган (Rawlings D.E. et al; Norris P.R. et al).

Суюкликда эритиб ажратиб олиш механизми батафсил ўрганилган (Schippers A., Sand W. Gehrke T., Tributsch H. et al).

Табиатда хилма хил маъдан микроорганизмлари кенг аниқланишига қарамадан, уларнинг турли конларда тарқалиш қонунияти етарли даражада ўрганилмаган. Шу сабабли, фаол геохимёвий микроорганизмларнинг суюкликда эритиб ажратиб филтрлашдаги ва мухит ўзгарувчан омилларининг микроблар туркуми қонунияти ҳаракатидаги роли ўз долзарблигини йўқотмайди ва ҳозирги замон микробиология ва биотехнологиясининг асосий йўналишлардан бири бўлиб қолади.

Илмий адабиётларда қийин парчаланувчи уюмли сульфид маъданларини микроорганизмлар ёрдамида суюкликда эритиб ажратиб олиш муаммосига бағишланган бир қанча маълумотлар келтирилган. Улардан қўпчилиги технологик параметрларни ишлашига тегишли бўлиб, шу билан бир вақтда микробиологик жиҳатига кам эътибор берилган.

Охирги йилларда бир қатор тадқиқотчилар томонидан маъдандан урanni суюкликда эритиб ажратиб олишда тион бактерияларининг таъсирини ўрганиш бўйича тажрибалар олиб борилган. Бироқ, ушбу жараённинг бориши учун оптимал шароитларни аниқлашга йўналтирилган бир қатор масалалар очиқ қолмоқда.

Шуни таъкидлаш кераки, урanni ҳамда олтинни уюмлардан ажратиб олиш усули учун *A.ferrooxidans* бактериясини қўлланилишини ўрганиш бўйича тадқиқотлар Ўзбекистон Республикасида ҳозирги вақтгача ўтказилмаган.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Микробиология институтининг илмий-тадқиқот ишлари режасининг 5Ф - «Экстремал экотизимда ва сульфид хом-ашёси парчаланиши жараёнида микроорганизмларнинг ривожланиш биогеохимёвий қонуниятлари» (2000–2002); Ф-4.1.18.-«Сульфид маъданисуюкликда эритиб ажратиб олиш шароитида микроорганизмларнинг экологик хилма хил ривожланиши» (2003–2006), фундаментал лойиҳалари ҳамда №2/20 «Микроорганизмлардан фойдаланиб ер остидаги урanni суюкликда эритиб ажратиб олиш. Саноат-тажриба синовларини ўтказиш» (2000-2001); № 5/01 «Дастлабки сульфидларни оксидланиш билан Кокпатас рудасидан олтин

олиш технологиясини яратиш тадқиқот ишларини ўтказиш» (2001-2003); №8/03 «Марджанбулак конида сульфид маъдани биооксидлаш лаборатория тадқиқотларини ўтказиш» (2003–2005); №11/06 «Ер ости ишлатилган

блоклари конида урани олишдан олдин бактериал эритмалар билан суюлтириб ажратиб олиш бўйича тажриба ишларини олиб бориш» (2006-2007); №22/09 «Ер ости ишлатилган блокларидан урани олишдан олдин бактериал эритмалар билан суюлтириб ажратиб олиш бўйича тажриба ишларини олиб бориш» (2009-2011) Навоий кон металлургия комбинати билан ҳамкорликда ҳўжалик шартномалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади таркибида олтин бўлган хом-ашё уюм шароитда суюқликда эритиб ажратиб олишда микроорганизмлар ривожланишини аниқлаш, ҳамда *Acidithiobacillus ferrooxidans* бактериясини жадаллаштириш жараёни учун қўллашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

олтин маъдани ва уранли конларда микроб экотизимларини ўрганиш; сульфид маъданини биооксидлашда устун бўлган микроорганизмлар культурасини аниқлаш ва уюмларда суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида микроорганизмлар сукцессиясини ўрганиш;

урани ер остидан суқликда эритиб ажратиб олишда ажратиб олинган эритманинг микробиотасини текшириш;

металлар ионларининг микроорганизмлар оксидланиши фаоллигига таъсирини аниқлаш. Муҳитда юкори концентрацияли металлар ионлари таъсирида микроорганизмлар ҳўжайраларида содир бўлаётган ўзгаришларни кузатиш;

биооксидлаш жараёнида сульфидларнинг микробиологик парчаланишини ўрганиш ва таҳлил қилиш;

таркибида олтин бўлган маъданларни суюқликда эритиб ажратиб филтрлаш лаборатория тадқиқотларини олиб бориш ва сувда эрувчан полимерларни суюқликда эритиб ажратиб олишда қўлланиш имкониятини кўрсатиш;

таркибида олтин бўлган сульфид маъдани бактериал оксидланиш тажрибаларини суюқликда эритиб ажратиб филтрлаш шароитини ярим саноатда ўтказиш;

ер остида суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида бактериал эритмаларни қўллаш имкониятларини лаборатория шароитида текшириш; «пушпул» режимида ер ости суюқлигига ишлов берилган бактериал эритмаларни табиий шароитларда қўллашни ишлаб чиқиш; ер ости урани суюқликда эритиб ажратиб олишда ишлов берилган блокларида (СЭАО) микроорганизмлардан фойдаланиб саноат тажриба синовларини ўтказиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида олтин таркибли сульфид маъданига эга Кокпатас кони, ҳамда уран таркибли маъданга эга бўлган Бешкак ва Кетмончи конлари олинди.

Тадқиқотнинг предмети сифатида суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида темирни оксидловчи ацидофил бактериялар ва микроб ценози асос қилиб олинди.

Тадқиқот усуллари. Тадқиқотда классик микробиология, молекуляр генетик, кимёвий, ҳамда биотехнологик усуллари қўлланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат;

юқори уран концентрациясига чидамли маҳаллий бактерия штаммлари олинган ҳамда хужайраларнинг ИК-спектрлари асосида уран ионлари таъсирида хужайра моддалари таркибининг ўзгаришлари аниқланган;

биринчи марта Кокпатас кони маъданларуюмида суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида микроблар хилма-хиллиги, термофил архейлар кўрсатилган, ушбу маъданнинг аншлифида сульфидларнинг микробиологик парчаланиш жараёни аниқланган;

биринчи марта сувда эрувчан полимерлар бактериал намлантирилган эритмаларда қўлланилганда, маъданга микроорганизмаларнинг бирикиши ошди ва шунга кўра олтинни ажралиши исботланган;

Кокпатас конида олтинсульфидли маъдан уюмини қайта ишлашга яроқлиги, шунингдек Қизилкум уран маъдани бактериал суюқликда эритиб ажратиб олиш учун уранли геологик жойлашиши аниқланган;

илк бор фойдаланишдан четга чиқарилган (яроксиз) скваженаларни бактериал эритма асосида бир мартали насос билан қайта ишлаш имконияти кўрсатилган;

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат: сульфид маъданларини суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида микроорганизмлар сукцессияси аниқланди. Маъдан материалида микробиоценозлар бактериал суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида маълум даражада ўзгаришларга чидамлилиги кузатилди;

маъданга полимерлар қўшимчаси қўшилиши бактерияларнинг бирикишини оширади ва шунингдек, минераларни парчаланиш даражасини оширади ва бу усулни тижоратга тадбиқ қилиниши яхши натижа беради;

Кокпатас конида сульфид маъдани биооксидлашнинг sanoat тажриба синовлари ўтказилди ва бактериялар ёрдамида бу кон маъданидан олтинни суюқликда эритиб ажратиб олиш учун фойдаланиш имкониятини кўрсатди;

Бешкак кони ер ости маъданидан ажратиб олинган урандан sanoat тажриба синовлари ўтказилди ва Кетмончи конининг қайта ишланган худудида ер ости уранни суюқликда эритиб ажратиб олишда кенг масштабли синовлари олиб борилганда бактерияларни қўлланилиши, қўшимча металл концентрацияси олинишига олиб келди, ҳамда кислоталар чиқими камайишини кўрсатди.

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги. Ҳар бир тадқиқот тажрибалари энг камида 3 маротабадан ўтказилганлиги, бу эса энг ишончли ва барқарор натижаларни ўртача қийматини ҳисоблаб чиқиш имконини берганлиги билан асосланган. Экспериментал маълумотларга статистик ишлов бериш, хато, ўртача, ишончилилик интерваллари, стандарт қочишларни

тегишли адабиётларда келтирилган йўриқномалардан фойдаланилган. Натижаларни статистик аҳамиятини аниқлаш учун, Стъюдентни Т-критерийсини ҳисоблаб чиқилган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти ажратиб олинган маҳаллий фаол *A.ferrooxidans* K-1 штаммининг айрим хусусиятларини ўрганиш жараёнида плазмада мавжудлиги кўрсатилди, ўзгарувчан муҳит шароитида бу бактерия геноми сезиларли даражада беқарор ва ўзгарувчанлиги юқори потенциаллиги намоён қилди. Микроорганизмларни сукцессиясини суякликда эритиб ажратиб филтёрлаш, уларни олтинни уюмли жараёнда суякликда эритиб ажратиб олиш ва ер ости суялигидан урanni суякликда эритиб ажратиб олиш усулида энг яхши шароит танлашни кўрсатади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти олинган фундаментал натижалар келгусида, уларни уюм усулда кам сульфид маъданидан олтин олиш жараёни учун, ҳамда ер ости суялиги қайта ишланган урanni олиш учун микроорганизмлардан фойдаланиб мавжуд бўлган муаммоларни ечиш учун қўлланилади. Бизнинг Республикада бу технологияни тадбиқ қилиниши саноатда чиқиндилар ва кондиция бўлмаган маъданларни қайта ишлашга олиб келади, ҳамда атроф муҳитга - экологияга ижобий таъсир килади яъни ҳудудлар ва ер ости сувларининг ифлосланишини камайтиради.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Геокимёвий фаол, адаптацияланган, турғун темир оксидловчи ацидофил *A.ferrooxidans* K-1 ассоциацияси Навоий кон металлургия комбинатида амалиётга жорий этилган (Навоий кон-металлургия комбинатининг 2016 йил 28 октябрдаги 02-03-04/11672-сон маълумотномаси). Илмий натижада сульфидли маъданларга микроорганизмларни қўлланилиши сульфат кислотасининг ишлатилишини камайтириш ва металл ажратиб олиш фоизининг ошиш имконини берган. ГМЗ-3 (Учкудук) базасидаги Кокпатас конида сульфидли маъданларни биооксидланиши бўйича олиб борилган ярим саноат тажрибалари олтинни ажратиб олиш дастлабки 27,7% дан 53,76% гача ошишига хизмат қилди. Шу билан бирга, эксплуатациядан чиқарилган Кетмончи саноат ҳудуди қудуқларида ажратиб олинган ассоциация кенг масштаби қўлланилганда қолдиқ уран миқдорини ажратиб олиш ва микроорганизмларнинг табиий шароитларда ўстириш параметрларини аниқлашга имкон берди. Кетмончи конидаги қайта ишланган ҳудудида «пушпул» бирлаштирилган узлуксиз режимда ўтказилган саноат тажрибаси синовлари варианти натижаларига кўра, бактериялар металлни олиб чиқишини оширгани кўрсатилган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Тадқиқот ишининг асосий натижалари 20 илмий-амалий анжуманда, шу жумладан 12 халқаро конференция, конгрессларларда, хусусан, «Биология-наука XXI века»; Пушино мактабида 6-чи ёш олимлар конференцияси (Пушино, 2002); «Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology» халқаро

development” халқаро конгрессида (Москва, 2002); «Биотехнология и современность» халқаро форумида (Санкт–Петербург, 2003); «International workshop on biotechnology commercialization and security» халқаро симпозиумида (Tashkent, 2003); Ўзбекистон микробиологлари III ва V съезди (Тошкент, 2005, 2012), 16th International Biohydrometallurgy Symposium, (Cape Town, South Africa 2005); “Биотехнология: состояние и перспективы развития” халқаро конференциясида (Москва, 2007, 2009); XII. International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (Istanbul, 2008); «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии» Республика илмий-амалий конференцияси (Тошкент, 2009); «Biotech 2011 & 5th Czech-Swiss Symposium with Exhibition» (Prague, 2011); «Микроорганизмы и биосфера – Microbios 2015» халқаро симпозиумида (Тошкент, 2015) апробациядан ўтган. **Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши.** Диссертация мавзуси бўйича жами 86 та илмий ишлар чоп этилган, шулардан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 28 мақола, жумладан 23 таси республика ва 5 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 204 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Металларга филтрацион ишлов бериш ва ушбу жараёнларда иштирок этувчи микроорганизмлар»** деб номланган биринчи бобида сульфидли маъдан металлари бактериял суюқликда эритиб ажратиб филтрацион ишлов бериш тадқиқотларининг ҳозирги замон ҳолатини кенг таҳлил қилинди. Бу жараёнда иштирок этган микроорганизмларга тавсифи ва таърифи берилган.

Диссертациянинг **«Филтрацион ишлов бериш экосистемасини ўрганиш услублари ва геофаол микроорганизмларнинг хусусиятлари»** деб номланган иккинчи бобида суюқликда эритиб ажратиб филтрлаш микроб экосистемасини ўрганиш, урanni микроорганизмларга таъсири, ДНК плазмидаси аниқлаш, маъдан намуналари спектрал таҳлили, микроорганизмлар ИК-спекторлари услублари кўрсатилган. Кокпатас қони

тавсифа берилган.

Диссертациянинг «**Фильтрацион ишлов беришнинг микроб экосистемалари**» деб номланган учинчи бобида маъданли конларда микроб экосистемаси ва суюқликда эритиб ажратиб филтрлаш жараёни ўрганилган, ҳамда танланган геохимёвий фаол микроорганизмлар ассоциациясининг айрим хусусиятларини аниқлаш бўйича натижалар келтирилган.

Кокпатас маъданларида фильтрацион ишлов беришнинг микроб экосистемалари

Маъдан конлари кўпгина ўзига хос микроорганизмлар фаолияти учун экологик қулай шароит ҳисобланади. Маъданларнинг турли хил хусусиятларга эгаллиги, кўпгина кимёвий элементлар микдорининг мавжудлиги, кўпгина микроорганизмларнинг ривожланишини шунингдек, бу ерда кечадиган биогеохимёвий жараёнларнинг хилма хиллигини таъминлайди. Бу омилларни ҳисобга олиб, олтин маъданли Кокпатас конида тадқиқот ишлари олиб борилган.

Турли экологик шароитлардан олинган намуналарда микроорганизмларнинг тарқалиши таҳлил қилинганда, асосан органотрофлар доминантлик қилишини таъкидлаш мумкин, булар орасида *Bacillus* авлодига мансуб бактериялар устунлик қилади. Барча таҳлил қилинган намуналарда, органик моддалар оз бўлган концентрацияда ривожлана оладиган олигонитрофиллар максимал ҳолда аниқланди (1-жадвал).

1-жадвал

**Кокпатас конида маъдани ва сувида
микроорганизмлар миқдори (кл/г, мл)**

№	Микроорганизмлар ассоциацияси	Намуналар				
		Оқава су ^В	Пиритл и арсеноп т ири худ удлар ^И	Сульф идл ^И манба ^И	Бўш ту ^Р	маъданли су ^В Сульфидл ^И худудлар и ўтадига н оркал ^И
1.	Нейтрофилларни оксидлайдиган автотроф тиосульфат	2,5х10 ² 2	2,5х10 ³	-	-	2,5х10 ²
	Автотроф денитрификаторлар	2,5х10	-	-	-	2,5х10 ²
2.	Нейтрофилларни	2,5х10 ³	2,5х10 ³	-	6,0х10 ⁴	-

	оксидлайдиган миксотрофи тиосульфат					
3.	Сульфат оксидловчи ацидофиллар	-	- 2	- 2	-	$2,5 \times 10^2$
4.	Темир оксидловчи ацидофиллар	-	$2,5,0 \times 10$	$2,5 \times 10$	-	-
5.	Сульфатредукцияловчилар	- ₅	- ₃	- ₃	- ₄	-
6.	Аммонификаторлар	$3,4 \times 10_4$	$8,0 \times 10_2$	$3,6 \times 10_2$	$1,1 \times 10_3$	$2,5 \times 10^3$
7.	Денитрификаторлар	$1,1 \times 10_5$	$1,1 \times 10_3$	$2,5 \times 10_5$	$2,5 \times 10_5$	$2,5 \times 10^2$
8.	Олигонитрофиллар	$1,9 \times 10_3$	$8,7 \times 10_4$	$5,6 \times 10_3$	$2,1 \times 10_2$	-
9.	Микроскопик замбуруғлар	$2,5 \times 10$	$2,5 \times 10$	$2,0 \times 10$	$5,0 \times 10$	$3,5 \times 10^1$

Маъданнинг турига қараб микроорганизмларни қўллаган ҳолда, маъдани қайта ишлаш учун уюмли ёки ер ости суюқликда эритиб ажратиб филтрлашдан фойдаланилади. Бу иккала технологияни ҳам филтрашга киритиш мумкин, бунда эритма маъданнинг орасига сизиб кириши

12

кузатилади. Келтирилган натижаларга кўра, суюқликда эритиб ажратиб филтрлаш жараёнида микроб экосистемасини ўрганиш ва уларнинг сульфид минераллари ва металлларнинг оксидланишига боғлиқлиги катта қизиқиш уйғотади.

Минералларнинг биооксидланиши вақт мобайнида ўзгариб туриши билан характерланадиган гетероген муҳитда ҳавога тўйинган, намлантирилган уюмларда юз беради, бунинг натижасида турли хил микроорганизмлар катта миқдорда тўплamlар ҳосил қилади.

Майдонга тегишли микроорганизмлар сукцессиясини аниқлаш мақсадида, биз колонна шароитда маъданлар қатлами орасидан бактериал эритмалар ўтиши жараёнида микроорганизмлар таркибини таҳлил қилдик. Олиб борилган тадқиқотлар натижасида, маъдан материалнинг табиий микрофлораси бактериал суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида бир қанча ўзгаришларга чидамлилиги аниқланди (2,3 жадвал).

Маъданларнинг рН ни туширишдан олдинги дастлабки микробиологик таҳлилида турли хил микроорганизмлар гуруҳи мавжудлиги, улар орасида гетеротроф бактериялар, тион тиосульфат оксидловчи микроорганизмлар кўплиги аниқланди. Дастлабки намуналарда ва бир текис рН ни тушириш жараёнида тион нейтрофиллар ва тион миксотроф микроорганизмлари

аникланди. Гетеротроф микроорганизмлар орасида *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* авлодларига мансуб бактериялар устунлик қилди, *Micrococcus* авлодига мансуб бактериялар кам миқдорда топилди. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Cladosporium* авлодига мансуб микроскопик замбуруғлар мавжудлиги кўрсатилди.

Эритмаларни pH 4 метёригача кислотлашда гетеротроф микроорганизмларнинг миқдори камайди, авлодлар таркиби ўзгарди – асосан *Bacillus*, *Pseudomonas* авлодига мансуб бактериялар вакиллари ва *Penicillium*, *Aspergillus* авлодига мансуб микроскопик замбуруғлар қолди. Кейинги кислоталашмикроблар туркуми кўринишини кескин ўзгартирди, бунда ацидофил тион микроорганизмлари устунликни эгаллади ва кам миқдорда гетеротрофлар, микроскопик замбуруғлар аникланди.

Физиологик фаол бирикмаларнинг кўпайиши натижасида кузатилган гетеротрофларнинг нобуд бўлиши майдаланган маъданлар юзасида ўзгариш содир бўлиши, кейинги сукцессия турларининг ўрнашиб олишига имкон берди. Бу ҳолатда маъданларни кислоталаш микроорганизмлар сукцессияси кейинги ацидофил тион микроорганизмлари доминат бўлишига олиб келди. Маъданга адсорбция қилинган *A. ferrooxidans* ҳужайра титри $2,5 \times 10^1$ дан 10^5 кл/мл/г гача, *A. thiooxidans* $2,5 \times 10^1$ дан 10^2 кл/мл/г гача ўзгарди. Кучсиз кислотали суюқликда эритиб ажратиб олиш шароитида аниқланган гетеротроф *Bacillus* авлодига мансуб микроорганизмлар, шунингдек айрим *Aspergillus* ва *Penicillium* авлодига мансуб микроскопик замбуруғлари ривожланиш динамикасида унча сезиларли бўлмаган ўзгаришлар кузатилди.

3-жадвал¹

2-жадвал¹

Г	Ча	1	1	м	-	м	2	-	-	1	-	-	-	-	8,
е	пе	5	6	и		и	5			7					8х
т	к	х	9	к		к	х			2					10
е		1	х	о		о	1			х					1
р		0	1	п		п	0			1					ми
о		5	0	п		п	1			0					кр
т			5	и		и	1			4					ос
р				к		к	1								но
о				з		з	1								пи
ф				а		а	1								к
л				м		м	1								за
а				б		б	1								мб
р				у		у	1								ур
				р		р	1								уг
				у		у	1								ла
				г		г	1								р
				д		д	1								

$3,6 \times 10^1$ микроскопи замбуруғлар¹

				а р		а р										
	Па р ^е	8 , 0 8 х 1 0 6	5 , 7 х 1 0 4	-	-	-	2 , 5 х 1 0 1	-	-	6 , 1 х 1 0 4	-	-	2 , 8 х 1 0 1	3 , 7 х 1 0 2	6, 9х 10 2	
	РП А	1 , 5 2 х 1 0 6	6 , 7 2 х 1 0 5	-	-	-	2 , 5 х 1 0 1	-	-	7 , 3 х 1 0 3	-	5 , 1 х 1 0 2	-	-	6, 4х 10 3	
Д е н и т р и ф и к а т о р л а р	Гет еро тро фл аР	6 , 0 х 1 0 3	6 , 0 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 1	-	-	-	-	-	а н и и к л а н м а г аН	-	-	-	-	ан и кл ан м аг аН	
	Ав тот ро фл аР	6 , 0 х 1 0 4	2 , 5 х 1 0 1	-	-	-	-	-	-	2 , 5 х 1 0 1	-	-	2 , 5 х 1 0 1	2 , 5 х 1 0 1	2, 5х 10 1	
Миксот рофлаР		2 , 5 х 1 0 7	м и к р о с к о п и к	2 , 5 х 1 0 3	2 , 5 х 1 0 3	6 , 0 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 2	-	-	2 , 5 х 1 0 1	-	2 , 5 х 1 0 1	2 , 5 х 1 0 1	2 , 5х 10 1	ан и кл ан м аг аН	

			з а м б у р у ф л а р , 1 0 5												
А в т о т р о ф л а р	Ти осу ль фа т окс ид ла ни шН	б , 0 х 1 0 3	а н и к л а н м а г а н	-	-	-	-	-	6 , 0 х 1 0 3	2 , 5 х 1 0 3	2 , 5 х 1 0 3	2 , 5 х 1 0 3	2 , 5 х 1 0 3	2 , 5 х 1 0 2	ан и кл ан м аг аН
	окс ид ла ни шН Су ль фа т	а н и к л а н м а г а н	а н и к л а н м а г а н	-	-	-	2 , 5 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 2	н / о	-	6 , 0 х 1 0 1	-	-	ан и кл ан м аг аН
	м ў ъ т а д и л те	-	-	-	6 , 0 х 1 0 1	-	2 , 5 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 2	-	-	-	6 , 0 х 1 0 3	6 , 0 х 1 0 3	6 , 0 х 1 0 4	6, 0х 10 4

1,7x10¹

Бактериал суюқликда эритиб ажратиш ва
рН тушириш жараёнида
микроорганизмлар суксессияси (БСЭА)
(каттик намуна, устки сегменти)

* *Ferroplasma* авлодига мансуб
микроорганизмлар аниқланди.

Г	П	8
е	а	,
т	р	0
е		8
р		х
о		1
т		0
р		6

ЧапеК		
лаР		
о ф		
	Р П А	1 , 5 2 х 1 0 6
Д е н и е т р и т ф и к а л т о р л а Р	Г е т е х р о т р о ф л а р	6 , 0 х 1 0 2
	А в т о х т р о ф л а Р	6 , 0 х 1 0 4
Микс отроф лаР		2 , 5 х 1 0 7

			з а м б у р у ғ л а р		з а м б у р у ғ л а р
А в т о т р о ф л а р	Т и н и с у л ъ ф ф а т о к с и д л а н и ш н	а , 5 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 1	2 , 5 х 1 0 1
	о к с и д л а н и ш	а н и к л а н м а г	а н и к л а н м а г	2 , 5 х 1 0 1	- - -

	и С у л ь ф а т	а н
	А ц и д о ф и л м ў ь т а д и л т е р м о ф и л	-

	А . f e r r o o x i d a n s	намуна, пастки сегменти)
	рН	~ 8 , 0
	Сутк ^а	Д а с т л а б к и

БСЭА ва рН тушириш жараёнида
 микроорганизмлар сукцессияси (каттик

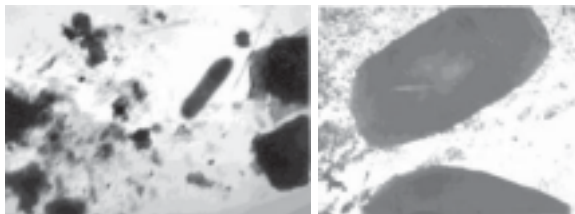
* *Ferroplasma* авлодига мансуб
 микроорганизмлар аниқланди.

14

Шуни таъкидлаш керакки, суюқликда эритиб ажратиб филтрлаш жараёнида микроблар туркумининг ўзгариши барча колонка устунлигида содир бўлди. Эритманинг маъдан орқали ўтиш жараёни шароитга боғлиқ ҳолда, худди киритилган консорциум устки ва пастки колонка қисмларида қайтадан тақсимланаётгандек содир бўлиши аниқланди. Бунда *A.ferrooxidans* микроорганизмлари устунлик қилди.

Уюмли суюқликда эритиб олиш модел тажрибасида абориген популяциясининг микробиологик таҳлилига кўра, бу ерда турли хил ацидофиллар нисбатан кўп учраши мумкин. Биоуюмнинг *A.ferrooxidans*, *A.thiooxidans* культуралари аралашмаси ва бошқа ўхшаш бактериялар билан инокуляция қилиниши мумкинлигига қарамай, уюмнинг шу қисми, қайсики шу бактериялар учун ҳарорат оптимумининг ошишида бошқа микроб флорасига эталиги кузатилди. Уюмда турли хил архей турлари ва сульфобацилларга ўхшаш экстремофил колонияларини ҳосил қилади (1,2

расм.).



бактерия хўжайрасининг

1-расм. Термофил

электрон микрофотографияси (x11400) 2-расм. Суюқликда эритиб ажратилган эритмада *Sulfobacillus sp.* хўжайрасининг электрон микрофотографияси (x22000)

Уран кони микрофлораси

Ишлаб чиқиладиган уран конларида микроблар туркуми ривожланишини ўрганиш мақсадида, Кетмончи кони суюқлигидан олинган кернлар (ер ости суюқлигидан олинган тупроқ ёки жинс намунаси), ҳамда ушбу коннинг қатлам суви текширилди.

4-жадвал

Кернлар ва тозаланган сувлар микробиологик текширувлари

N намуна	Микроорганизмлар микдори, кл/мл, ГБаалсруда 9К Маннингга Летена Лондона Постгейта
Керн 5	Гильтая РПА $2,5 \times 10^2$ - - 7×10^3 $2,5 \times 10^3$ $2,5 \times 10^2$ - - $2,5 \times 10^2$ $2,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^2$
Керн 6	$3,7 \times 10^4$
Керн 7	- $2,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^3$ $2,5 \times 10^2$ - - $4,6 \times 10^5$ - $2,5 \times 10^3$ $2,5 \times 10^3$ 7×10^2 $2,5 \times 10^2$ - - $7,9 \times 10^5$
Керн 8	2×10^2 - $2,5 \times 10^2$ - 7×10^3 - $2,5 \times 10^3$ $7,8 \times 10^5$
Тозаланган сув	
9	

Геохимёвий фаолияти характериға кўра, кон микрофлорасини ўзига хос ва ўзига хос бўлмаган хусусиятларга ажратиш мумкин. Ўзига хос хусусиятли микрофлораға тион ацидофиллари, ҳамда тион нейтралларини киритиш мумкин. Ушбу худуд микроб экосистемаларини кўриб чиқиб, шуни

15

таъкидлаш керакки, темир ва олтингугурт оксидловчигеохимёвий фаол микроорганизмлар, фақатгина айрим намуналардагина ва кам микдорда аниқланди. Ўзига хос хусусиятли микроорганизмлардан органик қўшимчалар иштирокида тиосульфатни оксидлаш хусусиятига эга миксотроф микроорганизмлар мавжудлигини таъкидлаш керак. *Thiobacillus denitrificans* туриға мансуб бактериялар кам микдорда ажратиб олинди. Анча кўп микдорда органотрофлар, ҳамда микроскопик замбуруғлар аниқланди.

Урантаркиблимаъданни суюқликда эритиб ажратиб фильтрлашда

микробиоталарни ўрганиш

Маълумки, ер остида суюқликда эритиб ажратиш олиш, комплекс ҳосил қилувчи реагентлар (кислотали ва ишқорли) ва оксидловчи компонентлар (кислород ва перекис водород) қўшилиши билан содир бўлади. Барча турдаги суюқликда эритиб ажратиш олиш микробиотасини ўрганиш, микроорганизмларни урanni ерости суюқликда эритиб ажратиш олишда қўллаш имконияти мавжудлиги катта қизиқиш уйғотади.

Ўтказилган тадқиқотлар, тортиб олинган эритмаларга ҳаво юборишда тион бактериялар устунлигини кўрсатди, олигонитрофилларга мансуб микроорганизмлар миқдори ошди, ҳамда *Pseudomonas* турига мансуб бактериялар ажратиш олинди. Бунда, миксотроф тион бактериялар ва гетеротроф микроорганизмлар, ҳамда микромицетлар орасида устунлик қилган *Aspergillus*, *Penicillium* авлодига мансуб замбуруғлар ривожланишининг жадаллашуви юз берди. Бу эритмалар *T. denitrificans* турига мансуб микроорганизмлар мавжудлиги билан характерланади.

Ҳаво юборилмаган шароитда тортиб олинган эритмаларнинг микроб биоталари ривожланиши таҳлил қилинганда, микроорганизмлар сони сезиларли даражада камайгани ва улар миқдори экологик аҳамиятга эга эмаслиги кузатилди. Тадқиқотларда тортилган эритмаларда реагентсиз суюқликда эритиб ажратиш, ҳаводан кислород берилиши уюмдан тортилган урanni олиб чиқишини жадаллаштиради, ҳамда тион нейтрофиллар гуруҳига мансуб ва *Pseudomonas* авлодига мансуб бактериялар, микроорганизмлар ўсишини сезиларли даражада қўпайишига олиб келади (3-расм).

Маълумки, қўпгина микроорганизмлар қисқа занжирли органик кислоталарни ва ўзига хос-элемент лигандаларни ишлаб чиқаради, улар рН муҳитини ўзгартириши ва хелатларни синтезлаши мумкин, маъданларнинг майда зарраларимикдори таркибидаги қўпгина элементларни суюқликда эритиб ажратишнинг ошишига олиб келади. Урanni ажратиш олиш, шубҳасиз, пиовердин хелатларининг маҳсулидир, қайсики типик лиганда, псевдомонанд маҳсули бўлиб, ҳисобланади.

Ушбу гуруҳ микроорганизмларининг интенсификацияси фаолияти эритмада ураннынг концентрацияси ошишига имкон беради.

16

хўжайралар миқдори⁵

4

Ig
6

4,91

4,25

5,6

4,88

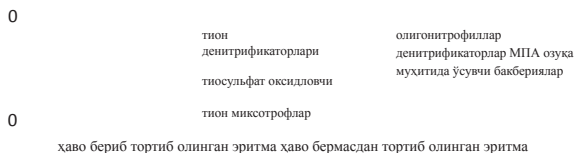
3,6 3,6

1

2,6 2,6

3

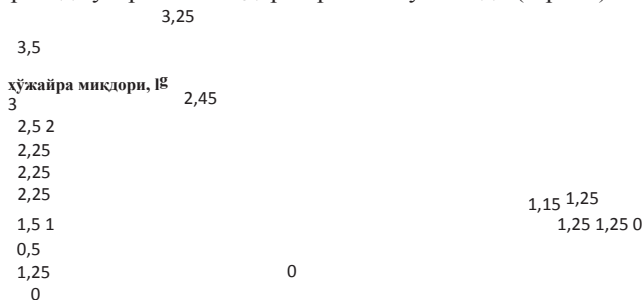
2



ҳаво бериб тортиб олинган эритма ҳаво бермасдан тортиб олинган эритма

3-расм. Реагентсиз тортиб олинган эритма суюқлигидан эритиб ажратиб олинган микроорганизмлар

Ер остида кислотали суюқликда эритиб ажратиб тортиб олинган эритмаларнинг барча ўрганилаётган намуналарида *A.ferrooxidans*, *A.thiooxidans* нинг доминантлиги ва эритмаларда кислотанинг меъёри ошиб борганда уларнинг микдори ортиши кузатилди (4-расм).



S.Thermosulfidooxidans A.ferrooxidans A.thiooxidans МПА Тионо Тион

pH 2,85 pH 2,58 pH 2,15 денитрификаторлари тиосульфатоксидловчи

4-расм. Ер остида кислотали суюқликда эритиб ажратиб тортиб олинган эритмаларда микроорганизмлар сони

Шунингдек, колдикэритмаларда *Aspergillus*, *Fusarium* ва *Penicillium* авлодига мансуб деб топилган микроскопик замбуруғлар ажратиб олинганини таъкидлаш керак.

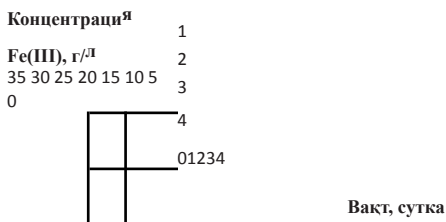
Шундай қилиб, реагентсиз ёки кислотали ҳолда ер остида суюқликда эритиб ажратиб тортиб олинган эритмаларда микроорганизмларнинг ривожланиши таҳлил қилинганда турли хил микроорганизмлар гуруҳлари мавжудлиги аниқланди.

A.ferrooxidans бактериясининг ўсиши ва ривожланишига металллар ионларининг таъсири

Суюқликда эритиб ажратиб тортиб олиш жараёнида эритмага маъданлардан металлларни бактериологик суюқликда эритиб ажратиб тортиб

таъсир килувчи металллар ўтади.

A.ferrooxidans микроорганизмлари, айниқса таркибида темир миқдори юқори бўлган эритмаларга чидамли. Бироқ, суякликда эритиб ажратиб олиш жараёнида, темир ионларининг таркиби, культуранинг нормал ҳаётчанлигига мос концентрациясидан сезиларли даражада ошиб кетишимумкин. Биз бирин-кетин мослаштириш усули орқали, Fe^{3+} 30 г/л ва ундан ортиқ бўлган эритмада фаол ўсиш қобилиятига эга культуралар олишга эришдик (5-расм).



5-расм. Юқори концентрацияли темир эритмаларида сақлангандан сўнг, *A.ferrooxidans*(1–К-1;2–КСБ;3 – 3-9М; 4 – В-12) нинг турли штаммларида темирнинг оксидланиши

Шунингдек, *A.ferrooxidans* К-1 саноат штаммининг ўсиши ва ривожланишига олтин ва кумуш ионларининг таъсири ўрганилди. Олиб борилган тадқиқотлар натижасида, таркибида 100 мг/л кумуш ва 2,5 мг/л олтин аралашмаси бўлган эритмалар микроорганизмларнинг ўсиши ва ривожланишини шу билан бирга оксидланиш фаоллигини ҳам батамом тўхтатди.

9К озук муҳитига 60 мг/л уран ионлари қўшилиб, *A.ferrooxidans* К-1 штаммининг ўсишига уран ионларининг таъсири, ушбу концентрация бактерияларнинг ривожланишини тўхтатмай, балки бир оз даражада уларнинг ўсишини стимуллашини кўрсатди. Бундан кейинги озук муҳити таркибида уран ионларининг миқдори 100 мг/л гача оширилиши *A.ferrooxidans*К-1штаммининг ўсишига негатив таъсир кўрсатади. Тажиба вариантида ўстиришнинг учинчи суткасида хужайралар сони $6,0 \times 10^4$ кл/мл га камайди ва фақат 6 суткада хужайралар сони назоратда ўсган микроорганизмлар миқдори билан тенглашди (6-расм).

Маълумки, оғир металл ионларига нисбатан микроорганизмларнинг турғунлиги плазмидлар мавжудлиги билан аниқланади. Плазмидларнинг трансмиссив ролидан келиб чиқиб, тахмин қилиш мумкинки, турли бактерияларда металл ионларига турғунлик кенг тарқалган адаптив хусусиятлардан бири ҳисобланади. Бироқ, *A.ferrooxidans* генетик тадқиқотлар учун мураккаб объект ҳисобланади. Rawlings D.E.

хаммуаллифлар билан бирга, *A.ferrooxidans* нинг генетик системасини

ўлчамига, генетик элементларнинг бор ёкийўқлигига қараб штаммларнинг хилма – хиллигини аниқлаганлар, улар яшаш муҳитининг ўзгаришларига мослашишда рол ўйнайди.

Таркибида 100 мг/л уран бўлган озуқа муҳитига мослашган *A.ferrooxidans* К-1 штаммидан ДНК плазмидасини ажратиб олиш бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида Rf 0,07 мегаплазмидаси табиий ҳамда уран ионларига мослашган *A.ferrooxidans* штаммларида мавжудлиги аниқланди. Ҳамда қуйи молекуляр плазмидаларнинг Rf 0,24 мм 5,8 т.п.н., мавжудлигианиқланган, унинг пайдо бўлиши уран ионларининг таъсиридан далолат беради.

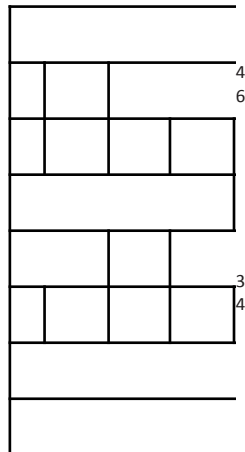
Концентрация Fe(III), г/л

1 2 3 4

хўжайра микдори, lg

16

8



14

7

12

6

10

2

2

1

0

0

0123456

Вакт, сутка

6-расм. *A. ferrooxidans* K-1 штаммининг таркибида 100 мг/л уран бўлган озука муҳитидаги геохимёвий фаоллиги: 1- назоратдаги оксидланган темирнинг концентрацияси; 2- уранли озука муҳитида оксидланган темирнинг концентрацияси; 3- назоратда микроорганизм хужайраларининг миқдори; 4- уранли озука муҳитида микроорганизм хужайраларининг сони; 1 –назорат ва тажриба орасида темир таркиби бўйича аниқ фарқнинг борлиги

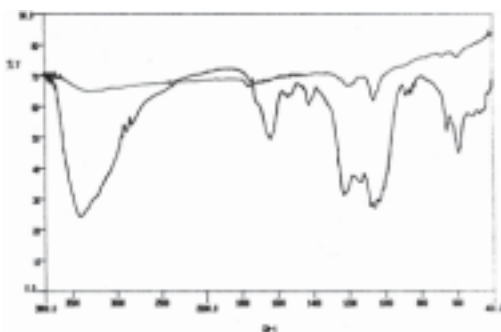
A. ferrooxidans K-1 бактериясининг хужайраларида уран ионлари таъсирида содир бўлаётган ўзгаришларни таҳлил қилиш учун, биз мураккаб биологик системаларни ўрганишда ва хужайраларни киёсий ўрганишда фойдаланадиган тебранма спектроскопия усулини қўлладик.

Спектрал эгри чизик кўриб чиқилганда таркибида уран ионлари бўлган озука муҳитида ўсган бактерия хужайраларининг, антисимметрик валентли тебранишлар чизикларида CH дан CH_3 -группаларга ва симметрик валентли тебранишларда эса, CH дан CH_3 - ва CH дан CH_2 -группаларга (2850 см^{-1}) интенсивлигининг кучайиши аниқланди (7-расм).

Таркибида $1130\text{--}1070 \text{ см}^{-1}$ уран ионлари бўлган озука муҳитларида ривожланган бактерия хужайраларининг интенсивлиги пасайиши кузатилди, бу полифосфатлар даражасининг камайишини тасдиқлаши мумкин.

Шундай қилиб, танлаб олинган фаол *A. ferrooxidans* K-1 культураси темири юкори тезликда оксидлаш ва эритмада кўп миқдорда турли хил металл ионларига чидамлилик хусусиятига эга.

19



2

1

7-расм. *A. ferrooxidans* бактерия хужайраларининг 9К озука муҳитида (1) ва таркибида 100 мг/л уран бўлган озука муҳитларидаги (2) ИК–спектори

Бунда, бундай ноқулай шароитларда ҳам ушбу культуранинг оксидланиш фаоллиги камаймайди ва бу *A. ferrooxidans* K-1 культурасидан саноат шароитида фойдаланиш учун ижобий омил ҳисобланади.

Диссертациянинг «Олтин таркибли маъданларнисуюқликда эритиб ажратиб олиб филтрлаш» деб номланган тўртинчи бобида олтин таркибли маъданларнисуюқликда эритиб ажратиб олиб филтрлаш бўйича тадқиқотлар натижалари келтирилган.

Суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнига полимерлар таъсирини

Ўрганиш

Майдаланган маъданни суюқликда эритиб ажратиб олиш одатда, эритмаларни филтрашнинг текис кетишига ҳалақит беради ва бу олтин олиш даражасининг камайишига олиб келади. Фракциялар мавжудлиги, ҳамда кўп микдордаги майда фракциялар, маъданларнинг текис таҳланишига ҳалақит беради. Уюмларни суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида маъдан материалнинг ўзига хос хусусиятларига қараб, аввалдан уларни агрегациялаш қўлланилади.

Brierley ҳаммуаллифлар билан бирга майдаланган маъдан ва хужайраларни агрегация қилиш учун синтетик полимердан фойдаланган, бу таркибда 2,5% камрок карбонат таркибли маъданлар ва микроорганизмларни агрегация қилиш усулини яратишга сабаб бўлди. Кўп микдорда карбонат таркибли маъданлар учун эса, аввал уларни кислота билан эритиб, сўнгра эритмага микроорганизмлар қўшилади.

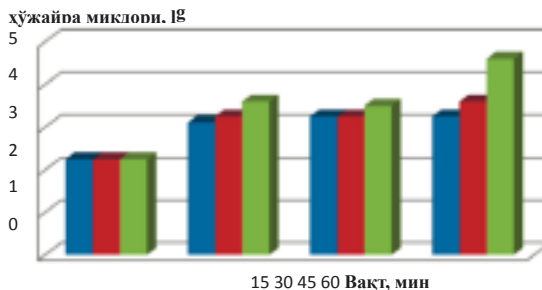
Биз ЎзР ФА Полимерлар кимёси ва физикаси институти томонидан тақдим этилган полимерларни ўргандик. Бактериянинг культурал суюқлигида эрувчи полимерларни топишга қаратилган тажрибалар, уларнинг микроорганизмлар ҳаёти фаолиятига ва геохимий фаоллигига таъсири, бактерияларни маъданларнинг ташқи қисмига бирикиш (биокапсула) даражасини ошириши поливинил асосида полимер танлаб олиш имконини берди.

Маъданга тажриба намуналарига полимер қўшиб олиб борилган микробиологик таҳлил килинганда, назорат вариантыга нисбатан (фақат

20

бактерияли эритма билан), бактерия + полимер вариантыда маъданларнинг агрегацияси анча интенсив равишда содир бўлади (8-расм).

Бакт.раствор без полимера 0,10% 0,05%



8-расм. Маъдан ва микроорганизм хужайраларининг агрегацияланишига Р 10 полимерининг таъсири

Лаборатория тажрибаларида полимерлардан фойдаланиш, олтинни 8-10% га кўпроқ ажратиб олиш имконини берди. Шубҳасиз, биокапсулалашнинг афзаллиги намлантиришнинг дастлабки даврида

сульфидли минераллар юзасида микроорганизмлар адсорбциясини оширади, микроорганизм-полимер-маъдан тизимида полимер юзаси структураси орасида ва минералларнинг кристалл панжарали элементига эга бактериялар орасида ўзаро кимёвий алоқа ҳосил бўлиши билан боғлиқ.

Уюмли суюқликда эритиб ажратиб филтрлашнинг лаборатория тажрибалари Кокпатас олтин конидан олиб келинган намуналарда ўтказилди. Маъдан 20 мм гача майдаланди. Ушбу маъданнамунасирационал анализ қилинганда, пирит ва арсенопирит таркибида олтин миқдори 33% ни ташкил этиши маълум бўлди. Бу кон маъданлари учун пирит (2,95%) ва арсенопирит (1,87%) га эга бўлган сульфид минералларининг устунлиги характерли бўлиб, айнан шу минераллар олтиннинг асосий концентраторлари ҳисобланади.

Лаборатория тажрибаларида, оксидланиш фаоллиги 100 суткада максимал даражага(25г/л) етиши аниқланди (9-расм). Шунини таъкидлаб ўтиш керакки, Fe (III) 18-20 г/л га етганда бактерияларнинг ўсиши ва геохимёвий фаоллигига якуний маҳсулотнинг чеклов таъсирини камайтириш учун биз эритмани қисман алмаштириб турдик.

Жами тажриба мобайнида маъданга бириккан микроорганизмларнинг миқдори бир грамм маъданга $2,5 \times 10^6$ гача $6,0 \times 10^7$ хужайра оралиғида бўлди. Маъдангаадсорбция бўлган бактериялар орасида *Acidithiobacillus ferrooxidans* ва *Acidithiobacillus thiooxidans* кўпроқ устунлик қилиб, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* хужайраларининг кўпайиши фақат 50 чи суткада кузатилди. К-1 бактериялар ассоциациясини намлантириш билан, олтинни

21

ажратиб олиш 120 кун ичида 67,71% (дастлабкинамунани тўғридан-тўғри цианидлаш- 25,9%) етди.

30
25
Fe(III), г/л
20
15
10
5
0

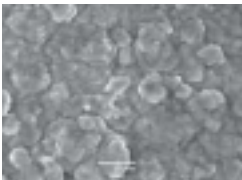
1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 Вақт, сутка

9-расм. К-1 ассоциациясининг филтрлаш режимида темирнинг оксидланиш жараёни мониторинги

A.ferrooxidans ва бошқа бактерияларнинг сульфид минераллари билан ўзаро таъсирининг биринчи босқичи, уларнинг ташқи юзага адсорбцияланиши бўлиб, шундан сўнг оксидланаётган субстратга нисбатан биокимёвий жараёнлар бошланади. Шу сабабдан биз, сульфидларнинг микробиологик парчаланиш жараёнини ва парчаланишлар характери статик режимда ўргандик. 10-12-расмларда бактериялар билан ишлов берилгандан сўнг аншлифнинг ташқи юзасини сканерлаш тасвирланган, бунда аншлиф юзасининг кўп қисмини қоплаган ярозит плёнка мавжудли кўрсатилган. Пирит фақат кичик «ойналар»да намоён бўлган, бунда унинг парчаланиши аниқ кўринган.



10-расм. Бактерия билан ишлов берилгандан сўнг ювишдан олдин ҳудудларнинг ташқи кўриниши. Аншлифнинг ташқи юзасида ярозит билан бирга бактерия



колонияларининг ҳосил бўлиши.
11-расм. Аншлиф ташқи юзасини қоплаган ярозитнинг тангача қопламалари.
12-расм. Ярозит



плёнкалари билан қопланган аншлиф ташқи юзаси, ярозит плёнкаларида биооксидланишга учраган пирит.

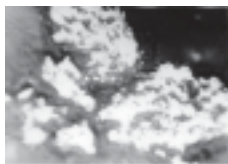
JED-2200 микрорентгеноспектрал анализатор ёрдамида моддаларнинг қисмлари ва алоҳида фазалари кимёвий таркиби таҳлил килинганда, олтингурут сульфиди, мишяк ва бошқа элементларнинг камайганини кўрсатди.

Лаборатория тажрибаларида бактериал эритмалар таъсиридаги минераллар деструкция жараёни ярозит ҳосил бўлиши ҳисобига секин рўй

22

берди. Шу сабабли, биз маъданларга бактериал эритмаларни сепишда, уларнинг pH ини 1,7-1,5 гача пасайтирдик, бу ярозит ҳосил бўлишини тўхтатишга олиб келди.

Филтрлаш режимида сульфидлар деструкцияси таҳлил килинганда, аншлифнинг ташқи юзасидаги колонка моделларининг юқори қисмида карбонатларнинг катта қисми эриб кетди, дастлабки пирит ноаниқ тўрсимон шакли агрегат ҳолатига айланди (расм.13, фото 3). Қолдиқ пиритнинг миқдори 0,5-0,7% ни ташкил этди. Арсенопирит учрамади.



1

2

3

13-расм.

Маъдан пробаларининг аншлифи(колоннанинг юқори қисми) 1,2- бактериялар билан ишлов беришдан аввалги аншлиф; 3- бактериялар билан ишлов бергандан сўнг

Колонналарнинг пастки қисмидаги аншлифлар бактериялар таъсирига камроқ учради. Бактериялар билан ишлов бериш, шуни кўрсатдики,аншлифларнинг бир қисмига бактериал ишлов бериш таъсир қилди, аншлифнинг юзасининг 50% ўзгаришсиз қолди. Пирит тўрсимон ҳолатда тўпланиб қолиб, унинг ташқи юзасига бактериал оксидловчилар таъсир қилмади (расм.14, расм.3). Арсенопирит ингичка игнасимон кристалл кўринишида қисман карбонат томирларида сақланиб қолди. Ишлов берилган худудларда сульфидлар умуман учрамади (14-расм, 4-расм).



**1 2 3 4 14-расм. Маъдан намуналарининг аншлифи(колоннанинг пастки қисми)
1,2-бактериялар билан ишлов беришдан аввалги аншлиф;
3,4- бактериялар билан ишлов бергандан сўнг;**

Тадқиқотлардан олинган натижалар, суяқликда эритиб ажратиб филтрлаш жараёнида сульфидларнинг бактериал оксидланиши турли даражадаги жадалликда рўй беришини тасдиқлайди. Сульфидлар парчаланишининг минерал таҳлили, пирит ва арсенопиритларнинг интенсив парчаланиши колоннанинг юқори қисмида содир бўлишини кўрсатди. Колоннанинг пастки қисмда эҳтимол, қисман қоналирования рўй беради, бактерияларнинг сульфид минераллари юзаси ўртасида тўлиқ контакт қузатилмайди. Бу колоннанинг бутун баландлигида олтин ажратиб олишнинг турли даражаларини олдиндан белгилаб беради.

23

Намлантирадиган эритмалардан турли хил ҳажмда фойдаланиш шуни кўрсатдики, олтинни максимал ажратиб олиш 8%ли намлантирадиган эритмали шароитда қузатилди (15-расм).



15-расм.Бактериал намлантиришнинг турли ҳажмларида суюқликда эритиб ажратиб филтрлаш режимида ўтган Кокпатас кони маъданларидан олтин ажратиб олиш (1- 10%; 2- 15%; 3-8%).

Шундай қилиб, олинган натижалар Кокпатас кони сульфидли маъданлар уюмини суюқликда эритиб ажратиб олишда микроорганизмлардан фойдаланиш самарадорлигидан далолат беради.

Кокпатас кони сульфидли маъданларини уюмли усулда биооксидлашнинг **яримсаноат ҳолидаги синовлари** Навоий тоғ-кон металлургия комбинати билан биргаликда олиб борилди.

Фаол режимдаги лаборатория тажрибалари натижалари Кокпатас кони сульфидли маъданларидан ажратиб олинган намуналар, уюмларни суюқликда эритиб ажратиб олишда биооксидлашга яроқли эканлигини кўрсатди. Перколяцион режимдаги лаборатория тажрибаларида аниқланишича, бактериал оксидлаш орқали 150 чи суткада олтинни ажратиб олиш лаборатория тажрибаларининг турли вариантларида 45 дан 52 % гача етди.

Лаборатория тажрибалари Кокпатас кони маъданларидаги карбонатларнинг мавжудлиги биооксидланиш жараёнида керакли рН кўрсаткичига етказишни таъминлашда, дастлабки декарбонизациялашни талаб қилади.

Лаборатория тажрибаларида олинган натижаларни тасдиқлаш мақсадида, (Учкудук шахар ГМЗ-3) уюмларни биооксидлаш учун саноат тажриба ускунаси яратилди. Дастлабки маъданда олтин микдори 2,9 г/т; олтинни ажратиб олиш эса 26,5 % ни ташкил этди.

Тажриба ускунаси ўрнатилгандан кейин, уюм материалининг концентрацияси 2; 10; 30 г/л бўлган сульфат кислота эритмаларининг намлантириш орқали, кетма-кет рН тушириш махсулотлари билан кольматацияни камайтириш мақсадида декарбонизация қилиш жараёни ўтказилди. Намлантиришнинг зичлиги 0,12-0,15 л/мин/м² ни ташкил этди. Уюмларни кислотали эритмалар билан намлантириш рН кўрсаткичлари

24

стабил 2,0-2,5 бўлгунга қадар давом эттирилди. Декарбонизация жараёни 52 кун давом этди, 21кг/ткислота микдори сарф қилинди.

Саноат-тажриба синовлари шароитида бактериал эритма олиш учун ҳажми 5 м³ ва 35 м³ бўлган иккита ферментерлар ишга туширилди. Озуқа муҳитлари техник сувлар асосида майдалаш культивацияси усулида тайёрланди. 7 кун давомида 55 м³ микдорда културал суюқлик иккита идишда тайёрланди. Таклиф қилинаётган микроорганизмларни майдалаб культивация қилиш усули, бактериялар биомассасини тайёрлаш вақтини қисқартирди, бу бактерияларни кенг қўламда ўстириш учун муҳим аҳамиятга эга эканлиги аниқланди.

рН тушириш жараёнини тугагандан сўнг, уюмлар намлантиришнинг ўша зичлигида бактериал эритмалар билан намлантириш бошланди. Бунинг учун ацидофил темирни оксидловчи *A.ferrooxidans* К-1 ассоциациясидан фойдаланилди. Чуқурликга оқиб тушаётган бактериал эритмаларнинг Fe³⁺,

Fe^{2+} , As^{5+} , $\text{As}_{\text{общ}}$ таркиби, микроорганизмлар миқдори, эритмаларнинг pH ва Eh текшириб таҳлил қилинди, бу билан уюмлардан фойдаланиб биооксидлаш жараёни назорат қилиб турилди. Биринчи икки ой давомида суяқ фазада Fe^{3+} ва As^{5+} концентрацияси секин-аста ошиб борганлиги кузатилди. Иккинчи ойнинг охирида уларнинг энг юқори концентрацияси, яъни 3,0-4,0 г/л Fe^{3+} ва 1,0-2,0 г/л As^{5+} бўлганлиги кузатилди. Бу вақтда атроф-муҳит ҳарорати пасайганга қарамадан, уюмнинг ички ҳарорати 17-19°C дан 23-25°C гача кўтарилди. 90 чи суткада ускуна иши тўхтатилди.

Намлантириш тўхтатилган даврда штабелнинг турли нуқталарида микроорганизмлар ривожланишининг таҳлилида микроорганизмлар тарқалиши ҳар хил тақсимланмаган бўлиб, улар маъданга нисбатан $2,5 \times 10^6 - 6,0 \times 10^7$ кл/г миқдорда тебраниди. Атроф-муҳит ҳарорати пасайганда аниқланган бактерияларнинг миқдори экологик кўрсаткичлардан юқори даражани ($2,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$ кл/г) ташкил этди (5-жадвал).

5-жадвал

90 кун биооксидлашдан сўнг маъдан намуналарини цианирлашнинг сорбцион кўрсаткичлари

№	намуна ларрак ами	Олтинни ажратиб олиш, % Биооксидлашнинг		Микроорганизмлар сони, кл/г Биооксидлашнинг
		43 суткаси	90 суткаси	
1				
2	3-1			
3	3-2	37,8	41,6	
4	3-3	40,6	45,2	
5	3-4	48,3	75,6	
6	1с-н	40,0	46,9	
7	2с-н	40,0	43,3	
8	3с-н		- 54,3	
	4с-н		- 39,3	
			- 51,6	
				Биооксидлашнинг 43 суткаси
				90 суткаси
				$2,0 \times 10^4$ $6,0 \times 10^4$
				$1,3 \times 10^4$ $2,1 \times 10^4$
				$6,0 \times 10^5$ $6,0 \times 10^5$
				$6,0 \times 10^3$ $2,0 \times 10^5$
				$2,1 \times 10^4$ $6,0 \times 10^4$
				- $2,5 \times 10^5$
				- $2,5 \times 10^4$
				- $2,5 \times 10^5$

Олинган натижалар, уюмда бактериал жараёнлар бир текисда кетмаётганлигидан, яъни маълум зоналарда (КБ) интенсив ва бошқа

25

зоналарда (КС) паст гиокимёвий фаолликда кетганлигидан далолат бермоқда (6-жадвал).

6-жадвал

Маъдан намуналарини цианирлаш натижалари

Намуна	Аи бошлангич миқдори, г/т	Ажратиб олиш, %
КБ	3,19	53,76

КС	3,04	36,67
----	------	-------

Диссертациянинг «Урanni биологик суюлтириб ажратиb олиш» деб номланган бешинчи бобида ер ости скваженаларида уран ионларини биологик суюқликда суюлтириб ажратиб олиш бўйича тадқиқот натижалари келтирилган.

Лаборатория тажрибаларида таркибида олтингугурт сульфид бўлган уранли маъданларни суюқликда суюлтириб ажратиб олишда микроорганизмлардан фойдаланиш мумкинлиги кўрсатилган.

Дастлабки тажрибалардан олинган натижалар модел колонкаларда тажрибалар олиб бориш мақсадга мувофиқлигини кўрсатди. Суюқликда суюлтириб ажратиб олиш натижаларининг тахлили, турли хил вақтлар кўрсаткичларда маъдандан урanni ажратиб олиш 96–98% ни ташкил этганлигини кўрсатди. Бактериал эритмалардан фойдаланиш турли хил вариантларда суюқликда суюлтириб ажратиб олиш жараёнини 40 дан 77 соатга қисқартирди.

Кам маъданлардан урanni биологик суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнининг технологик кўрсаткичларини киёсий таққослаш натижасида кучсиз кислотали суюқликда эритиб ажратиб олишга нисбатан биологик суюқликда суюлтириб ажратиб олиш усулининг афзаллиги аниқланди (16-расм).

уран кислота сарфланиши, кг/кг умумий уран олинши, % Продолжительность выщелачивания, час500

400
300
200
100
0

12345

16-расм. Лаборатория тажрибаларида урanni суюқликда эритиб ажратиб олишнинг солиштирма тахлили

1 – назорат, кучсиз кислотали суюқликда эритиб ажратиб олиш; 2 – олдиндан ивитилган сульфат кислотали суюқликда эритиб ажратиб олиш ва сўнгра бактериялар билан намлантириш; 3 – олдиндан ивитилган сульфат кислотали суюқликда эритиб ажратиб олиш ва сўнгра суюлтирилган бактериялар билан намлантириш; 4 – бактериологик намлантиришдан фойдаланиб суюқликда эритиб ажратиб олиш; 5 – суюлтирилган бактериологик намлантиришдан фойдаланиб суюқликда эритиб ажратиб олиш.

26

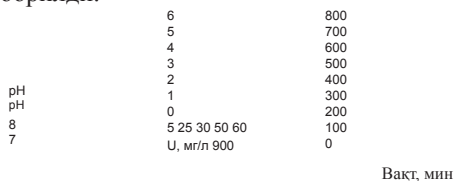
Лаборатория тадқиқотларининг ижобий натижалари асосида йирик масштабли тадқиқотларига ўтилди. Урanni бактериологик суюқликда суюлтириб ажратиб олиш тажриба ишлари «пушпул» режимида ер ости суюқликда суюлтириб ажратиб олишнинг саноат ҳудудларида олиб борилди. Бу ерда тажриба ҳудуд сифатида эксплуатациядан чиқарилган сўриб олувчи

скваженалардан фойдаланилди. Скважена синовдан ўтган бўлиб, қатламли эритманинг кислота миқдори 4,9 г/л, уранинг миқдори 25 мг/л ни ташкил этди. Скваженага юборишдан олдин бактериал эритмалар икки қарра суюлтирилди. Скваженага юборилган суяқликнинг умумий миқдори, техник сувларни қатлам ичига 0,7 м масофага, бактериал эритмаларни(0,4 м³) эса 0,3 м масофага юборилди.

Икки ҳафта тургандан сўнг, эрлифт сўриб олишўтказилди, ҳамда бир соат давомида суюлтирилган қатламли ва бактериологик эритмалар синаб кўрилди. Синовнинг бошида тортиб чиқариб олиш миқдори 0,5-0,7 м³/соат, сўнггра 1м³/соатни ташкил этди.

Олинган натижалар, *Acidithiobacillus ferrooxidans* нинг культурал суяқлиги 0,4 м³ бўлганда қатламда талаб қилинган кислотали режимни ҳосил қилишга эришилди, культура қатлами ичига тўлиқ кириб, ишлов берилган сўриб олинувчи скваженадан уранинг қолдиқ миқдори ажратиб олинганини кўрсатди. Сўриб олишнинг аниқ вақт оралиғида унинг концентрацияси 773 мг/л га етди (расм. 17).

Биринчи тажриба синовларидан олинган натижалар 80%ишлаб бўлинган ташландиқ ерларда саноат-тажриба синовларига ўтишга замин яратди. Тўхтовсиз режим билан «Пушпул» вариантыда тажриба ишлари олиб борилди. Бактериал суяқликда суюлтириб ажратиб олиш ишларини олиб бориш учун қулай ҳудудлар танлаб олинди ва *A.ferrooxidans* К-1нинг култивацияси кенг масштабда бошлаб юборилди.



17-расм. «Пушпул» усулида олиб борилган, урани бактериологик суяқликда суюлтириб ажратиб олишнинг табиий тажрибаларда кўрсаткичларнинг ўзгариши. Тажрибалар олиб бориш учун *A.ferrooxidans* К-1 микроорганизмлар бошланғич ассоциациясининг дастлабки эритмаси 550 литр ҳажмда тайёрланди. Бактериал эритмаларнинг кейинги тайёрланиши, «К» маъдан конининг тажриба стационар ускунасида амалга оширилди (18- расм).

Поз.10

Поз.1а

18-расм. Микроорганизм культураларини ўстиришнинг принципиал схемаси («К»

кони) 1а поз. –озука мухитини тайёрлаш учун идиш сигими ($V = 1,5 \text{ м}^3$);

1поз – биокультурани ўстириш учун идиш сигими ($V = 6,0 \text{ м}^3$);

4поз – йиғувчи идишнинг сигими ($V = 96,0 \text{ м}^3$);

6Поз –дағал тозалаш фильтри;

8Поз – узатувчи (тортувчи) насос;

10 Поз- зумпф;

- ёпувчи вентиль;

- диспергатор.

Бактерияларни ўстириш учун озука мухити тайёрлаш учунқолдик эритмалардан ва икки валентли темир тузларидан, шу билан бирга микроорганизмларнингўсиши ва ривожланиши учун зарур булган K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ минерал тузларидан фойдаланилди. Озука мухитлари $1,5 \text{ м}^3$ сифимли идишда (поз. 1а) тайёрланиб, у ердан насос оркали бункерга (поз.1) ватўпловчимасус идишга (поз.4) юборилди. Бактерияларнинг бирламчи культивацияси ҳавони тақсимлаб ўтказиш билан таъминланган (поз.1) 6 м^3 сифимли бункерда олиб борилди. Тайёрланган бактерия эритмалари 96 м^3 ҳажмли тўпловчи масус идишга (поз.4) қуйилди.

Насос билан тортиб олиниб ва маълум вақт тургандан сўнг «пушпул» режимда бактериал эритмалар юбориб сўриб олинди, бир вақтнинг ўзида 4 та скважена ячейкаларга 42 м^3 ҳажмда, бактериал эритмалар юборилди. Маълум вақтда сўриб олинадиган коннинг (ўртача) миқдори $1,5 \text{ м}^3/\text{с}$. ни ташкил этди (19-расм).

Урanni эритмага чиқарилиши ва эритма самарадорлиги бўйича олинган натижалар тахлили шуни кўрсатдики, насос билан тортиб олишнинг 3-10 суткаларида ураннынг максимал концентрацияси 88 мг/л ни ташкил этди. Бир вақтда 20 м^3 ҳажмли бактериал эритмалар тортиб олиш, ва биооксидловчи иштирокида қатламларни отдачасиниоширди.

Эритмалар самарадорлигини оширишда бактериялар иштирокининг далилларида бири, кислотали суюкликда эритиб ажратиб олишнинг дастлабки эритмасида сульфат-ионлар концентрацияси $8,6 \text{ г/л}$ дан таркибида биооксидловчилар бўлган эритмалар самарадорлиги $10,8 \text{ г/л}$ га оширилишидир. Сульфат-ионлар концентрациясининг ошиши шубҳасиз,

аниқланган.

45 47 49 51 53 55 57 Вакт, сутка

U, мг/м³
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0

исх. 2 4 6 8 10 12 14 16 18 ... 30 35 37 39 41 43

19-расм.214-02 скваженадаги эритмаларнинг самарадорлиги

214-02 скваженасида олиб борилган тажриба ва тадқиқотларнинг натижалари тахлили, бактериал эритмалар қатламлардан урани ажратиби олиш жараёнини кучайтиришини кўрсатди. Скважеларда «пушпул» режимида иш олиб борилганда, 17 суткада 31,9 кг уран ва 1,5 м³/соат дебитда ажратиби олинди. Кислотали вариант шароитида, уранинг дастлабки концентрацияси 13 мг/л бўлганда 2,5 м³/соат дебитда 13,2 кг, 1,5 м³/соат дебитда эса, атиги 7,95 кг уран ажратиби олинди (20-расм). Шундай қилиб, бактериялар металл ажралиби чиқишини 2,4 марта, дебитга тенг эса 4 марта кўпайтирди.

Суюқликда эритиби ажратиби олишнинг динамик режимида сўриби олинган эритмаларга бактериал культуралар юборилганда уран энг кўп миқдорда (158 мг/л) ажралиби чиқиб, эритма самарадорлиги 40-50 мг/л даражада кейинчалик ҳам стабил сақланиби қолиши кузатилиби, сульфат кислотали суюқликда эритиби ажратиби олиш кўрсаткичларига нисбатан 3,8 марта кўпайганлиги аниқланди. Шунини таъкидлаб ўтиш керакки, тажрибанинг ҳар бир этапларидаги микробиологик тахлилларда *A.ferrooxidans* экологик аҳамиятга эга миқдорда учради.

пушпул динамика

U чиқарилиши, кг
40
30
20

10
0
Bio k

20-расм. 20.214-02 скваженасидан урани «пушпул» режимида бактериал эритмалар иштирокида ажратиби олиш (дебит 1,5 м³/час), бактериал эритмаларнинг динамик режимида (дебит 2,5 м³/час) ва кислотали суюқликда эритиби ажратиби олишнинг солиштирма тахлили.

Шундай қилиб, олиб борилган тадқиқотлар бактериал эритмалардан фойдаланиб ишлатилган ПВ блокларидан уранни ажратиб олиш мумкинлигини кўрсатди. Скваженаларни ускуналаш ва бурғалашга, ҳамда маъданли майдонларга кислота билан ишлов беришга кетадиган харажатларнинг камайиши, шубҳасиз унинг иқтисодий томондан афзаллигини кўрсатади.

ХУЛОСА

«Ғарбий Ўзбекистон конларининг кам миқдордаги сульфид маъданларига филтрацион ишлов беришнинг микробиологик технологияси» мавзусидаги докторлик диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Кокпатас олтин кони ва Кетмончиуран конларининг микробиологик экосистемаси ўрганилди. Кокпатас олтин конининг микробиологик тахлилида, турли физиологик гуруҳларга мансуб микроорганизмлар кўп миқдорда аниқланди, уларнинг орасида органотрофлар доминантлик қилиб, улар орасида *Bacillus* туркуми нисбатан кўп миқдорда учраши аниқланди. Пиритга бой бўлган маъданларда автотроф тион бактериялар ассоциацияси кўпроқ учради. Шунингдек уран кони микроб экосистемасида турли хил микроорганизмлар намоён бўлди, геохимёвий фаол олтингугурт ва темир оксидловчи микроорганизмлар мавжудлиги аниқланди. Миксотроф ва органотроф микроорганизмларнинг учраши ҳам қайд қилинди.

2. Уюмли бактериал суюқликда эритиб ажратиб олиш жараёнида маъдан материалнинг табиий микрофлораси бир қанча ўзгаришларга учраши аниқланди. Кислота билан ишлов бериш даврида, устун бўлган гетеротроф микроорганизмларнинг ацидофил тион микроорганизмлари билан ўрин алмашиши содир бўлди. Биоуюм *A.ferrooxidans*, *A.thiooxidans* ва бошқа унга турдош бактериялар культуралари аралашмаси билан инокуляция қилинган бўлса ҳам, *A.ferrooxidans* нинг доминант формалари майдон нисбатида ва шу билан бирга уюмдаги жараёнларнинг турли хил босқичларида уларнинг сони сезиларли даражада ўзгариб турди. *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* асосан суюқликда эритиб ажратиб олишнинг сўнгги этапларида аниқланди.

3. Тортиб олинган эритмаларда микроорганизмларнинг ривожланишини таҳлил қилинганда, ер остида реогентсиз ёки кислотали ҳолда суюқликда эритиб ажратиб олишда турли хил микроорганизмлар гуруҳлари учраганлиги аниқланган. Скваженаларга насос билан кислородли ҳаво юборилганда ураннинг оқиб чиқиши тезлашган ва *Pseudomonas* авлодига мансуб бактериялар ҳамда тион нейтрафил микроорганизмлар гуруҳи сони кўпайган. Тортиб олинган эритмаларни кислотали суюқликда эритиб ажратиб олишда *Acidithiobacillus* авлодига мансуб ацидофил темир ва олтингугуртни оксидловчи тион микроорганизмлар кўп учраган.

4. Бирин-кетин мослаштириш усули орқали эритмада Fe^{3+} 30 г/л ёки ундан ортиқ бўлганда фаол ўсиш қобилятига эга *A. ferrooxidans* K-1 культураси танлаб олинган. Таркибида 100 мг/л кумуш ва 2,5 мг/л олтин бўлган эритмалар аралашмаси микроорганизмларнинг ўсиши ва ривожланишини шу билан бирга оксидланиш фаоллигини ҳам батамом тўхтатиши маълум бўлган. Таркибида 100 мг/л уран бўлганда муҳит *A. ferrooxidans* K-1 нинг ўсишига негатив таъсир қилиши аниқланган. Текширилаётган культураларнинг плазмидлари таркиби ўрганилган. Уран ионларига мослашган *A. ferrooxidans* K-1 штаммида куйи молекуляр плазмидлар Rf 0,24 мм 5,8 т.п.н. мавжудлиги, уран ионларининг таъсиридан далолат берди. Дастлабки ва таркибида уран ионлари (100 мг/л) бўлишига мослашган *A. ferrooxidans* K-1 штаммларининг ИК-спектрларида фарқ бўлиши кўрсатилган.

5. Тажриба моделларида Кокпатас кони минерал маъданларининг биодеструкцияси ўрганилган, бактерия билан ишлов бериш жараёнида минераллар ташки юзасида ярозит ҳосил бўлиши билан сульфидларнинг биодеструкцияси камайганлиги аниқланган. Маъданларни бактериал эритмалар билан намлантиришда уларнинг pH кўрсаткичи 1,7-1,5 гача туширилиши, ярозит ҳосил бўлишини тўхташига олиб келган. Филтрлаш режимидаги лаборатория тажрибалари, микроорганизмлар таъсирида арсеноперит максимал даражада, пирит эса куйи даражада парчаланиши маълум бўлган.

6. Кокпатас конидаги сульфид маъданларни бактериологик оксидлашнинг оптимал параметрлари: K-1 ассоциациясидан фойдаланиш, намлантириш зичлиги 8%, дастлабки pH 1,7-1,8 эканлиги аниқланган. Бактериал эритмалар билан намлантиришда сувда эрувчи полимерлардан фойдаланиш маъдан массасида доминант микроорганизмлар хўжайраси концентрациясининг кўпайишига олиб келган ва олтин ажратиб олишни 8-10% га оширган.

7. Суюқликда эритиб ажратиб олиб филтрлаш шароитида олтин таркибли сульфид маъданларни бактериал оксидлаш бўйича кенг масштабда тажрибалар олиб борилди (маъданнинг умумий ҳажми 1200т). Биооксидлаш орқали олтин ажратиб олиш 90 суткада 36,67 - 53,76%, дастлабки намунани цианидлаганда эса 26,5% ни ташкил этган.

8. Лаборатория шароитида кам уранли маъдандан уран олиш учун бактериал суюқликда эритиб ажратиб олиш усулининг фойдалилиги ва афзаллиги кўрсатилди. Колонка модели тажрибаларида маъданлардан уранни олиш 96-98% га етиши кузатилди. Лаборатория тажрибаларида олинган натижаларга кўра, биологик суюқликда эритиб ажратиб олиш, паст кислотали суюқликда эритиб ажратиб олишга нисбатан рақоботбардошлиги аниқланди.

9. «Пушпул» режимида ер остида уранни суюқликда эритиб ажратиб олишда бактериал эритмаларни қўллаш, қатламда талаб қилинган кислотали режим ва ишланган скваженадан уран қолдиқ миқдорини олиш имконини

берди, унинг концентрацияси тортиб олишнинг маълум вақт оралиғида 773 мг/л етди.

10. Қайта ишланган ер ости блокларидан (СЭАО) уранни олиш учун бактериял эритмаларини қўллаш самарадорлиги кўрсатилди. Бактерия металлари олишни 2,4 мартага оширди, диабетга тенг бўлганда 4 мартага, суюқликда эритиб ажратиб олиш динамикаси режимида бактериял культурани тортиб олинган эритмаларга солинганда уран олиними 3,8 марта сульфат кислотали суюқликда эритиб ажратиб олиш кўрсаткичларидан ошади.

11. Бажарилган тадқиқотлар тахлилига кўра, биогeотeхнология ва микробиологик технология усуларини Ўзбекистонда уюмли сульфид маъданларидан олтинни суюқликда эритиб ажратиб олишда, ҳамда уранни қайта ишланган майдонлардан ер ости суюқликда эритиб ажратиб олишда (СЭАО) қўлланилиши имконини беради.

ЗАЙНИТДИНОВА ЛЮДМИЛА ИБРАХИМОВНА

**МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ФИЛЬТРАЦИОННОГО
ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ БЕДНЫХ СУЛЬФИДНЫХ РУД
МЕСТОРОЖДЕНИЙ ЗАПАДНОГО УЗБЕКИСТАНА**

**03.00.04 – Микробиология и вирусология
(биологические науки)**

АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ

ТАШКЕНТ – 2016

Докторская диссертация выполнена в Институте микробиологии.
Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский) размещен на веб-странице по адресу www.ik-bio.nuu.uz и на Информационно-образовательном портале «Ziynet» по адресу www.ziynet.uz

Научный консультант: Арипов Тахир Фатихович

доктор биологических наук, академик

Официальные оппоненты: Мавлоний Машхура Игамовна

доктор биологических наук, академик

Давранов Кахрамон Давранович

доктор биологических наук, профессор

Ахунов Али Ахунович

доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация: Институт генофонда растительного и животного мира



Введение (аннотация докторской диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. Во всем мире

бактериальное выщелачивание является признанным способом переработки сульфидных руд для получения цветных металлов и урана. Метод позволяет вовлечь в отработку руды, которые экономически нецелесообразно перерабатывать другими способами. В мировом масштабе промышленное применение бактериального выщелачивания было начато с кучного и подземного извлечения металлов из бедных забалансовых медных и урановых руд и отвалов в США, Канаде, Болгарии, ЮАР и других странах¹.

С обретением независимости республики достигнуты весомые результаты и проведены мероприятия по развитию горной металлургии, в том числе, усовершенствования разработки биотехнологии извлечения из сульфидных руд цветных металлов. Следует особо отметить, что разработаны микробиологические методы для переработки сульфидных руд, получена геохимически активная железоокисляющая ацидофильная ассоциация микроорганизмов использование которой позволит повысить степень извлечения цветных металлов из руд данного типа.

В мировом масштабе возрастает важность бактериального выщелачивания руд, как альтернативы существующим гидрометаллургическим методам. Особую актуальность представляет изучение воздействия микроорганизмов на субстрат, направленного использования популяции, биогеохимических реакций, протекающих в системе микроорганизм-руда, в связи со спецификой местных руд.

Полученные результаты позволяют полноценно и максимально провести фильтрационное биовыщелачивание упорных золотосульфидных руд и отработанных участков подземного выщелачивания (ПВ) урана. В связи с этим, проведение научно-исследовательских работ по микробиологической переработке руд является актуальной задачей и имеет как научно практическую, так и экологическую значимость.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в постановлениях Кабинета Министров Республики Узбекистан № 216 от 5 августа 2014 года «О порядке осуществления государственного экологического контроля», № 295 от 27 октября 2014 года «О порядке осуществления государственного учета и контроля в области обращения с отходами», а также в других нормативно правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан. Данное исследование выполнено в соответствии приоритетного направления развития науки и

¹ Schippers A, Hedrich S, et al. Biomining: metal recovery from ores with microorganisms. Adv Biochem Eng Biotechnol. 2014;141:1-47. doi: 10.1007/10_2013_216.

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации².

Научные исследования, направленные на использование ацидофильных автотрофных микроорганизмов в процессах извлечения металлов из сульфидных руд, осуществляются в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе, Department of Biological Sciences, University of Southern California (США), Department of Physics, Northern Arizona University (США), Geomicrobiology, Federal Institute for Geosciences and Natural resources (Германия), School of Biological Sciences, University of Wales (Великобритания), Department of Microbiology, University of Stellenbosch (Южная Африка), Институт микробиологии РАН (Россия), Московский институт стали и сплавов (Россия), Центральный Научно Исследовательский Геологоразведочный Институт Цветных и Благородных Металлов (ЦНИГРИ) (Россия), Институт биофизики СО РАН (Россия), Институт микробиологии (Узбекистан).

В результате исследований, проведенных в мире по биодеструкции сульфидных минералов, получены ряд научных результатов, в том числе: проведено генетическое определение различных групп микроорганизмов (Department of Biological Sciences, University of Southern California); выявлены некоторые аспекты механизма бактериального окисления минералов и систематизированы данные по генетическому анализу ацидофильных микроорганизмов (School of Biological Sciences, University of Wales); разработаны методы промышленного применения микроорганизмов для извлечения металлов из сульфидных руд (Department of Microbiology, University of Stellenbosch); установлены фенотипические и генотипические особенности термофильных микроорганизмов (Институт микробиологии РАН).

В мире по микробному выщелачиванию металлов по ряду приоритетных направлений проводятся исследования, в том числе: выявление широкого разнообразия рудных микроорганизмов в природе; выявление роли микроорганизмов в процессах окисления сульфидных минералов и выщелачивании цветных, благородных и редких металлов; разработка методов промышленного использования новых видов умеренно термофильных ацидофильных микроорганизмов для повышения извлечения металлов.

Степень изученности проблемы. В последние годы отмечается бурное развитие геологической микробиологии. Многочисленные исследования посвящены изучению микроорганизмов, участвующих в окислении сульфидов до ионов металлов и сульфата (Johnson D.B., Gericke M., Hallberg

K.B. Schippers A. Заварзин Г.А., Каравайко Г.И., и др.), изучению

² Обзор по теме диссертации разработан на основе <http://www.ihp.ru/labs/hab.php>; <http://www.tsnigri.ru>; Uranium – Past and Future Challenges, B.J. Merkel and A.Arab, Eds./2015, International Journal of Research in Environmental Science and Technology 5(1)/2015 и других источников.

микроорганизмов, таких как *Ferroplasma cupricumulans* sp. nov. (Hawkes R.B., Franzman P.D. et al), *Ferroplasma acidiphilum* gen. nov., sp. nov. (Пивоварова Т.А., Кондратьева Т.Ф. и др.), *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov. (Богданова Т.И., Цаплина И.А. и др.), *Sulfobacillus disulfidooxidans* sp. nov. (Dufrense S., Bousquet J. et al), *Sulfobacillus thermoferrooxidans* sp. nov. (Головачева Р.С. и др.), *Sulfobacillus sibiricus* sp. nov. (Меламуд В.С., Пивоварова Т.А. и др.), а также практическому применению этих микроорганизмов (Rawlings D.E. et al; Norris P.R. et al).

Детально изучен механизм выщелачивания (Schipers A., Sand W. Gehrke T., Tributsch H. et al).

Несмотря на выявление широкого разнообразия рудных микроорганизмов в природе, недостаточно изучены закономерности распространения их в различных месторождениях. В связи с этим изучение роли геохимически активных микроорганизмов в процессах фильтрационного выщелачивания и закономерностей функционирования микробных сообществ при изменяющихся факторах среды не теряет своей актуальности и является одним из важных направлений в современной микробиологии и биогеотехнологии.

В научной литературе имеются многочисленные данные, посвященные проблемам кучного выщелачивания упорных сульфидных руд с использованием микроорганизмов. Большинство из них касаются отработки технологических параметров, в то время как микробиологическим аспектам уделяется меньше внимания.

За последние годы рядом исследователей проводились опыты по изучению влияния тионовых бактерий на выщелачивание урана из руд. Однако, целый ряд вопросов, направленных на выявление оптимальных условий для течения данного процесса остается открытым.

Следует отметить, что работы по изучению возможности использования бактерий *A.ferrooxidans* для доизвлечения урана, а также золота кучным способом в Республике Узбекистан до настоящего времени не проводились.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ фундаментальных проектов Института микробиологии: 5Ф -

«Биогеохимические закономерности развития микроорганизмов в экстремальных экосистемах и процессах разрушения сульфидного сырья» (2000–2002); Ф-4.1.18. - «Экологическое разнообразие развития микроорганизмов в условиях выщелачивания сульфидных руд» (2003–2006), а также хозяйственных работ: Контракт 2/20 с НГМК «Подземное выщелачивание урана с использованием микроорганизмов. Проведение опытно-промышленных испытаний» (2000-2001); Контракт 5/01 с НГМК «Проведение исследований по разработке технологии извлечения золота из руд Кокпатаса с предварительным окислением сульфидов» (2001-2003);

Контракт 8/03 с НГМК «Проведение лабораторных исследований по биоокислению сульфидных руд месторождения Марджанбулак» (2003–2005). Контракт 11/06 с НГМК «Проведение опытных работ по доизвлечению урана из отработанных блоков подземного выщелачивания (ПВ) рудника К с использованием бактериальных растворов» (2006-2007); Контракты 22/09, и 3/11 с НГМК «Проведение опытных работ по доизвлечению урана из отработанных блоков подземного выщелачивания (ПВ) с использованием бактериальных растворов (2009-2011).

Целью исследования является выявление развития микроорганизмов в условиях кучного выщелачивания золотосодержащего сырья и подземного выщелачивания урана, а также применение бактерий *Acidithiobacillus ferrooxidans* для интенсификации процесса.

Задачи исследования:

изучить микробные экосистемы золоторудных и урановых месторождений;

изучить сукцессии микроорганизмов в процессе кучного выщелачивания и определить культуры микроорганизмов, доминирующие при биоокислении сульфидных руд;

исследовать микробиоту откатных растворов подземного выщелачивания урана;

определить влияние ионов металлов на окислительную активность микроорганизмов. Выявить изменения, происходящие в клетках микроорганизмов под воздействием высоких концентраций ионов металлов в среде;

изучить и проанализировать микробиологическое разрушение сульфидов в процессе их биоокисления;

провести лабораторные исследования фильтрационного выщелачивания золотосодержащих руд и показать возможность использования водорастворимых полимеров в процессе выщелачивания;

провести полупромышленные испытания бактериального окисления сульфидных золотосодержащих руд в условиях фильтрационного выщелачивания;

в лабораторных условиях исследовать возможность применения бактериальных растворов в процессах подземного выщелачивания; в натуральных условиях отработать применение бактериальных растворов в режиме «пушпул» из отработанных скважин;

провести опытно-промышленные испытания по подземному выщелачиванию урана с использованием микроорганизмов на отработанных блоках ПВ.

Объектом исследования служили золотосодержащая сульфидная руда месторождения Кокпатас, а также урансодержащая руда месторождений Бешкак и Кетменчи.

Предметом исследования являлись ацидофильные железooksисляющие ассоциации бактерий и микробные ценозы в процессе выщелачивания.

Методы исследования. При выполнении исследований были использованы классические микробиологические, молекулярно генетические, химические, а также биотехнологические методы.

Научная новизна исследования заключается в следующем: получены местные штаммы бактерий, устойчивые к высоким концентрациям урана и на основании ИК-спектров клеток выявлены изменения состава веществ клеток под влиянием ионов урана; впервые показано микробное разнообразие в процессе кучного выщелачивания руды месторождения Кокпатас, выявлены термофильные археи, участвующие в процессах биоокисления и определен процесс микробиологического разрушения сульфидов на аншлифах данной руды; впервые доказано, что использование водорастворимых полимеров в бактериальных орошающих растворах позволило увеличить прикрепляемость микроорганизмов к руде и, соответственно, вскрытие золота;

определена пригодность золотосульфидных руд месторождения Кокпатас к переработке кучным способом, а также урановых руд Кызылкумской урановой геологической провинции для бактериального выщелачивания;

впервые показана возможность отработки выведенных из эксплуатации скважин бактериальными растворами при однократной закачке.

Практические результаты исследования:

выявлена сукцессия микроорганизмов в процессе выщелачивания сульфидной руды. Установлено, что микробиоценозы рудного материала претерпевают значительные изменения в процессе бактериального выщелачивания;

показано, что добавление полимеров увеличивает прикрепляемость бактерий к руде и, следовательно, увеличивает степень разрушения минералов, что повышает успех коммерческого применения данного метода;

проведены опытно-промышленные испытания биоокисления сульфидных руд месторождения Кокпатас, которые показали возможность применения бактерий для увеличения выщелачивания золота из руд данного месторождения;

проведены опытно-промышленные испытания по подземному выщелачиванию урана из руд месторождения Бешкак и крупномасштабные испытания подземного выщелачивания урана на отработанных участках месторождения Кетменчи, которые показали, что применение бактерий позволило извлечь дополнительные концентрации металла, а также сократить расход кислоты.

Достоверность результатов исследования обосновывается тем, что каждый эксперимент исследования проведен не менее, чем в 3 повторностях, что позволило найти средний наиболее достоверный и стабильный результат.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью компьютерной программы STATISTICA 6.0 и стандартными

методами расчета ошибок, средних, доверительных интервалов, стандартных отклонений. При выборе подходящего метода математического анализа, примененного к результатам конкретного эксперимента, руководствовались рекомендациями, приведенными в соответствующей литературе. Для определения статистической значимости результатов, вычисляли t-критерий Стьюдента.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования заключается в том, что у полученного местного активного штамма *A.ferrooxidans* K-1 изучены некоторые свойства, показано наличие плазмид, что говорит о высоком потенциале изменчивости и очевидной лабильности генома этих бактерий в условиях изменяющейся среды. Изучение сукцессий микроорганизмов в процессе фильтрационного выщелачивания позволит подобрать наиболее благоприятные условия для использования их в процессах кучного выщелачивания золота и извлечения урана методом подземного скважинного выщелачивания.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные фундаментальные данные позволят в дальнейшем использовать их для решения существующих проблем применения микроорганизмов для процессов извлечения золота из бедных сульфидных руд кучным способом, а также доизвлечения урана из отработанных скважин подземного выщелачивания. Внедрение данных технологий в нашей Республике позволит вовлечь в переработку некондиционные руды и отходы производства, а также снизить экологическую нагрузку на окружающую среду и уменьшить загрязнение территорий и грунтовых вод.

Внедрение результатов исследования. Геохимически активная, адаптированная, железоокисляющая ассоциация бактерий *A.ferrooxidans* K-1 внедрена в Навоинском горно-металлургическом комбинате (справка

Государственного предприятия Навоийского ордена «Дустлик» горно-металлургического комбината от 28 октября 2016 года, № 02-03-04/11672). Полученные научные результаты позволили снизить расход серной кислоты и увеличить процент извлечения. Проведенные полупромышленные испытания биоокисления сульфидных руд месторождения Кокпатас на базе ГМЗ-3 (Учкудук) показали возможность повышения извлечения золота до 53,76%, по сравнению с исходными 25,7%. Также проведены крупномасштабные испытания подземного выщелачивания урана с применением выделенной ассоциации на выведенной из эксплуатации откачной скважине промышленного участка месторождения Кетменчи, что позволило извлечь остаточные количества урана и определить оптимальные параметры культивирования микроорганизмов в натуральных условиях. Опытно-промышленные испытания на отработанных участках месторождения Кетменчи в варианте «пушпул», совмещенные с непрерывным режимом показали, что бактерии увеличивают вынос металла.

Показана пригодность бактериального выщелачивания для доизвлечения урана из руд данного участка

Апробация результатов исследования. Основные положения диссертации представлены на 20 научно-практических конференциях, в том числе 12 международных симпозиумах, конгрессах, конференциях, в частности: Международной конференции «Биология-наука XXI века»: 6-ой конференции молодых ученых в Пущинской школе (Пущино, 2002); Международном симпозиуме «Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology» (Paris, 2002); Международном конгрессе “Biotechnology – state of the art and prospects of development” (Москва, 2002); Международном форуме «Биотехнология и современность» (Санкт–Петербург, 2003); Международном симпозиуме «International workshop on biotechnology commercialization and security» (Tashkent, 2003); III и V съезд микробиологов Узбекистана (Ташкент, 2005, 2012); 16th International Biohydrometallurgy Symposium, (Cape Town, South Africa 2005); Международной конференция “Биотехнология: состояние и перспективы развития” (Москва, 2007, 2009); XII. International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, (Istanbul, 2008); Республиканская конференция «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии» (Ташкент, 2009); «Biotech 2011 & 5th Czech-Swiss Symposium with Exhibition» (Prague, 2011); Международном симпозиуме «Микроорганизмы и биосфера – Microbios 2015» (Ташкент, 2015).

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликованы всего 86 научных работ. Из них 28 научных статей, в том числе 23 в республиканских и 5 в зарубежных журналах рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка использованной литературы, приложений. Объем диссертации составляет 204 страницы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Бактериальное фильтрационное выщелачивание металлов и микроорганизмы, участвующие в данных**

исследований по бактериальному фильтрационному выщелачиванию металлов из сульфидных руд. Даны описание и характеристики микроорганизмов, участвующих в данных процессах.

Во второй главе диссертации **«Методы изучения экосистем фильтрационного выщелачивания и свойств геохимически активных микроорганизмов»** описаны методы изучения микробных экосистем фильтрационного выщелачивания, изучения влияния урана на микроорганизмы, выявления плазмидной ДНК, определения ИК-спектров микроорганизмов, спектрального анализа проб руды. Даны характеристики золотосульфидной руды месторождения Кокпатас и бедной урановой руды Кызылкумской провинции.

В третьей главе диссертации **«Микробные экосистемы фильтрационного выщелачивания»** представлено изучение микробных экосистем рудных месторождений и процессов фильтрационного выщелачивания, а также изучение некоторых свойств отобранной ассоциации геохимически активных микроорганизмов.

*Микробные экосистемы фильтрационного выщелачивания
месторождения Кокпатас*

Благоприятной экологической нишей для жизнедеятельности многих специфических микроорганизмов являются рудные месторождения. Присутствие в рудах большого числа химических элементов, имеющих различные свойства, обуславливает развитие многих микроорганизмов, а также разнообразие протекающих здесь биогеохимических процессов. Учитывая этот фактор, проведено обследование золоторудного месторождения Кокпатас.

Анализируя распределение микроорганизмов в отобранных образцах различных экологических ниш можно отметить, что доминируют

органотрофы, среди которых преобладают представители рода *Bacillus*.

Максимально во всех исследуемых пробах выявлялись олигонитрофилы, способные расти на скудных концентрациях органического вещества (табл. 1).

Автотрофные ассоциации тионовых бактерий наиболее представительны в богатой пиритом руде. Отмечается присутствие тиосульфатокисляющих и миксотрофных микроорганизмов. Автотрофные денитрификаторы присутствуют только в рудничной воде и общем стоке. В точках микрозонального окисления пирита и арснопирита выявлены микроорганизмы, отнесенные нами к *A. ferrooxidans* и *S. thermosulfidooxidans*, которые сформировали активный консорциум.

Для переработки руд с использованием микроорганизмов в зависимости от типа руд применяют кучное либо подземное фильтрационное выщелачивание.

Обе эти технологии можно отнести к фильтрационным, т.к. при этом происходит просачивание растворов сквозь руду. Исходя из этих

42

выщелачивания и их связь с окислением сульфидных минералов и металлов представляет интерес.

Таблица 1

Численность микроорганизмов в рудах и водах месторождения Кокпатаг (кл/г, мл)

№	Ассоциации микроорганизмов	Пробы				
		сто ^к	арсенопирит-ный Пирит-участок	Сульфидная жила ^а	Пустая порода ^а	проходящая через Рудничная сульфидный участок ^к вода,
1.	Автотрофные тиосульфат окисляющие нейтрофилы	2,5x10 ² ₂	2,5x10 ³	-	-	2,5x10 ²
	Автотрофные денитрификаторы	2,5x10	-	-	-	2,5x10 ²
2.	Миксотрофные тиосульфат окисляющие нейтрофилы	2,5x10 ³	2,5x10 ³	-	6,0x10 ⁴	-
3.	Ацидофильные сероокисляющие	-	- ₂	- ₂	-	2,5x10 ²
4.	Ацидофильные железоокисляющие	-	2,5,0x10	2,5x10	-	-
5.	Сульфатредуцирующие	- ₅	- ₃	- ₃	- ₄	-
6.	Аммонифицирующие	3,4x10 ₄	8,0x10 ₂	3,6x10 ₂	1,1x10 ₃	2,5x10 ³
7.	Денитрифицирующие	1,1x10 ₅	1,1x10 ₃	2,5x10 ₅	2,5x10 ₅	2,5x10 ²
8.	Олигонитрофилы	1,9x10 ₃	8,7x10 ₄	5,6x10 ₃	2,1x10 ₂	-
9.	Микроскопические грибы	2,5x10	2,5x10	2,0x10	5,0x10	3,5x10 ¹

С целью выявления сукцессии микроорганизмов в пространственном отношении нами в колоночных условиях проанализирован состав микроорганизмов в процессе прохождения бактериальных растворов сквозь толщу руды. В результате проведенных исследований установлено, что естественная микрофлора рудного материала претерпевает значительные изменения в процессе бактериального выщелачивания (табл. 2, 3).

По мере закисления растворов до pH 4 количество гетеротрофных микроорганизмов снижалось и изменялся родовой состав – оставались в основном представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и микроскопические

Сукцессии микроорганизмов в
процессе закисления и
бактериального выщелачивания
(БВ) (твёрдая проба, верхний
сегмент)

Г е т е р о т р о ф ы	Чане к	1 5 х 1 0 5	1 5 6 х 1 0 5	г р и б ы
	Пар ^с	8 х 0	5 х 7	-

	РПА	8 х 1 0 6	х 1 0 4	
		1 , 5 2 х 1 0 6	6 , 7 2 х 1 0 5	-
Д е н и т р и ф и	Гене ротр офы	6 , 0 х 1 0 3	6 , х х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 1

к а т е р ы	Авто троф ы	6 0 х 1 0 4	2 5 х 1 0 1	-
Миксотро фы		2 5 х 1 0 7	г р б ы 1 0 5	2 5 х 1 0 3
А в т о я р	ок ис л я ю щ	6 0 х 1 0 3	н / о	-

о ф ы	и ^е Т н о с у л ь ф а т						
	ок ис л я ю щ и ^е С е р у	н / о	н / о	-	-	-	2 , 5 х 1 0 2

терм офи льн ые Ум ере ни о аци доф иль	-	-	-
A.fer rooxi dans	н / о	н / о	2 , 5 х 1 0 1
pH	~ 8 , 0	4 , 2 5	1 , 9 5
Сутк ^{II}	И с х	П р о м .	1

Сукцессии микроорганизмов в
процессе закисления и БВ (твердая
проба, нижний сегмент)

Г е т е р о т р о ф ы	Чап ск	1 , 5 х 1 0 5	1, 6 9 х х 1 0 5	г и е ль
	Пар е	8 , 0 8 х 1 0 6	5, 7 х 1 0 4	-
	РП А	1 , 5 2 х 1 0 6	6, 7 2 х 1 0 1	-
Д е н и н т	Гете рот роф ы	6 , 0 х 1	н / о	в / с

* выявлялись

микроорганизмы, отнесенные
нами к роду *Ferroplasma*.

Таблица 3

р и ф и к а т о р ы	Авт отр офы	6 , 0 х 1 0 4	2, 5 х 1 0 1	2 , 5 х 1 0 5
Миксотро фы		2 , 5 х 1 0 7	г и е ль ы , 1 0 5	-
А в т о т р о ф ы	Т и о с у л ь ф а т о к и с л я ю щ и е	н / о	2, 5 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 2
о к и с л я ю щ и е	о н / о	н / о	2 , 5 х 1 0 5	2 , 5 х 1 0 5

* выявлялись микроорганизмы,
отнесенные нами к роду *Ferroplasma*.

я ю щ и е С е р у	-	-	2 , 5 х 1 0 2	6 , 0 х 1 0 2	6 , 0 х 1 0 2	6 , 0 х 1 0 2
тер моф иль ные Ум ер ен но аци до ф иль	-	-	2 , 5 х 1 0 2	6 , 0 х 1 0 2	6 , 0 х 1 0 2	6 , 0 х 1 0 2
A.fer rooxi dans	н / о	н / о	2 , 5 х 1 0 4	2 , 5 х 1 0 3	2 , 5 х 1 0 2	2 , 5 х 1 0 5
pH	~ 8 , 0	4, 2 5	2 , 3 1	2 , 3 8	2 , 1 0	2 , 1 0
Сутк ^{II}	И с х	П р о м .	1 5	2 9	3 7	5 0

грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*. Дальнейшее закисление резко изменило картину микробного сообщества, где лидирующие позиции заняли ацидофильные тионовые микроорганизмы и в незначительных количествах гетеротрофы, выявлялись микроскопические грибы.

Предварительный микробиологический анализ руды перед закислением

показал наличие в ней различных групп микроорганизмов, среди которых преобладали гетеротрофные бактерии, тионовые тиосульфат окисляющие микроорганизмы. Тионовые нейтрофилы и тионовые миксотрофные микроорганизмы выявлялись как в исходной пробе, так и по мере плавного закисления. Среди гетеротрофных микроорганизмов преобладали представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, в меньшем количестве бактерии, отнесенные к роду *Micrococcus*. Отмечалось наличие микроскопических грибов, относящихся к родам *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Cladosporium*.

По мере закисления растворов до pH 4 количество гетеротрофных микроорганизмов снижалось и изменялся родовой состав – оставались в основном представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и микроскопические грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*. Дальнейшее закисление резко изменило картину микробного сообщества, где лидирующие позиции заняли ацидофильные тионовые микроорганизмы и в незначительных количествах гетеротрофы, выявлялись микроскопические грибы.

По мере отмирания гетеротрофов, сопровождавшееся увеличением физиологически активных соединений, происходило изменение на поверхности дробленой руды, что дало возможность укорениться поздним сукцессионным видам. В нашем случае закисление руды привело к сукцессии микроорганизмов с последующим доминированием ацидофильных тионовых микроорганизмов.

Так, титр клеток *A. ferrooxidans*, адсорбированных на руде менялся от $2,5 \times 10^1$ до 10^5 кл/мл/г, *A. thiooxidans* – от $2,5 \times 10^1$ до 10^2 кл/мл/г. Незначительные изменения динамики развития наблюдались у гетеротрофных микроорганизмов родов *Bacillus*, выявляемых в условиях слабокислотного выщелачивания, а также некоторых микроскопических грибов представителей родов *Aspergillus* и *Penicillium*.

Следует отметить, что в процессе фильтрационного выщелачивания изменение микробного сообщества происходило по всей длине колонки. Установлено, что в процессе прохождения раствора через руду происходило как бы перераспределение внесенного консорциума в верхней и нижней частях колон в зависимости от условий. При этом преобладающими микроорганизмами были *A. ferrooxidans*.

Микробиологический анализ аборигенной популяции модельного опыта кучного выщелачивания показал, что здесь может присутствовать значительное разнообразие ацидофилов. Несмотря на то, что биокуча может быть инокулирована смесью культур *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* и других родственных им бактерий, очевидно, что те участки кучи, которые

превышают температурный оптимум для этих бактерий, имеют другую микробную флору. Кучу колонизируют экстремофилы, такие как различные виды архей и сульфобацилл (рис. 1, 2).

Рис. 1. Электронная микрофотография



термофильных бактерий (x11400)

Рис. 2. Электронная микрофотография



Sulfobacillus sp. в
выщелачивающем растворе (x22000)

Микрофлора месторождения урана

С целью изучения развития микробных сообществ на разрабатываемых урановых месторождениях, нами обследованы керны из скважин месторождения Кетменчи, а также пластовая вода этого месторождения (табл. 4).

Таблица 4

Микробиологическое обследование кернов и пластовой воды

N пробы	Количество микроорганизмов, кл/мл, ГБаалсруда 9К Маннинга Летена Лондона Постгейта
Керн 5	Гильтая РПА $2,5 \times 10^2$ - - - 7×10^3 $2,5 \times 10^3$ $2,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^2$ - - $2,5 \times 10^2$ $2,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^2$
Керн 6	$3,7 \times 10^4$
Керн 7	- $2,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^3$ $2,5 \times 10^2$ - - $4,6 \times 10^5$ - $2,5 \times 10^3$ $2,5 \times 10^3$ 7×10^2 $2,5 \times 10^2$ - - $7,9 \times 10^5$
Керн 8	2×10^2 - $2,5 \times 10^2$ - 7×10^3 - $2,5 \times 10^3$ $7,8 \times 10^5$
Пластовая вода	
вода 9	

Как видно, по характеру геохимической деятельности, микрофлору месторождений можно разделить на специфическую и неспецифическую. К специфической микрофлоре можно отнести как тионовые ацидофилы, так и тионовые нейтральщики.

Рассматривая микробные экосистемы данного участка, следует отметить, что геохимически активные микроорганизмы, как железо-, так и сероокисляющие, выявлялись лишь в отдельных пробах и в незначительных количествах. Из специфических микроорганизмов, следует отметить присутствие миксотрофных микроорганизмов, способных окислять тиосульфат в присутствии органических добавок. В незначительных количествах выделялись бактерии, отнесенные к *Thiobacillus denitrificans*. В гораздо больших количествах отмечается наличие органотрофов, также выявлялись микроскопические грибы.

Изучение микробиоты фильтрационного выщелачивания урансодержащих руд

Как известно, подземное выщелачивание происходит с добавлением

компонентов (кислорода или перекиси водорода). Изучение микробиоты всех типов выщелачивания представляет значительный интерес в связи с возникающей возможностью применения микроорганизмов в ПВ урана.

Проведенные исследования показали, что при подаче воздуха в откачные растворы выявилось преобладание тионовых бактерий, увеличивалось количество микроорганизмов, относящихся к олигонитрофилам, а также выделялись бактерии рода *Pseudomonas*. При этом происходила стимуляция развития миксотрофных тионовых бактерий и гетеротрофных микроорганизмов, а также микромицетов, среди которых преобладали представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*. В этих растворах характерным было наличие микроорганизмов, относящихся к *T. denitrificans*.

Анализ развития микробной биоты в откачных растворах без подачи воздуха показал, что число микроорганизмов заметно снижалось и их количество не являлось экологически значимым.

Исследования на откачных растворах безреагентного выщелачивания установили, что при подаче кислорода воздуха в закачные скважины отмечается интенсификация выноса урана, которая сопровождается значительным увеличением роста микроорганизмов, относящихся к группе тионовых нейтрофилов и бактерий рода *Pseudomonas* (рис. 3).

Известно, что многие микроорганизмы продуцируют короткоцепочечные органические кислоты и элемент-специфические лиганды, которые могут изменять pH и способствовать синтезу хелатов, что может привести к увеличению выщелачивания многих элементов, содержащихся в следовых количествах в рудах. Высвобождение урана, очевидно, объясняется продукцией пиовердиновых хелатов, которые являются типичными лигандами, продуцируемыми псевдомонадами. Интенсификация деятельности этих групп микроорганизмов может способствовать увеличению концентрации урана в растворе.

	Откачной раствор с подачей воздуха	Откачной раствор без подачи воздуха
	5	4
Ig количества		4,91
клеток		4,25
5,6		4,88
6	3,6 3,6	
2,6 2,6		
3		
2		0
1		0
		2,55 2,6 2,75

тионовые

Рис. 3. Микроорганизмы откачных растворов безреагентного выщелачивания В
откачных растворах кислотного подземного выщелачивания наблюдалось
доминирование во всех исследуемых пробах *A. ferrooxidans*, *A.*

47

thiooxidans и их количественное увеличение по мере повышения кислотности
растворов (рис. 4).

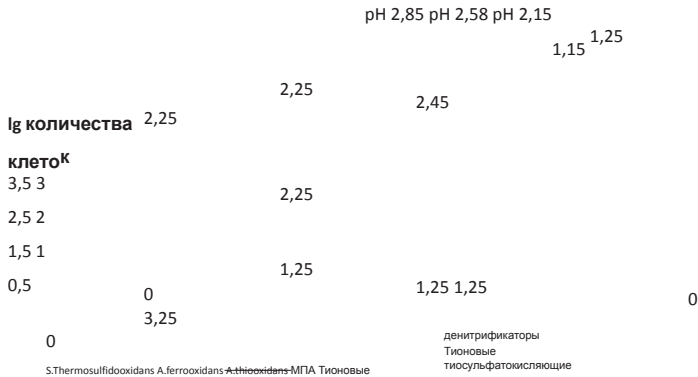


Рис. 4. Микроорганизмы откачных растворов кислотного выщелачивания

Следует отметить, что в хвостовых растворах выявлялись также микроскопические грибы, отнесенные нами к родам *Aspergillus*, *Fusarium* и *Penicillium*.

Таким образом, анализ развития микроорганизмов в откачных растворах подземного выщелачивания как безреагентного, так и кислотного, установил наличие различных микроорганизмов.

Влияние ионов металлов на рост и развитие бактерий A.ferrooxidans В процессе выщелачивания в раствор переходят металлы, которые могут оказывать как позитивное, так и негативное влияние на жизнедеятельность бактерий, участвующих в процессах бактериального выщелачивания металлов из руд. В связи с этим, изучено влияние ионов металлов на рост и развитие бактерий *A. ferrooxidans*.

Микроорганизмы *A. ferrooxidans* наиболее устойчивы к высокому содержанию железа в растворе. Однако в процессе выщелачивания содержание ионов железа может значительно превышать концентрации, приемлемые для нормальной жизнедеятельности данных культур. Методом последовательной адаптации нами получены культуры, способные к активному росту до 30 г/л Fe^{3+} в растворе и выше (рис. 5).

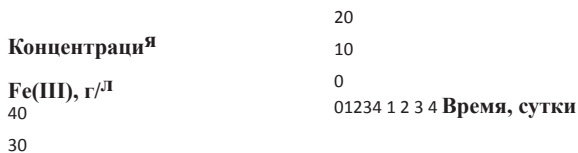


Рис. 5. Окисление железа различными штаммами *A. ferrooxidans* (1 – К-1; 2 – КСБ; 3 – 3-9М; 4 – В-12) после хранения на повышенных концентрациях железа

48

Изучено также влияние ионов золота и серебра на рост и развитие промышленного штамма *A. ferrooxidans* К-1. В результате исследований показано, что смесь растворов золота и серебра в концентрации 100 мг/л серебра и 2,5 мг/л золота полностью ингибируют рост и развитие микроорганизмов, а также их окислительную активность.

Воздействие ионов урана на рост штамма *A. ferrooxidans* К-1 на среде 9К с добавлением ионов урана в количестве 60 мг/л показало, что данная концентрация не подавляет развитие бактерий, и даже, в некоторой степени, стимулирует их рост. Дальнейшее увеличение количества урана в среде до 100 мг/л оказывает негативное влияние на рост *A. ferrooxidans* К-1. На третьи сутки культивирования количество клеток в опытном варианте снижается до $6,0 \times 10^4$ кл/мл и лишь на 6 сутки число клеток достигает значений, соответствующих количеству микроорганизмов, выросших в контрольном варианте. Аналогичные изменения наблюдаются и по результатам окислительной активности бактерий (рис.6).

Известно, что устойчивость микроорганизмов к ионам тяжелых металлов определяется наличием плазмид. Исходя из роли трансмиссивности плазмид можно предположить, что устойчивость к ионам металлов у различных бактерий является распространенным адаптивным свойством.

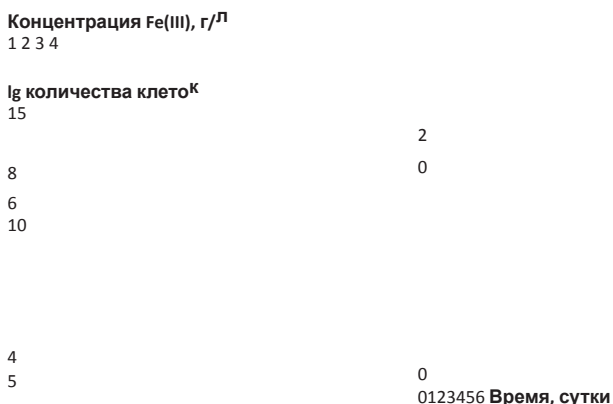


Рис. 6. Геохимическая активность *A. ferrooxidans* штамм К-1 на среде с ураном (100 мг/л): 1–концентрация окисленного железа в контроле; 2–концентрация окисленного железа на среде с ураном; 3–количество клеток микроорганизмов в контроле; 4– количество клеток микроорганизмов на среде с ураном; 1 – наличие

достоверных различий в содержании железа между контролем и опытом.

Однако *A. ferrooxidans* является сложным объектом для генетических исследований. Rawlings D.E. с соавторами при изучении генетической системы *A. ferrooxidans* обнаружили штаммовое разнообразие по наличию или отсутствию плазмид, их количеству и размерам, по наличию или отсутствию генетических элементов, которые играют роль в адаптации к изменяющимся условиям среды обитания.

Проведенные исследования по выделению плазмидной ДНК из штамма *A. ferrooxidans* К-1 адаптированного к 100 мг/л урана показали наличие мегаплазмиды Rf 0,07 как у природного, так и у штамма *A. ferrooxidans*, адаптированного к ионам урана. Для последнего выявлено наличие также низкомолекулярной плазмиды Rf 0,24 мм 5,8 т.п.н., появление которой

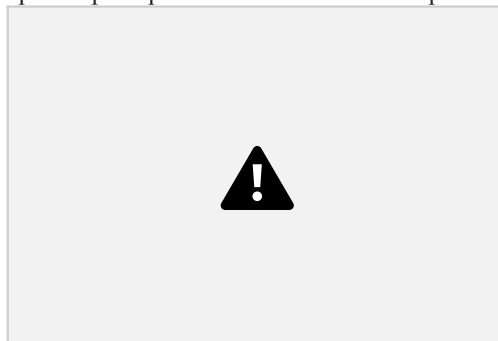
49

свидетельствует о воздействии ионов урана.

Для анализа изменений, происходящих в клетках *A. ferrooxidans* К-1 под влиянием ионов урана в растворе, мы использовали методы колебательной спектроскопии, которые применяются при изучении сложных биологических систем, и при сравнительном изучении клеток. Рассмотрение спектральных кривых показывает, что у клеток бактерий, выросших на среде с ионами урана, отмечается усиление интенсивности в полосе антисимметричных валентных колебаний СН в CH_3 -групп и симметричных валентных колебаний СН в CH_3 - и СН в CH_2 -группе (2850 см^{-1}) (Рис. 7).

Наблюдается снижение интенсивности для клеток бактерий на среде с ураном в области $1130\text{-}1070 \text{ см}^{-1}$, что, возможно, свидетельствует о снижении уровня полифосфатов.

Таким образом, отобранная наиболее активная культура бактерий *A. ferrooxidans* К-1, обладает высокой скоростью окисления железа и устойчивостью к повышенным содержаниям ионов различных металлов в растворе. При этом в таких неблагоприятных условиях окислительная



2

1

Рис. 7. ИК-спектры клеток бактерий *A. ferrooxidans* на среде 9К (1) и на среде с ураном (100 мг/л) (2).

активность данной культуры не снижается, что является благоприятным фактором для использования *A. ferrooxidans* К-1 в промышленных условиях. В четвертой главе «Фильтрационное выщелачивание золотосодержащих

руд» приведены результаты исследований по фильтрационному выщелачиванию золотосодержащих руд.

Изучение влияния полимеров на процесс выщелачивания

Выщелачивание дробленной рудной массы, обычно создает проблему фильтрации растворов в штабеле, что приводит к уменьшению степени извлечения золота. Содержание глинистой фракции, а также большое количество мелкой фракции, способствует плохой проницаемости штабеля руды. В процессах кучного выщелачивания в связи с особенностями рудного материала применяется предварительная агломерация руды.

Brierley с соавторами для агломерации клеток и измельченной руды использовали синтетический полимер, что позволило разработать метод

50

агломерации микроорганизмов и руды с содержанием карбонатов меньше 2,5%. Для руды с более высоким содержанием карбонатов необходимо предварительное подкисление и только затем внесение микроорганизмов с орошающим раствором.

Нами изучались полимеры, любезно предоставленные Институтом химии и физики полимеров АН РУз. Проведенный поиск растворимых в культуральной жидкости бактерий полимеров, их влияние на жизнедеятельность и геохимическую активность микроорганизмов, а также возможность увеличивать степень прикрепления бактерий к поверхности руды (биокапсулирование) позволил отобрать полимер на основе поливинила.

Микробиологический анализ опытных образцов руды с добавлением полимера показал, что в отличие от контрольного варианта (только с бактериальным раствором), в варианте бактерии + полимер агломерация с рудой происходит более интенсивно (рис. 8).

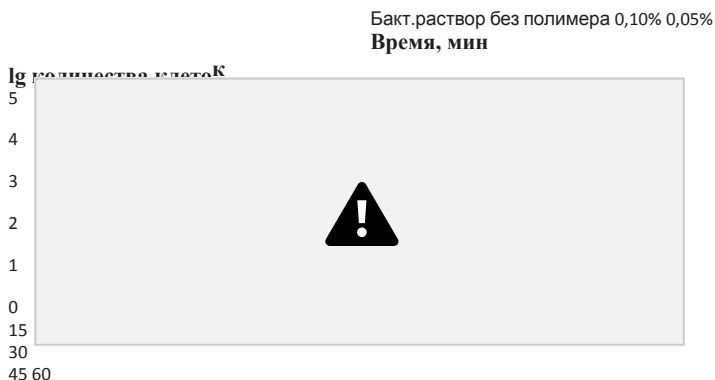


Рис. 8. Влияние полимера Р-10 на агломерацию клеток микроорганизмов с рудой
Применение полимеров в лабораторных опытах позволило повысить извлечение золота на 8-10%. Очевидные преимущества биокапсулирования в первоначальный период орошения связаны с увеличением адсорбции

микроорганизмов на поверхности сульфидных минералов, обусловленной образованием химических связей в системе микроорганизм-полимер-руда между поверхностными структурами полимера и бактерий с элементами кристаллической решетки минералов.

Лабораторные эксперименты кучного фильтрационного выщелачивания проводились на образцах руд золоторудного месторождения Кокпатас. Руда была раздроблена до класса –20 мм. Рациональный анализ данной пробы руды свидетельствует о том, что золото, заключенное в пирите и арсенопирите составляет 33%. Для руды этого месторождения характерно преобладание таких сульфидных минералов как пирит (2,95%) и арсенопирит, (1,87%) и именно эти минералы являются основными концентраторами золота.

51

В лабораторных испытаниях установлено, что окислительная активность достигала максимальных показателей (25г/л) на 100 сутки (рис. 9). Следует отметить, что обычно при достижении 18-20 г/л Fe (III), мы проводили частичную замену раствора, чтобы снизить ингибирующее действие конечного продукта на рост и геохимическую активность бактерий.

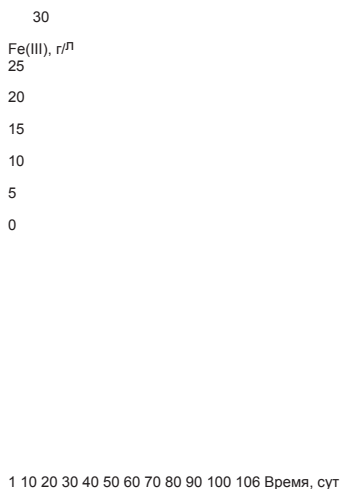


Рис. 9. Мониторинг процесса окисления железа в режиме фильтрации ассоциацией К-1

Количество микроорганизмов, закрепленных на руде на протяжении всего опыта колебалось от $2,5 \times 10^6$ до $6,0 \times 10^7$ клеток на грамм руды. Среди выявленных бактерий, адсорбированных на руде, преобладали *Acidithiobacillus ferrooxidans* и *Acidithiobacillus thiooxidans*, увеличение клеток *Sulfobacillus thermosulphidooxidans* наблюдалось после 50 суток орошения руды. Извлечение золота за 120 дней орошения ассоциацией бактерий К-1 достигало 67,71% (прямое цианирование исходной пробы – 25,9%).

Первым этапом взаимодействия *A. ferrooxidans* и других бактерий с сульфидными минералами является адсорбция их на поверхности, после чего начинается процесс биохимического воздействия на окисляемый субстрат. В связи с этим нами изучен процесс микробиологического разрушения сульфидов и характер этих разрушений в статическом режиме. Сканирование поверхности аншлифа после бактериальной обработки, представленное на рисунках 10–12, выявило наличие язрозитной пленки, покрывающей большую часть поверхности аншлифа. Пирит выявлялся лишь в небольших «окнах», где его разрушение отчетливо видно.

Анализ химического состава отдельных фаз и участков вещества, произведенные на микрорентгеноспектральном анализаторе JED-2200, показывают уменьшение сульфидной серы, мышьяка и других элементов.

Деструкция минералов под воздействием бактериальных растворов в лабораторных опытах происходила слабо из-за образующегося язрозита. В связи с этим, нами предложено снижение pH бактериальных растворов в период орошения руды до 1,7–1,5, что позволило затормозить образование язрозита.

52

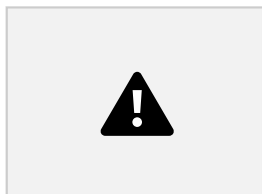
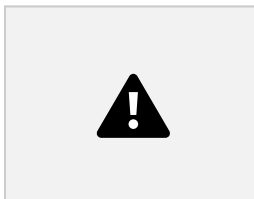


Рис. 10. Внешний вид участка после бактериальной обработки до отмывки. Бактериальные колонии совместно с



язрозитом, образующиеся на поверхности аншлифа.
Рис. 11. Чешуйки язрозита, покрывающие поверхность аншлифа.

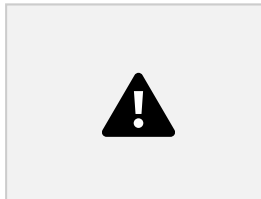


Рис. 12. Поверхность аншлифа, покрытая язрозитными пленками, в окне язрозитных пленок пирит, подвергшийся биоокислению.

Анализ деструкции сульфидов в фильтрационном режиме показал, что на поверхности аншлифа в верхней части модельных колонок большая часть карбонатов растворилась, первичный пирит превратился в агрегат неясного кружевного строения (рис. 13, фото 3). Количество остаточного пирита – 0,5–0,7 %. Арсенопирит не отмечается.

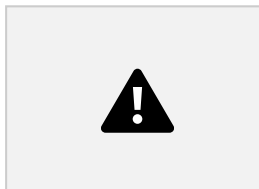
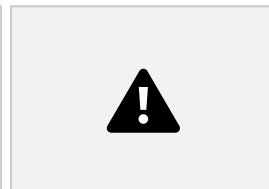
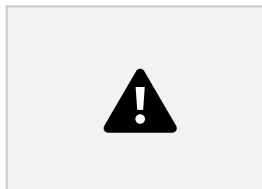


Рис. 13. Аншлиф пробы руды (верхняя часть колонны):

1, 2 – исходный аншлиф до обработки бактериями; 3 – после обработки бактериями
 Гораздо меньшему воздействию бактерий подверглись аншлифы установленные в нижних частях колонн. Обработка бактериями показала, что часть аншлифа подвержена бактериальной обработке, но 50% поверхности сохранилось без изменения. Пирит остался в виде кружевных скоплений, поверхность его не затронута бактериальным окислением (рис. 14, фото 3). Арсенопирит в виде тонких игольчатых кристаллов частично сохранился в карбонатных прожилках. В обработанных участках сульфиды практически отсутствуют (рис. 14, фото 4).



1 2 3 4 Рис. 14. Аншлиф пробы руды (нижняя часть колонны):
 1, 2 – исходный аншлиф до обработки бактериями;
 3, 4 - аншлиф после обработки бактериями

53

Полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что в процессе фильтрационного выщелачивания бактериальное окисление сульфидов происходит с различной степенью интенсивности. Минералогический анализ разрушения сульфидов показал, что наиболее интенсивно разрушение пирита и арсенопирита происходит в верхних частях колонны. В нижних ее частях, очевидно, происходит частичное каналирование и не наблюдается полного контакта бактерий с поверхностью сульфидных минералов. Это предопределяет различную степень вскрытия золота по всей высоте колонны.

Применение различных объемов орошающих растворов показало, что максимальное извлечение золота наблюдается при равных условиях в варианте с объемом орошающего раствора 8% (рис. 15).

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о возможности и эффективности применения микроорганизмов при кучном выщелачивании сульфидных руд месторождения Кокпатас.

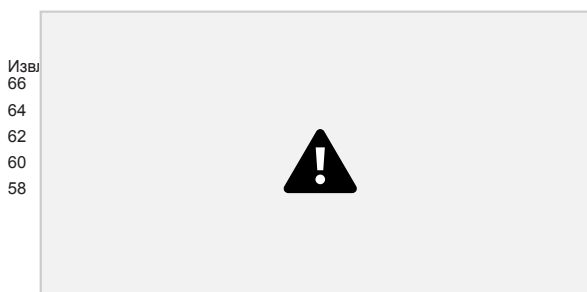


Рис. 15. Извлечение золота из руды месторождения Кокпатас, прошедшей режим фильтрационного выщелачивания при разных объемах бактериального орошения (1 – 10%; 2 -15%; 3 – 8%)

Полупромышленные испытания биоокисления сульфидных руд месторождения Кокпатас кучным способом были проведены совместно с Навоийским горно-металлургическим комбинатом (НГМК).

Результаты лабораторных опытов в активном режиме показали пригодность отобранных образцов сульфидных руд месторождения Кокпатас к биоокислению в режиме кучного выщелачивания. Лабораторные опыты в перколяционном режиме установили, что извлечение золота за 150 сут. бактериального окисления составило в различных вариантах лабораторных опытов от 45 до 52 %. Лабораторные исследования показали, что наличие карбонатов в рудах месторождения Кокпатас требует предварительного закисления (декарбонизации) для обеспечения заданного значения pH при биоокислении.

Для подтверждения результатов, полученных в лабораторных исследованиях, была создана опытно-промышленная установка (ОПУ) по

54

кучному биоокислению (на базе ГМЗ-3, г. Учкудук). В исходной руде содержание золота составило 2,9 г/т; извлечение золота составило 26,5%. По завершении формирования опытной установки был проведен процесс декарбонизации материала кучи путем орошения ее растворами серной кислоты концентрацией 2; 10; 30 г/л последовательно с целью уменьшения кольматации продуктами закисления. Плотность орошения составила 0,12-0,15 л/мин/м². Орошение кучи кислыми растворами продолжалось до установления стабильных значений pH 2,0-2,5. Продолжительность процесса декарбонизации составила 52 дня, расход кислоты – 21 кг/т.

Для получения бактериальных растворов в условиях опытно-промышленных испытаний были задействованы ферментеры объемом 5 м³ и два по 35 м³. Питательную среду готовили на основе технической воды методом дробного культивирования. В течение 7 суток было наработано 55 м³ культуральной жидкости в двух емкостях. Установлено, что предлагаемым методом дробного культивирования микроорганизмов сокращается время наработки биомассы бактерий, что является особо важным при крупномасштабном культивировании бактерий.

По окончании процесса закисления было начато орошение кучи бактериальными растворами с той же плотностью орошения. Использовалась ацидофильная железooksисляющая ассоциация *A. ferrooxidans* K-1.

Вытекающие в приямок бактериальные растворы анализировали на содержание Fe³⁺, Fe²⁺, As⁵⁺, As_{общ.}, количество микроорганизмов, pH и Eh растворов, по которым осуществляли контроль процесса биоокисления в период эксплуатации кучи. В течение первых двух месяцев наблюдали

постепенное увеличение концентрации Fe^{3+} и As^{5+} в жидкой фазе. Самая высокая их концентрация – 3,0-4,0 г/л Fe^{3+} и 1,0-2,0 г/л As^{5+} отмечалась в конце второго месяца эксплуатации. При этом температура внутри кучи увеличилась с 17-19 до 23-25°C несмотря на понижение температуры окружающей среды.

На 90-е сутки работа установки была остановлена.

Анализ развития микроорганизмов в различных точках штабеля в период остановки орошения показал неоднозначную картину распределения микроорганизмов, количество которых колебалось от $2,5 \times 10^6$ – $6,0 \times 10^7$ кл/г руды. При этом выявляемое количество бактерий в период понижения температуры окружающей среды оставалось выше экологически значимых показателей ($2,5 \times 10^5$ – $2,5 \times 10^6$ кл/г) (табл. 5).

Полученные результаты свидетельствуют о неравномерности протекания бактериальных процессах в куче, с определенной интенсивностью в одних зонах (зонах КБ) и низкой геохимической активностью в других (зоны КС) (табл. 6).

55

Таблица 5

Показатели сорбционного цианирования проб руды кучи после 90 дней биоокисления

№	Номер пробы	Извлечение золота, %		Количество микроорганизмов, кл/г	
		43 сутки биоокисления	90 сутки биоокисления	43 сутки биоокисления	90 сутки биоокисления
1	3-1	37,8	41,6	$2,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$
2	3-2	40,6	45,2	$1,3 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$
3	3-3	48,3	75,6	$6,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$
4	3-4	40,0	46,9	$6,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^5$
5	1с-н	40,0	43,3	$2,1 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$
6	2с-н	-	54,3	-	$2,5 \times 10^5$
7	3с-н	-	39,3	-	$2,5 \times 10^4$
8	4с-н	-	51,6	-	$2,5 \times 10^5$

Таблица 6

Результаты цианирования проб руды

Проба	Исходное содержание Au, г/т	Извлечение, %
КБ	3,19	53,76
КС	3,04	36,67

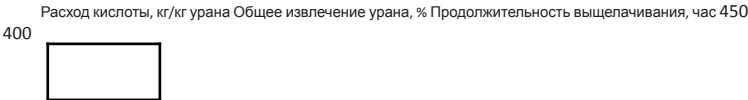
В пятой главе «Биовыщелачивание урана» приведены исследования биовыщелачивания урана подземным скважинным методом. В лабораторных опытах была показана пригодность урановых руд, содержащих сульфидную серу, к выщелачиванию с использованием микроорганизмов.

Полученные результаты предварительных исследований показали целесообразность проведения исследований в модельных колонках. Анализ результатов выщелачивания показал, что извлечение урана из руды достигает 96–98% при различных временных показателях. Применение бактериальных растворов сократило период выщелачивания в разных вариантах опыта от 40 до 77 часов.

Сравнительный анализ технологических показателей процесса биовыщелачивания урана из бедных руд показывает очевидные преимущества метода бактериального выщелачивания в сравнении со слабокислотным выщелачиванием (рис. 16).

Положительные результаты лабораторных исследований позволили нам перейти к крупномасштабным экспериментам. Опытные работы по бактериальному выщелачиванию урана в режиме «пушпул» были проведены на промышленном участке подземного выщелачивания, где в качестве опытного участка была использована откачная скважина, выведенная из эксплуатации. Скважина была опробована, установлена кислотность пластового раствора 4,9 г/л, содержание урана 25 мг/л. Было проведено двукратное разбавление бактериального раствора перед вводом в скважину. Общее количество жидкости, поданной в скважину, позволило продвинуть техническую воду в пласт на расстояние 0,7 м, в том числе бактериальных растворов (0,4 м³) на расстояние 0,3 м.

56



250
200
150
100
50
0

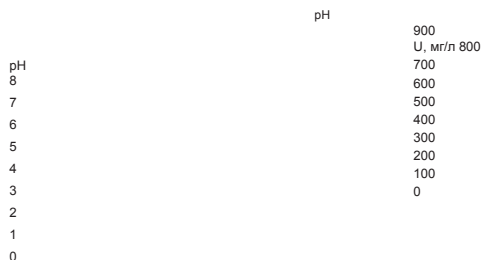
12345 Рис. 16. Сравнительный анализ показателей выщелачивания

урана в

лабораторных испытаниях. 1 – контроль, слабокислотное выщелачивание; 2 – выщелачивание с предварительным закислением серной кислотой и последующим бактериальным орошением; 3 – выщелачивание с предварительным закислением серной кислотой и последующим орошением разбавленным бактериальным раствором; 4 – выщелачивание с использованием бактериального орошения; 5 – выщелачивание разбавленным бактериальным раствором.

После двухнедельного выстаивания проведена эрлифтная откачка и опробование разбавленного пластового и бактериального растворов в течение часа. Дебет откачки в начале опробования составил 0,5-0,7 м³/час, затем 1м³/час.

Полученные данные свидетельствуют о том, что удалось создать в пласте требуемый кислотный режим и при наличии 0,4м³ культуральной жидкости *Acidithiobacillus ferrooxidans*, он полностью попал в пласт и позволил из отработанной откачной скважины извлечь остаточные количества урана, концентрация которого достигала в определенные промежутки времени откачки до 773 мг/л (рис. 17).



5 25 30 50 60 Время, мин

Рисунок 17. Изменение показателей натурального опыта по бактериальному выщелачиванию урана, выполненного «пушпульным» способом.

Полученные результаты первых опытных испытаний позволили нам перейти к опытно-промышленным испытаниям, которые проводились на отработанной на 80% залежи. Были проведены опытные работы в варианте «пушпул», совмещенные с непрерывным режимом. Отобраны участки наиболее благоприятные для проведения работ по бактериальному

наблюдаются на 3-10 сутки откачки (до 88 мг/л), что коррелирует по времени не только с откачкой 20 м³ бактериальных растворов, но и свидетельствует о повышении отдачи пласта в присутствии биоокислителя (рис. 19).

Одним из доказательств участия бактерий в повышении продуктивности растворов является рост концентрации сульфат-иона с 8,6 г/л в исходном растворе кислотного выщелачивания до 10,8 г/л в продуктивных растворах, содержащих биоокислитель. Не вызывает сомнения, что повышенные концентрации сульфат-иона образуются в процессах бактериального окисления пирита, обнаруженного в рудовмещающей зоне пластового окисления верхнесеноманских отложений.

Анализ полученных результатов исследований и опытных работ по скважине 214-02 показывает, что бактериальные растворы являются интенсификаторами процесса извлечения урана из пласта. Так, при работе скважины в режиме «пушпуп» извлечено за 17 суток 31,9 кг урана при дебите 1,5 м³/час. В кислотном варианте при исходной концентрации

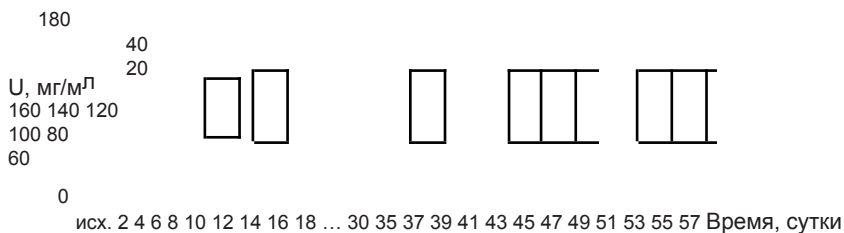


Рис. 19. Продуктивность растворов из скважины 214-02.

урана 13 мг/л и дебите 2,5 м³/час было бы извлечено 13,2 кг, а при дебите 1,5 м³/час всего 7,95 кг урана (рис. 20). Следовательно, бактерии увеличивают вынос металла в 2,4 раза, а при равных дебитах в - 4 раза.

Вынос U, кг
40 30 20 10 0

пушпуп динамика

Bio k

Рис.20. Сравнительный анализ выноса урана из скважины 214-02 в варианте «пушпуп» с бактериальными растворами (дебит 1,5 м³/час), в динамическом режиме с бактериальными растворами (дебит 2,5 м³/час) и при кислотном выщелачивании.

59

В динамическом режиме выщелачивания при внесении бактериальной культуры в закачные растворы отмечен пик выноса урана (158 мг/л) с последующей стабилизацией продуктивности растворов на уровне 40-50 мг/л, что в 3,8 раза превышает аналогичные показатели сернокислотного выщелачивания. Следует отметить, что микробиологический анализ на всех этапах опыта выявил наличие *A. ferrooxidans* в экологически значимых

объемах.

Таким образом, проведенные исследования показали возможность применения бактериальных растворов для доизвлечения урана из отработанных блоков ПВ. Очевидны и экономические преимущества, т.к. исключаются затраты на бурение и оснастку самих скважин и закисление рудного поля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований по докторской диссертации на тему «Микробные технологии фильтрационного выщелачивания бедных сульфидных руд месторождений западного Узбекистана» представлены следующие выводы:

1. Изучены микробные экосистемы золоторудного месторождения Кокпатас и уранового месторождения Кетменчи. Микробиологический анализ золоторудного месторождения Кокпатас выявил большое количество разнообразных физиологических групп микроорганизмов, среди которых доминировали органотрофы, с преобладанием представителей рода *Bacillus*. Автотрофные ассоциации тионовых бактерий наиболее представительны в богатой пиритом руде. Установлено, что микробные экосистемы уранового месторождения также представлены большим разнообразием микроорганизмов, выявлялись геохимически активные микроорганизмы железо- и серуокисляющие. Отмечено присутствие миксотрофных микроорганизмов и органотрофов.

2. Показано, что в процессе кучного бактериального выщелачивания естественная микрофлора рудного материала претерпевает значительные изменения. В период закисления происходит смена лидирующих микроорганизмов от гетеротрофных форм к ацидофильным тионовым микроорганизмам. Несмотря на то, что биокуча инокулирована смесью культур *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* и других родственных им бактерий, установлено, что доминантные формы *A. ferrooxidans* значительно варьировали как в пространственном отношении, так и на разных стадиях функционирования кучи. *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, в основном, проявлялись на последнем этапе выщелачивания.

3. Анализ развития микроорганизмов в откачных растворах подземного выщелачивания как безреагентного, так и кислотного, установил наличие микробного разнообразия. При подаче кислорода воздуха в закачные скважины отмечается интенсификация выноса урана, которая сопровождается значительным увеличением роста микроорганизмов,

60

относящихся к группе тионовых нейтрофилов и бактерий рода *Pseudomonas*. В откачных растворах кислотного выщелачивания чаще выявляются тионовые ацидофильные железо- и серуокисляющие микроорганизмы, относящиеся к роду *Acidithiobacillus*.

4. Методом последовательной адаптации получена культура

A.ferrooxidans K-1, способная к активному росту при 30 г/л Fe^{3+} в растворе и выше. Определены концентрации смеси растворов золота (2,5 мг/л) и серебра (100 мг/л), ингибирующие рост и окислительную активность микроорганизмов. Показано, что 100 мг/л урана в среде оказывают негативное влияние на рост *A. ferrooxidans* K-1. Определен плазмидный состав исследуемых культур. У штамма *A. ferrooxidans* K-1, адаптированного к ионам урана показано наличие низкомолекулярной плазмиды Rf 0,24 мм 5,8 т.п.н., появление которой свидетельствует о воздействии ионов урана. Отмечены различия в ИК-спектрах исходного и адаптированного к ионам урана (100 мг/л) штаммов *A. ferrooxidans* K-1.

5. Изучение биодеструкции минералов руды месторождения Кокпатас в модельных опытах установило возможность образования ярозита на поверхности минералов в процессе бактериальной обработки, что снижало биодеструкцию сульфидов. Снижение pH бактериальных растворов в период орошения руды до 1,5-1,7 позволило затормозить образование ярозита. В лабораторных исследованиях в режиме фильтрации показано, что под действием микроорганизмов максимальное разрушение наблюдается у арсенопирита и в меньшей степени разрушается пирит.

6. Определены оптимальные параметры проведения бактериального окисления сульфидной руды месторождения Кокпатас: использование ассоциации K-1, плотность орошения 8%, исходный pH 1.7-1.8. Установлено, что применение водорастворимого полимера в орошающих бактериальных растворах позволяет увеличить концентрацию клеток доминантных форм на рудной массе и, соответственно, повысить извлечение золота на 8-10%.

7. Проведены крупномасштабные испытания бактериального окисления сульфидных золотосодержащих руд в условиях фильтрационного выщелачивания (общий объем руды 1200 т). Извлечение золота за 90 суток биоокисления составило от 36,67 до 53,76%, при цианировании исходной пробы - 26,5%.

8. В лабораторных условиях показана пригодность и преимущества метода бактериального выщелачивания для извлечения урана из бедных урановых руд. Исследования в модельных колонках установили, что извлечение урана из руды достигает 96-98%. Полученные результаты лабораторных испытаний показывают конкурентноспособность биовыщелачивания по отношению слабокислотного выщелачивания.

9. Применение бактериальных растворов при подземном выщелачивании урана в режиме «пушпул» позволило создать в пласте требуемый кислотный режим и извлечь остаточные количества урана из

отработанной откачной скважины, концентрация которого достигала в определенные промежутки времени откачки 773 мг/л.

10. Показана эффективность применения бактериальных растворов для доизвлечения урана из отработанных блоков ПВ. Установлено, что бактерии

увеличивают вынос металла в 2,4 раза, а при равных дебитах в - 4 раза, в динамическом режиме выщелачивания при внесении бактериальной культуры в закачные растворы вынос урана в 3,8 раз превышает аналогичные показатели сернокислотного выщелачивания.

11. Анализ выполненных исследований показывает возможность применения методов биогeотехнологии или микробных технологий в Узбекистане как в кучном выщелачивание золота из сульфидных руд, так и в подземном выщелачивании для доизвлечения урана из отработанных площадок ПВ.

ZAYNITDINOVA LYUDMILA IBRAHIMOVNA

**MICROBIAL TECHNOLOGIES OF FILTRATIONAL LEACHING OF
BASE SILPHIDE ORES OF DEPOSITS OF THE WESTERN
UZBEKISTAN**

**03.00.04 – Microbiology and virology
(Biological sciences)**

ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION

TASHKENT – 2016

63

The theme of the doctoral dissertation is registered at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with number 14.07.2016/B2016.3.B35

The doctoral dissertation is carried out at the Institute of Microbiology

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English) languages on the website of the Scientific Council www.ik-bio.nuu.uz and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

Scientific consultant: Aripov Takhir Fatikhovich

doctor of sciences in biology, academician

Official opponents: Mavloniy Mashkhura Igamovna

doctor of sciences in biology, academician

Davranov Kahramon Davranovich

doctor of sciences in biology, professor

Ahunov Ali Ahunovich

doctor of sciences in biology, professor

Leading organization: Institute of the Gene Pool of Plants and Animals



INTRODUCTION (annotation of the doctoral dissertation)

Topicality and demand of the theme of dissertation. Bacterial leaching is a recognized method of processing of sulphide ore for production of nonferrous metals and uranium all over the world. The method allows to involve into

processing ores that economically are inadvisable to process by other methods. The importance of the method as alternative to existing hydrometallurgical approaches grows daily.

With acquisition of independence by the republic the great results are achieved and measures are undertaken on development of mining industry, including improvement of biotechnology of extraction of nonferrous metals from sulphide ores. It is necessary to note that microbiological methods for processing of sulphide ores are developed, geochemically active iron-oxidizing acidophilic association of microorganisms, application of which will allow to increase degree of nonferrous metals extraction from such type of ores, is obtained.

On a global scale, industrial application of the bacterial leaching was started from heap and underground extraction of metals from base off-balance copper and uranium ores and wastes in the USA, Canada, Bulgaria, SAR and other countries¹. Study of action of microorganisms upon substrate, directed application of population, biogeochemical reactions taking place in the system microorganism-ore are of special interest due to specificity of the local ores. Obtained results will allow fully and maximally conduct filtrational bioleaching of persistent gold sulphide ores and wasted sites of underground leaching (UL) of uranium. In these regards, implementation of research activity on microbiological processing of ores is an actual goal and possesses both scientific-practical and ecological value.

This dissertation research to some extent serves to carry out the tasks provided in the Decrees of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan № 216 from August 5 2014 “On order of conducting state ecological control”, № 295 from October 27 2014 “On order of conducting state record and control in the field of wastes treatment”, and in other legal documents adopted in this area as well as

Relevance of the research to priority directions of development of science and technologies of the Republic of Uzbekistan. This research was carried out according to priority directions of science and technology development of the republic V. «Agriculture, biotechnology, ecology and environmental protection».

Review of international research on the topic of dissertation². The scientific research activities directed on application of acidophilic autotrophic microorganisms in the processes of metal extraction from sulphide ores are conducted in the leading centers and higher educational institutions of the world including Department of Biological Sciences, University of Southern California

(USA), Department of Physics, Northern Arizona University (USA),¹ Schippers A, Hedrich S, et al. Biomining: metal recovery from ores with microorganisms. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2014;141:1-47. doi: 10.1007/10_2013_216.

² Review of foreign scientific researches by the theme of dissertation was made on the base: <http://www.ibp.ru/labs/hab.php>; <http://www.tsnigri.ru>; Uranium – Past and Future Challenges, B.J. Merkel and A.Arab, Eds./2015, International Journal of Research in Environmental Science and Technology 5(1)/2015 and other issues.

65

Geomicrobiology, Federal Institute for Geosciences and Natural resources (Germany), School of Biological Sciences, University of Wales (UK), Department of Microbiology, University of Stellenbosch (SAR), Institute of Microbiology RAS (Russia), Moscow Institute of Steel and Alloys (Russia), Central Scientific Research Geological Surveyance Institute of Nonferrous and Noble Metals

(Russia), Institute of Biophysics SD RAS (Russia), Institute of Microbiology (Uzbekistan).

As result of research activities conducted all over the world on biodestruction of sulphide minerals a number of scientific results was obtained, including: genetic determination of different groups microorganisms is conducted (Department of Biological Sciences, University of Southern California); some aspects of the mechanism of bacterial oxidation of minerals are established and data on genetic analysis of acidophilic microorganisms are systematized (School of Biological Sciences, University of Wales); methods of industrial application of microorganisms for metal extraction from sulphide ores are developed (Department of Microbiology, University of Stellenbosch); phenotypic and genotypic peculiarities of thermophilic microorganisms are established (Institute of Microbiology, RAS, Russia).

In the world, the research activities are carried-out on a number of priority directions of microbial leaching of metals, including: determination of vast diversity of ore microorganisms in the nature; establishment of the role of microorganisms in the processes of oxidation of sulphide minerals and leaching of nonferrous, noble and rare metals; development of methods of industrial application of the new species of moderate thermophilic acidophilic microorganisms for increase of metal extraction.

The extent of study of the problem. A rapid development of geological microbiology is observed lately. Numerous studies are devoted to study microorganisms participating in oxidation of sulphides to ions of metals and sulphate (Johnson D.B., Gericke M., Hallberg K.B., Schippers A., Zavarzin G.A., Karavako G.I. et al), to study of phenotypic and genotypic peculiarities of newly isolated microorganisms such as *Ferroplasma cupricumulans* sp. nov. (Hawkes R.B., Franzman P.D. et al), *Ferroplasma acidiphilum* gen. nov., sp. nov. (Pivovarova T.A., Kondrat'eva T.F. et al), *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov. (Bogdanova T.I., Tsaplina I.A. et al), *Sulfobacillus disulfidooxidans* sp. nov. (Dufrense S., Bousquet J. et al), *Sulfobacillus thermoferrooxidans* sp. nov. (Golovacheva R.S. et al), *Sulfobacillus sibiricus* sp. nov. (Melamud B.S., Pivovarova T.A. et al) and to practical application of these microorganisms (Rawlings D.E. et al; Norris P.R. et al).

The mechanism of leaching was studied in details (Schippers A., Sand W. Gehrke T., Tributsch H. et al).

Despite of revelation of diversity of ore microorganisms in the nature the pattern of their distribution in the different deposits is not studied in details. In these regards, study of the role of geochemically active microorganisms in the processes of filtrational leaching and regularities of functioning of the microbial

communities at changing environmental factors do not lose its topicality and is one of the important directions in the modern microbiology and biogeotechnology. Numerous data is available in scientific literature devoted to the problem of heap leaching of persistent sulphide ores with use of microorganisms. Majority of them

related to development technology parameters, whereas microbiological aspects receive less attention.

During last years, a number of researchers conducted studied influence of thionic bacteria on uranium leaching from ores. However, a number of questions related to optimal conditions for this process remains unanswered.

It is necessary to note that works on study of possibility of application of *A.ferrooxidans* bacteria for additional extraction of uranium and gold by heap method in the Republic of Uzbekistan were not conducted till now.

Connection of the theme of thesis with the scientific-research works of higher educational institution, where the thesis is conducted. The dissertational research is carried out within the framework of the fundamental projects of the Institute of Microbiology: 5F – “Biogeochemical regularities of development of microorganisms in extreme ecosystems and processes of disintegration of sulphide raw material” (2000–2002); F-4.1.18. – “Ecological diversity of microorganisms’ development in conditions of leaching of sulphide ores” (2003–2006), and within contractual works: contract 2/20 with the Navoyi Mining and Smelting Enterprise (NMSE) “Underground leaching of uranium with use of microorganisms. Implementation of experimental-industrial trials” (2000-2001); contract 5/01 with NMSE “Conducting study on development of technology of gold extraction from Kokpatas ores with preliminary oxidation of sulphides” (2001-2003); contract 8/03 with NMSE “Implementation of laboratory study on biooxidation of sulphide ores of Marjanbulak deposit” (2003–2005); contract 11/06 with NMSE “Implementation of trails on additional extraction of uranium from waste blocks of underground leaching (UL) of the deposit K with use of bacterial solutions” (2006- 2007); contracts 22/09 and 3/11 with NMSE “Implementation of trails on additional extraction of uranium from waste blocks of underground leaching (UL) with use of bacterial solutions” (2009-2011).

The aim of the research is determination of microorganisms’ development in conditions of heap leaching of gold-containing raw material and underground leaching of uranium, and application of *Acidithiobacillus ferrooxidans* bacteria for the process intensification as well.

The objectives of the research:

- to study microbial ecosystems of gold and uranium deposits;
- to study successions of mn the process of heap leaching and to determine microbial cultures dominating at biooxidation of sulphide ores; to study microbial biota of pumping-out solutions of uranium underground leaching;
- to determine influence of metals’ ions on oxidative activity of microorganisms. To determine changes taking place in the cells of mciroorganisms under action of high concentrations of metals’ ions in the medium;

67

- to study and analyse microbiological disintegration of sulphides in the process of their biooxidation;

- to conduct laboratory study of filtrational leaching of gold-containing ores and reveal ossibilty of application of water-soluble polymers in the process of leaching;

to conduct semi-industrial trials of bacterial oxidation of sulphide gold containing ores in conditions of filtrational leaching;

to study in laboratory conditions possibility of application of bacterial solutions in the process of underground leaching;

to testify application of bacterial solutions in the “push-pull” mode on waste wells in natural conditions;

to conduct experimental-industrial trials on uranium underground leaching with application of microorganisms on wasted blocks of UL.

The objects of the research were gold-containing sulphide ore of Kokpatas deposit and uranium-containing ores of Beshkak and Ketmenchi deposits. **The subject of the research** was acidophilic iron-oxidizing associations of bacteria and microbial cenoses in the process of leaching.

The methods of the research. In the course of research classic microbiological, molecular-genetic, chemical and biotechnological methods were used.

Scientific novelty of research consists in the following:

indigenous bacterial strains resistant to high concentration of uranium were received and based on IR-spectra of cells changes in compounds composition of cells under action of uranium ions was determined;

for the first time, the microbial diversity of the process of heap leaching of ore from Kokpatas deposit was established, thermophilic Archea participating in biooxidation processes were determined and process of microbiological disintegration of sulphides on polished section of this ores was determined;

for the first time, water-soluble polymers were used in bacterial irrigating solutions, which allowed to increase adhesivity of microorganisms to ore and respectively increase gold extraction;

availability of gold-sulphide ores of Kokpatas deposit for processing by heap method and uranium ores of Kyzylkum uranium geological province for bacterial leaching was established;

for the first time possibility of treatment of waste wells with bacterial solutions at single time pump-down was revealed.

Practical results of the research are as follows:

Microbial succession in the process of leaching of sulphide ore was revealed. It was established that microbiocenoses of ore material go through considerable changes in the process of bacterial leaching;

it was determined that addition of polymers increases level of bacterial adhesion to ore and, therefore, increases level of minerals' disintegration, which increases success of commercial application of this approach;

experimental-industrial trials of biooxidation of sulphide ores of Kokpatas deposit were conducted, which revealed possibility of application of bacteria for increased leaching of gold from ores of this deposit;

experimental-industrial trials of uranium UL from ores of Beshkak deposit and

large-scale trials of uranium UL on waste blocks of Ketmenchi deposit were conducted, which revealed that application of bacteria allowed to extract additional concentrations of metal and to decrease consumption of acid.

The reliability of the results is proved by that each experiment of research is conducted not less than in 3 replications that allowed finding average most reliable and stable result. The statistical analysis of experimental data is carried out with STATISTICA 6.0 computer program and standard methods of calculation of errors, average, confidence intervals and standard deviations. While choosing the suitable method of mathematical analysis, applicable to results of concrete experiment, we were guided by recommendations presented in appropriate literature. For definition of results statistical significance, calculated Student's t criterion.

Scientific and practical significance of research results. The scientific significance of the research results consists of following data. Some features of isolated indigenous active strain *A.ferrooxidans* K-1 were studied, presence of plasmids was revealed, which stipulates high potential of changeability and obvious lability of genome of this bacteria in conditions of changing medium. Study of microbial successions in process of filtrational leaching will allow to select the most favorable conditions for their use in processes of heap leaching of gold and uranium extraction by method of underground well leaching.

Practical significance of the work is in obtained fundamental results which will allow in the future use them for solution of existing problems of application of microorganisms for processes of gold extraction from base sulphide ores by heap method and additional extraction of uranium from waste well of UL. Introduction of these technologies in our Republic will allow to include into processing nonconditional ores and industrial wastes, and also to decrease ecological burden on environment and to decrease pollution of territory and underground water.

Implementation of the research results. Application of adapted association *A.ferrooxidans* K-1 allowed to decrease expenditures of the sulphuric acid and increase per cent of extraction. Conducted semi-industrial trials of biooxidation of sulphide ores of Kokpatas deposit on base of GMZ-3 (Uchkuduk) revealed possibility of increase of gold extraction by 53.76% compared to initial 25.7%. Large scale trials of uranium UL with application of isolated association on waste pumping-out well of the industrial block of Ketmenchi deposit were conducted as well, which allowed to extract remaining quantities of uranium. Trials allowed to identify optimal parameters for microorganisms cultivation in natural conditions. Experimental-industrial trials on waste sites of Ketmenchi deposit in “push-pull” mode combined with uninterrupted mode revealed that bacteria increase metal extraction. Availability of bacterial leaching for additional extraction of uranium

from ores of this site was revealed (certificate № 02-03-04/11672 from the State enterprise “Navoyi Mining and Smelting Plant” from October 28, 2016).

Approbation of the research results. The main provisions of dissertation were presented at 20 scientific-practical conferences, including 12 international

symposiums, congresses, conferences, in particular: International conference “Biology – science of XXI century», 6th conference of young scientists in Puschino (2002); Xth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (Paris, 2002); International Congresses “Biotechnology – state of the art and prospects of development” (Moscow, 2002, 2007, 2009); International forum “Biotechnology and contemporaneity” (St-Peterburg, 2003); International workshop on biotechnology commercialization and security (Tashkent, 2003); III and V meetings of Uzbekistan’s microbiologists (Tashkent, 2005, 2012); 16th International Biohydrometallurgy Symposium (Cape Town, South Africa, 2005); XII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (Istanbul, 2008); Republican conference “Problems of modern microbiology and biotechnology” (Tashkent, 2009); “Biotech 2011 & 5th Czech-Swiss Symposium with Exhibition” (Prague, 2011); International symposium “Microorganisms and biosphere – Microbios-2015» (Tashkent, 2015).

Publication of the research results. On the theme of the dissertation a total of 86 scientific papers were published. 28 of them are the articles which were published in the journals recommended by the Supreme Attestation Commission of the Republic of Uzbekistan for publishing the main scientific results of doctoral dissertations, including 23 in republican and 5 in international journals.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of introduction, five chapters, conclusions, list of references and appendix. The size of the dissertation is 204 pages.

THE MAIN CONTENT OF THE DISSERTATION

In the introduction the topicality and demand of the conducted research is proved, the aim and objectives are formulated, the object and subject of the research are characterized, the conformity of the research to priority directions of development of science and technologies of the Republic of Uzbekistan is shown, the scientific novelty and practical results of the research are stated, the scientific and practical significance of the received results, implementation of the research results, data on published papers and dissertation structure are presented.

In the first chapter of dissertation entitled “**Bacterial filtrational leaching of metals and microorganisms participating in these processes**” the extended analysis of the current state of researches on bacterial filtrational leaching of metals from sulphide ores. Description and characteristics of microorganisms participating in these processes are given.

In the second chapter of dissertation entitled “**Methods of study of ecosystems of filtrational leaching and properties of geochemically active microorganisms**” the methods of study of microbial ecosystems of filtrational

leaching, influence of uranium on microorganisms, isolation of plasmid DNA, determination of IR-spectra of microorganisms, spectral analysis of ore samples are described. Characteristics of gold-sulphide ore of Kokpatas deposit and base

uranium ore of Kyzylkum province are given.

The third chapter of dissertation entitled **“Microbial ecosystems of filtrational leaching”** represents results of study of microbial ecosystems of ore deposits and processes of filtrational leaching, and results of study of some features of selected association of geochemically activemicroorganisms.

Microbial ecosystems of filtrational leaching of Kokpatas deposit Ore deposits are favorable ecological niche for activity of many specific microorganisms. Presence of large number of chemical elements in ore, possessing different properties, stipulates development of many microorganisms and variety of biogeochemical processes that take place here. Considering this factor, the survey of gold-ore deposit Kokpatas was conducted.

Analyzing microorganisms' distribution selected samples of different ecological niches it maybe noted that organotrophic bacteria dominate, among which representatives of *Bacillus* genus prevail. Oligonitrophilic bacteria, capable to grow on scarce concentrations of organic matter, were maximally present in all studied samples (table 1).

Table 1

Number of microorganisms in ores and water of Kokpatas deposit (cells per g or ml)

№	Microorganisms associations	Samples				
		Drai nage	Sire with pyrite arsenop yrit ^e	Sulphid e vein	Rock	Mine water passing through sulphiide site
1.	Autotrophic thiosulphate oxidizing neutrophiles	2.5×10^2	2.5×10^3	-	-	2.5×10^2
	Autotrophic denitrifying	2.5×10	-	-	-	2.5×10^2
2.	Mixotrophic thiosulphate oxidizing neutrophiles	2.5×10^3	2.5×10^3	-	6.0×10^4	-
3.	Acidophilic sulphur oxidizing	-	10^{-2}	10^{-2}	-	2.5×10^2
4.	Acidophilic iron oxidizing	-	2.5×10	2.5×10	-	-
5.	Sulphate-reducing	10^{-5}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	-

6.	Ammonifying	$3.4 \times 10_4$	$8.0 \times 10_2$	$3.6 \times 10_2$	$1.1 \times 10_3$	2.5×10^3
7.	Denitrifying	$1.1 \times 10_5$	$1.1 \times 10_3$	$2.5 \times 10_5$	$2.5 \times 10_5$	2.5×10^2
8.	Oligonitrophilic	$1.9 \times 10_3$	$8.7 \times 10_4$	$5.6 \times 10_3$	$2.1 \times 10_2$	-
9.	Filamentous fungi	2.5×10	2.5×10	2.0×10	5.0×10	3.5×10^1

Autotrophic associations of thionic bacteria were most present in ore enriched with pyrite. Presence of thiosulphate-oxidizing and mixotrophic microorganisms was observed. Autotrophic denitrifying was present only in mine water and general

71

drainage. Microorganisms forming active consortium were observed on sites of microzonal oxidation of pyrite and arsenopyrite and were identified as *A. ferrooxidans* and *S. thermosulfidooxidans*.

Depending on ore type, heap or underground filtrational leaching is applied for ore processing with use of microorganisms. Both technologies maybe considered as filtrational, since the percolation of solution through ore takes place. Baed on this understanding, study of microbial ecosystems in the process of filtrational leaching and their linkage to oxidation of sulphide minerals and metals represents certain interest.

Minerals' biooxidation takes place in aerated irrigated heaps, which are characterized by reatively heterogenous medium changing withtime and due to this being colonized by huge number of different microorganisms.

Aiming determination of succession of microorganisms in spatial relation we analysed in column conditions composition of microorganisms in the process of bacterial solutions going through depth of ore. As result of conducted study, it was established that natural microbiota of ore material goes through considerable changes in the process of bacterial leaching (tables 2 and 3).

Preliminary microbiological analysis of ore before acidulation revealed presence of different groups of microorganisms in it, among which prevailing were heterotrophic bacteria, thionic thiosulphate oxidizing microorganisms. Thionic neutrophils and thionic mixotrophic microorganisms were isolated from both initial sample and as far as gradual acidulation. Among heterotrophic microorganism's representatives of genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* were prevailing, bacteria identified as *Micrococcus* species were present at low number. Presence of filamentous fungi related to genera *Penicillium*, *Aspergillius*, *Mucor*, *Cladosporium* was observed as well.

As acidulation of solutions went down to pH 4 number of heterotrophic microorganisms decreased and generic composition changed – mainly representatives of genera *Bacillus* and *Pseudomonas* and filamentus fungi

Penicillium and *Aspergillus* remained. Further acidulation sharply changed pattern of microbial community, where leading positions were taken by acidophilic thionic microorganisms, while heterotrophic microorganisms and filamentous fungi were observed in small amounts.

As heterotrophic withered away accompanied by increase of physiologically active compounds, the change on surface of ground ore took place, which provided opportunity for late succession species to root. In our case acidulation of ore led to succession of microorganisms with subsequent domination of acidophilic thionic microorganisms.

Thus, cells titer of *A. ferrooxidans* adsorbed on ore changed from 2.5×10^1 to 10^5 cells/ml/g, *A. thiooxidans* – from 2.5×10^1 to 10^2 cells/ml/g. Inconsiderable changes of development dynamics were observed at heterotrophic microorganisms of *Bacillus* species isolated in conditions of subacid leaching, as well as some filamenous fingi representating *Aspergillius* and *Penicilliumi* genera.

Table 2

Table 3

Czapek

1.69x10⁵

1.5x10⁵

1.7x10¹

3.6x10¹ Fungi

H e t e r o t r o p h i c	Cza pek	1	1	F	-	F	2	-	-	1	-	-	-	-	8.
		.	.	u	.	u	.	.	.	.	.	.	.	.	8x
		5	6	n	.	n	5	.	.	7	.	.	.	.	10 ¹
		x	9	g	.	g	x	.	.	2	.	.	.	.	F
		1 0 ⁵	x 1 0 ⁵	i	.	i	1 0 ¹	.	.	x	.	.	.	.	un gi
	Par e	8	5	-	-	-	2	-	-	6	-	-	2	3	6.
		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9x
		0	7	.	.	.	5	.	.	1	.	.	8	7	10 ²
		8	x	.	.	.	x	.	.	x	.	.	x	x	.
		x 1 0 ⁴ e	1 0 ⁴	.	.	.	1 0 ¹	.	.	1 0 ⁴	.	.	1 0 ¹	1 0 ²	.
	FP A	1	6	-	-	-	2	-	-	7	-	5	-	-	6.
		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4x
		5	7	.	.	.	5	.	.	3	.	1	.	.	10 ³
		2	2	.	.	.	x	.	.	x	.	x	.	.	.
		x 1 0	x 1 0	.	.	.	1 0 ¹	.	.	1 0 ³	.	1 0 ²	.	.	.

		6	5													
D e n i t r i f y i n g	Het erot rop hic	6 - 0 x 1 0 3	6 - 0 x 1 0 2	2 - 5 x 1 0 1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	N o t o b s e r v e d	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	N o t o b s e r v e d	
	Aut otro phic s	6 - 0 x 1 0 4	2 - 5 x 1 0 1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	2 - 5 x 1 0 1	- - - - -	- - - - -	2 - 5 x 1 0 1	2 - 5 x 1 0 1	2. 5x 10 1	
Mixotrop hi ^c		2 - 5 x 1 0 7	F u n g i 1 0 3	2 - 5 x 1 0 3	2 - 5 x 1 0 3	6 - 0 x 1 0 2	2 - 5 x 1 0 2	- - - - -	- - - - -	2 - 5 x 1 0 1	- - - - -	2 - 5 x 1 0 1	2 - 5 x 1 0 2	2 - 5 x 1 0 1	N o t o b s e r v e d	
A u t o t r i f y i n g	Thi osul pha te oxid izin g	6 - 0 x 1 0 3	N o t o b s e r v e d	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	6 - 0 x 1 0 3	2 - 5 x 1 0 3	2 - 5 x 1 0 3	2 - 5 x 1 0 3	2 - 5 x 1 0 3	2 - 5 x 1 0 2	N o t o b s e r v e d	
	Sul phu r oxid izin g	N o t o b s e r v	N o t o b s e r v	- - - - -	- - - - -	- - - - -	2 - 5 x 1 0 2	2 - 5 x 1 0 1	2 - 5 x 1 0 2	n / o	- - - - -	6 - 0 x 1 0 1	- - - - -	- - - - -	N o t o b s e r v e d	

Successions of microorganisms in the process of acidulation and bacterial leaching (BL) (solid sample, upper segment)

Successions of microorganisms in the process of acidulation and BL (solid sample, lower segment)

* microorganisms, identified as *Ferropasma* species, were isolated

H e t e r o t r o p h i c	Par ^e	8 . 0 8 x 1 0 6	5. 7 x 1 0 ⁴	- - - - -	- - - - -	1 . 3 5 x 1 0 5	- - - - -	1 . 4 x 1 0 3
	FPA	1 . 5 2 x 1 0 6	6. 7 2 x 1 0 ¹	- - - - -	- - - - -	1 . 1 5 x 1 0 2	- - - - -	3 . 1 x 1 0 1
D e n i	Heterotrophic	6 . 0 x	N o t o b	N o t o o	N o t o o	N o t o o	2 . 5 x	2 . 5 x

гггг ^М									
гггг ^М									
t r i f y i n g		1 0 2	se rv e d	b s e r v e d	b s e r v e d	b s e r v e d	1 0 1	1 0 1	1 0 1
	Autotrophs	6 . 0 x 1 0 4	2. 5 x 1 0 1	2 . 5 x 1 0 1	6 . 5 x 1 0 1	2 . 5 x 1 0 1	2 . 5 x 1 0 1	- . 5 x 1 0 1	2 . 5 x 1 0 1
	Mixotrophic	2 . 5 x 1 0 7	F u n g i 0 ⁵	- - - - -	- - - - -	F u n g i 0 ⁵	- - - - -	- - - - -	F u n g i 0 ⁴
A u t o t r o p h e s	Thiosulphate oxidizing	N o t o b s e r v e d	2. 5 x 1 0 2	2 . 5 x 1 0 2	2 . 5 x 1 0 1	2 . 5 x 1 0 1	2 . 5 x 1 0 1	2 . 5 x 1 0 1	2. 5 x 1 0 1
	Sulphur oxidizing	N o t o b s e r v e d	N o t o b s e r v e d	2 . 5 x 1 0 1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -

uranium deposits we studied core samples from wells and local water of Ketmenchi deposit (table 4).

Table 4

Microbiological study of core samples and local water

Sample #	Microorganisms' quantity, cells per g/ml
Core 5	Baalsrude 9K Manning Leten London Postgate Giltay FPA
Core 6	2.5×10^2 - - 7×10^3 2.5×10^3 2.5×10 - 2.5×10^2 - -
Core 7	2.5×10^2 2.5×10^3 - 2.5×10^2 3.7×10^4 - 2.5×10^3 -
Core 8	2.5×10^3 2.5×10^2 - - 4.6×10^5
Local water 9	- 2.5×10^3 2.5×10^3 7×10^2 2.5×10^2 - - 2×10^2 - 2.5×10^2 - 7×10^3 - 2.5×10^3
	7.9×10^5 7.8×10^5

According to character of geochemical activity, microbiota of deposits may be distinguished as specific and non-specific. Both thionic acidophiles and thionic neutrophils may be considered as representatives of specific microbiota.

Considering microbial ecosystems of this site, it is necessary to note that geochemically active microorganisms, both iron- and sulphur-oxidizing, were isolated only in single probes and in inconsiderable quantities. From specific microorganisms, presence of mixotrophic microorganisms capable to oxidize thiosulphate at presence of organic additives should be noted. In inconsiderable quantities were isolated bacteria identified as *Thiobacillus denitrificans*. Presence

74

of organotrophes was observed at higher quantities, filamentous fungi were isolated as well.

Study of microbiota of filtrational leaching of uranium-containing ores It is known that UL is conducted with addition of complex forming reagents (acidic or alkali) and oxidizing components (oxygen or hydrogen peroxide). Study of microbiota of all types of leaching represents considerable interest in regards of appearing possibility of microorganisms' application in uranium UL. Conducted study revealed that at air supply to pumping-out solutions the predominance of thionic bacteria was observed, number of microorganisms related to oligonitrophilic increased, and *Pseudomonas* species were isolated as well. at the same time, stimulation of development of mixotrophic thionic bacteria and heterotrophic microorganisms took place, as well as of micromycetes, among which prevailing were *Aspergillus* and *Penicillium* species. Presence of microorganisms related to *T.denitrificans* in these solutions was characteristic. Analysis of development of microbial biota in pumping-out solutions without air supply revealed that number of microorganisms was notably lower and their quantity was not ecologically considerable.

Study on pumping-out solutions of reagent-free leaching revealed that at air oxygen supply into pumping-down wells the intensification of uranium yield takes place, which is accompanied by considerable increase of growth of microorganisms related to group of thionic neutrophils and bacteria from *Pseudomonas* genus (figure 3).

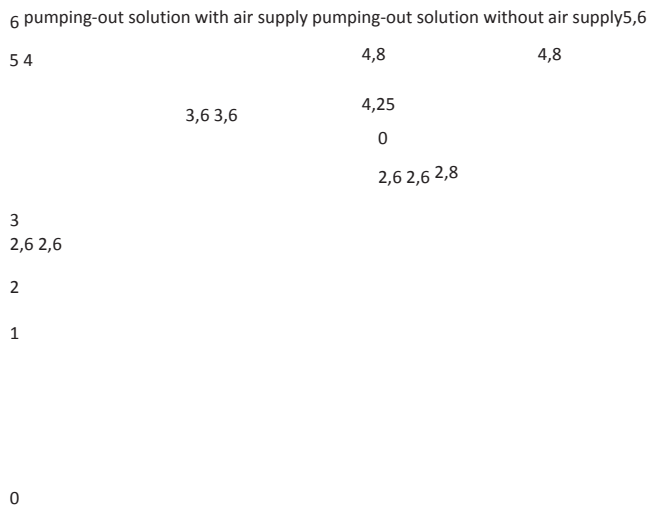
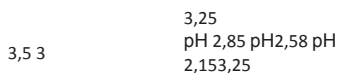


Figure 3. Microorganisms of pumping-out solutions of reagent-free leaching

It is known, that many microorganisms produce short-chained organic acids and element-specific ligands, which may change pH and promote to synthesis of chelates, which may lead to increased leaching of many elements present in trace quantities in ores. Uranium release, obviously, is stipulated by production of pyoverdine chelates, which are typical ligands produced by pseudomonades. Intensification of activity of these groups of microorganisms may promote to increased concentration of uranium in solution.

75

In pumping-out solutions of acid UL dominance of *A. ferrooxidans* and *A. thiooxidans* and their quantitative increase with raising acidity of solutions was observed in all studied samples (figure 4).



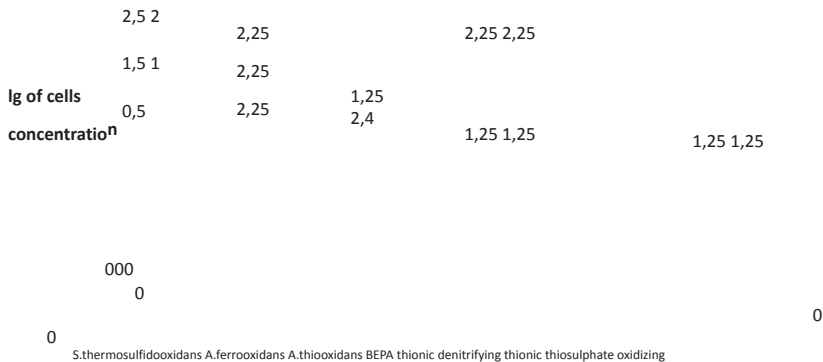


Figure 4. Microorganisms of pumping-out solutions of acid leaching

It is necessary to note that filamentous fungi identified as *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species were observed in tail solutions as well. Thus, analysis of development of microorganisms in pumping-out solutions of both reagent-free and acid UL revealed presence of different microorganisms.

Influence of metals' ions on growth and development of bacteria A.ferrooxidans
Metals, which in the process of leaching transfer to solutions, may cause both positive and negative influence on vital activity of bacteria participating in the process of bacterial leaching of metals from ore. In these regards, influence of metals' ions on growth and development of bacteria *A. ferrooxidans* was studied. Microorganisms *A. ferrooxidans* are the most resistant to high content of iron in solution. But, in the process of leaching content of iron ions may considerably exceed concentrations acceptable for normal activity of these cultures. Applying method of gradual adaptation we obtained cultures capable to active growth at 30 g/l Fe^{3+} and above in solution (figure 5).

Influence of ions of gold and silver on growth and development of industrial strain *A. ferrooxidans* K-1 was studied as well. It was established that mixture of solutions of gold and silver at concentration 100 mg/l silver and 2.5 mg/l gold totally inhibit growth and development of microorganisms and their oxidizing activity as well.

76



Figure 5. Iron oxidation by different strains of *A. ferrooxidans* (1 – K-1; 2 – KSB; 3 – 3-9M; 4 – V-12) after preservation on higher concentrations of iron

Influence of uranium ions on growth of strain *A. ferrooxidans* K-1 on medium 9K with addition of uranium ions at concentration 60 mg/l revealed that this concentration does not inhibit development of bacteria, even stimulates their growth to some extent. Further increase of uranium concentration in medium up to 100 mg/l exerts negative action on growth of *A. ferrooxidans* K-1. On the third day of cultivation number of cells in test variant decreases to 6.0×10^4 cell per ml and only on sixth day the number of cells reaches values corresponding to number of cells in control variant. Similar changes are observed on results of oxidizing activity of bacteria (figure 6).

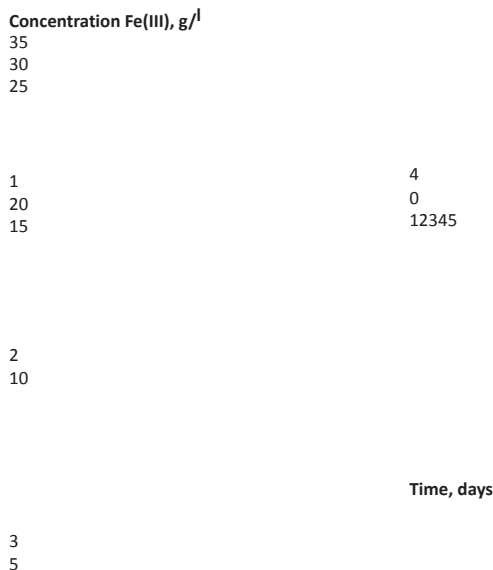


Figure 6. Geochemical activity of strain *A. ferrooxidans* K-1 on medium with uranium (100 mg/l): 1 – concentration of oxidized iron in control; 2 – concentration of oxidized iron in medium with uranium; 3 – number of microbial cells in control; 4 – number of microbial cells in medium with uranium; I – presence of reliable differences in iron content between control and experiment.

It is known that resistance of microorganisms to ions of heavy metals is determined by presence of plasmids. Considering role of plasmids' transmission it may be concluded that resistance to metals' ions at different bacteria is widespread adaptive feature. However, *A. ferrooxidans* is complex object for genetic study.

77

Rawlings D.E. et al at study of genetic system of *A. ferrooxidans* discovered strain diversity by presence or absence of plasmids, their number and size, presence of absence of genetic elements, which play role in adaptation to changing conditions of environment.

Study conducted on isolation of plasmid DNA from strain *A. ferrooxidans* K-1

adapted to 100 mg/l of uranium revealed presence of megaplasmid Rf 0.07 mm at both natural and adapted to uranium ions strain *A. ferrooxidans*. For the latter, presence of low molecular plasmid Rf 0.24 mm (5800 bp) was determined, which appearance testifies influence of uranium ions.

To analyze changes taking place in cells of *A. ferrooxidans* K-1 under influence of uranium ions in solution we used methods of oscillatory spectroscopy, which are used at study of complex biological systems and at comparative study of cells. Analysis of spectral curves reveals that cells of bacteria grown on medium with uranium ions exert strengthening of intensity in the band of antisymmetric valent oscillations CH in CH₃-groups and symmetric valent oscillations CH in CH₃- and CH in CH₂-group (2850 cm⁻¹) (figure 7).

Intensity decrease for bacterial cells on medium with uranium is observed in region 1130-1070 cm⁻¹, which, probably, testifies lowering of polyphosphates level.

Thus, selected the most active culture of bacteria *A. ferrooxidans* K-1 possesses high velocity of iron oxidation and resistance to increased concentrations of ions of different metals in solution. Even at this unfavorable conditions the oxidizing activity of this culture does not decrease, which is favorable factor for application of *A. ferrooxidans* K-1 in industrial conditions.

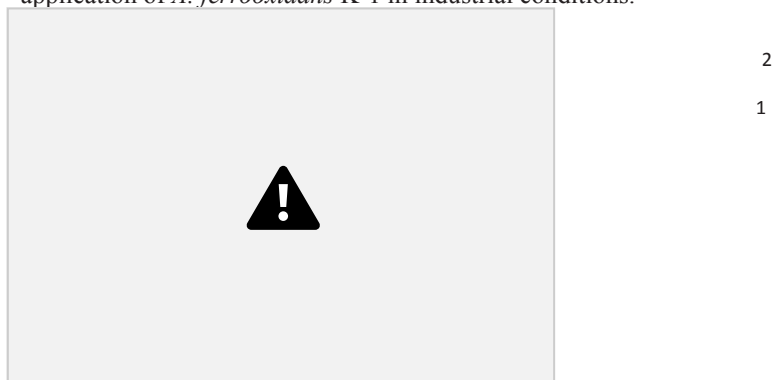


Figure 7. IR-spectra of cells *A. ferrooxidans* on medium 9K (1) and on medium with uranium (100 mg/l) (2)

In the fourth chapter of dissertation entitled “**Filtrational leaching of gold containing ores**” results of study on filtrational leaching of gold-containing ores are presented.

Study of influence of polymers on leaching process

Leaching of ground ore mass usually creates problem of solution filtration through stack, which results in decreased degree of gold extraction. Content of loamy fraction and large quantity of small fraction leads to bad penetrability of the ore stack. Due to peculiarities of ore material, preliminary ore agglomeration is used in the processes of heap leaching.

Brierley et al used a synthetic polymer for agglomeration of cells and ground ore, which allowed to develop method of agglomeration of microorganisms and ore with carbonates content below 2.5%. It is necessary to preliminarily acidify and only then to introduce microorganisms with irrigating solution for the ore with higher content of carbonates.

We studied polymers kindly provided by the Institute of Chemistry and Physics of Polimers of the AS RUZ. Conducted search for polymers soluble in the cultural broth of bacteria, their impact on vital and geochemical activity of microorganisms, and possibility to increase degree of bacteria adhesion to the surface of ore (biocapsulation) allowed to select polymer on basis of polyvinyl.

Microbiological analysis of test samples of ore with addition of polymer revealed that in contrast to control variant (bacterial solution only) the agglomeration with ore occurs more intensively in variant bacteria+polymer (figure 8).

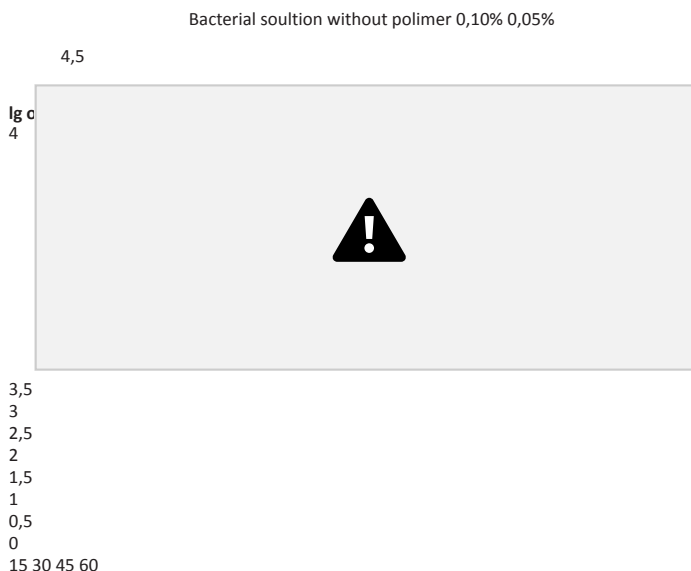


Figure 8. Influence of polymer P-10 on agglomeration of microbial cells with ore

Application of polymers in laboratory conditions resulted in 8-10% surplus of gold extraction. Obvious advantages of biocapsulation in initial period of irrigation are linked with increased adsorption of microorganisms on surface of sulphide minerals stipulated by formation of chemical links in the system microorganism polymer-ore between superficial structures of polymer and bacteria with elements of crystal lattice of minerals.

Laboratory experiments of heap filtrational leaching were conducted on samples of ore from gold-containing deposit Kokpatas. Ore was ground till class –20 mm. Rational analysis of this ore sample testifies that gold contained in pyrite

and arsenopyrite comprises 33%. Dominance of such sulphide minerals as pyrite (2.95%) and arsenopyrite (1.87%) is characteristic for the ore from this deposit and in particular these minerals are main gold concentrators.

In laboratory conditions it was established that oxidizing activity reached maximum values (25 g/l) on 100 day (figure 9). It is necessary to note that usually after reaching 18-20 g/l Fe (III) we conducted partial replacement of the solution to decrease inhibiting action of the final product on growth and geochemical activity of bacteria.

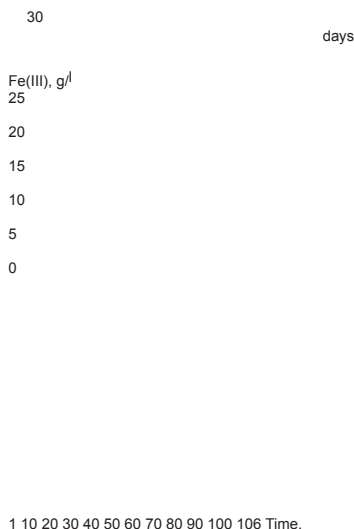


Figure 9. Dynamics of iron oxidation process in the filtration mode by association K-1

Quantity of microorganisms stuck on ore during all period of tests was between 2.5×10^6 and 6.0×10^7 cells per 1 g of ore. *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* prevailed among isolated bacteria adsorbed on ore, increased number of cells of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* was observed after 50 days of ore irrigation. Gold extraction for 120 days of irrigation with bacterial association K-1 reached 67.71% (whereas direct cyanidation of initial sample resulted in 25.9%).

The first stage of interaction of *A. ferrooxidans* and other bacteria with sulphide minerals is their adsorption on surface after which the process of biochemical action on oxidizing substrate starts. In these regards, we studied process of microbiological disintegration of sulphides and character of these destruction in static mode. Scanning of surface of polished section after bacterial treatment (figures 10–12) revealed presence of jarosite film covering larger part of surface of polished section. Pyrite was observed only in small “windows” where its destruction is clearly established.

Analyses of chemical composition of separate phases and sites of compound conducted on microoentgenspectral analyzer JED-2200 revealed decrease of

sulphide sulphur, arsenium and other elements.

Minerals' destruction under action of bacterial solutions in laboratory conditions was weak due to forming jarosite. In these regards, we proposed to decrease pH of bacterial solutions at the period of ore irrigation to 1.7-1.5, which allowed to slow down jarosite formation.