



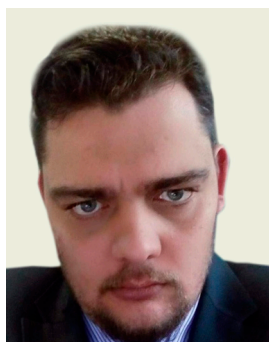
ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ НА ОКИСЛЯЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ АВТОХТОННОЙ СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЫ ЖЕЛЕЗОБАКТЕРИЙ ПРИ БИОВЫЩЕЛАЧИВАНИИ НИКЕЛЯ (NI), КОБАЛЬТА (CO) И МЕДИ (CU)

В представленной статье анализируется влияние длительного хранения на способность бактерий участвующих в бактериально-химическом выщелачивании окислять рудную пульпу после длительного хранения. Автохтонная смешанная железоокисляющая бактериальная культура была выделена из окисленной руды месторождения Шануч и долгое время хранилась при температуре 6°C без пересева. Видовой состав автохтонной смешанной культуры железоокисляющих бактерий, согласно ПЦР-диагностике, был следующим: *Acidithiobacillus thiooxidans*, *A. ferrooxidans* и *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. Железоокисляющие бактерии наиболее используемые бактерии для биорастворения минералов в гидрометаллургии. Проведенный эксперимент показал низкую окисляющую способность выбранной культуры в процессе бактериально-химического выщелачивания, переход двухвалентной формы железа в трехвалентную во время биовыщелачивания руды не произошел, а численность клеток в растворе к концу эксперимента была низкой и составляла 1.7×10^6 кл/мл. Показатель pH увеличился с 2.21 до 2.45, а Eh уменьшился с 289.4 до 249.1. Концентрации Ni, Co и Cu в растворе возросли не значительно. В конце эксперимента их содержание в растворе составляло: Ni – 1.9 г/л, Co – 0.06 г/л и Cu – 0.42 г/л, что демонстрируют сниженную эффективность бактериально-химического окисления руды с использованием долгосрочно хранившихся бактерий.

Ключевые слова: ацидофилы, хемолитотрофы, бактерии, биовыщелачивание, кобальт-медно-никелевые руды, пульпа, бактериально-химические процессы, длительное хранение.



Очеретяна С.О.
канд. биол. наук
НИГТЦ ДВО РАН
старший научный
сотрудник
blossom-so@yandex.ru



Иодис В.А.
канд. техн. наук
НИГТЦ ДВО РАН
ведущий научный
сотрудник
iodisva@mail.ru



Аверьянова В.Э.
НИГТЦ ДВО РАН
младший научный
сотрудник
purlac@inbox.ru



Вопилин Р.С.
НИГТЦ ДВО РАН
младший научный
сотрудник,
roman5016612@gmail.com

Ацидофильные хемолитотрофные бактерии способны окислять сульфиды, такие как халькопирит и пирит, а также различные соединения серы, железа и других металлов, что приводит к созданию кислой среды и высвобождению металлов в раствор [1, 2, 3], [4, 5, 6 и др.].

Среди ацидофильных бактерий, используемых в бактериально-химическом выщелачивании, можно выделить следующие виды: *Acidithiobacillus thiooxidans*, *A. ferrooxidans*, *A. caldus*, *Leptospirillum ferriphilum*, *L. ferrooxidans*, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *S. acidocaldarius*, *S. shibatae*, *S. metallicus*, *Acidianus infernus*, *A. brierleyi*, *Sulfolobus acidocaldarius*, *Metallosphaera sedula*, *Thiobacillus aquaesulis*, *T. denitrificans*, *T. thioparus*, *T. thiophilus* и др. [7, 8, 9], [10, 11, 12], [13, 14 и др.].

Эти бактерии обладают уникальными метаболическими способностями, позволяющими им выживать и функционировать в экстремально кислых условиях. Они окисляют сульфиды и другие соединения, что приводит к образованию серной кислоты и высвобождению металлов, таких как медь, никель, кобальт, цинк и золото, в раствор. Этот процесс является ключевым в биовыщелачивании, так как позволяет эффективно извлекать металлы из руд с низким содержанием ценных компонентов [1, 2, 8, 15 и др.].

Основополагающим этапом при бактериально-химическом выщелачивании является выделение бактерий-эндемиков из залежей или отвалов горного производства, расположенных рядом с рудопоявлениями и их хранение. Так как, длительное хранение бактериальных культур может привести к изменениям в их морфо-физиологических признаках и генетической стабильности, что может повлиять на их биологическую продуктивность.

В настоящее время существуют разработанные методы для долгосрочного хранения бактериальных суспензий, которые обеспечивают сохранение их автономности, генетической и фенотипической устойчивости. Выбор метода консервации основан на сохранении морфологических признаков, биохимической активности и генетической стабильности, а также на обеспечении максимально возможного срока хранения культуры.

В современных исследованиях и практике широко применяются методы лиофилизации, низкотемпературного замораживания, криоконсервации и длительного хранения при низких температурах [16, 17].

В настоящее время наиболее популярным методом хранения является криоконсервация. Однако этот процесс требует значительного времени, и в процессе размораживания клеточные стенки бактерий могут быть повреждены, что приводит к лизису и гибели клеток [18, 19, 20]. Для предотвращения или минимизации повреждений клеток при охлаждении, замораживании и последующем размораживании используются криопротекторы. Однако они могут оказывать токсическое воздействие на клетки, которое зависит от продолжительности хранения [18, 21].

Цель работы – выполнить исследование, определяющее способность автохтонной смешанной культуры железобактерий, после длительного хранения при низкой температуре, окислять рудную пульпу.

Материалы и методы

Руда. Минеральным субстратом для эксперимента была руда отобранная из отвалов месторождения Шануч. В ранее проведенных экспериментах научно-исследовательской лабо-

ратории НИГТЦ ДВО РАН использовалась руда с этого месторождения. Известно, что для руды с месторождения Шануч характерны следующие доминирующие минералы: пирротин, пентландит, халькоперит и виоларит [22, 23].

Химический анализ использованной в эксперименте руды показал, что содержание Ni 3.83%, Cu 0.55 % и Co 0.089 %. Анализ проведен в химико-аналитической лаборатории НИГТЦ ДВО РАН.

Перед началом эксперимента руду измельчили, размер мелкодисперсных частиц не превышал 100 мкм. После измельчения термообработка в сушильном шкафу 1 час при 120°C.

Микроорганизмы. Для исследования выбрана автохтонная смешанная культура ацидофильных хемолитотрофных бактерий из коллекции Научно-исследовательского геотехнологического центра ДВО РАН (НИГТЦ ДВО РАН), выделенная научными сотрудниками из окисленной руды штольни кобальт-медно-никелевого месторождения Шануч (Камчатский край, Россия). Выделение накопительной культуры проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл в стационарных условиях при $T=22\pm 2^\circ\text{C}$ используя образец руды из штольни и питательную Сильвермана и Люндгрена 9К. Руду вносили в питательную среду в соотношении 1:8 (15 г руды + 120 мл питательной среды). Размер кусочков образца (руды) не превышал 2 см в диаметре. В результате ПЦР-диагностики было определено, что в пробе видами-доминантами являлись *Acidithiobacillus thiooxidans*, *A. ferrooxidans* и *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* [24], согласно паспорту культуры микроорганизмов НИГТЦ ДВО РАН.

Часть выделенной автохтонной смешанной культуры хранили в холодильнике Haier

biomedical (модель NYCD – 2 82) без пересевов и аэрации с 2016 до 2023 гг. при температуре 6°C.

Лабораторная установка [25, 26, 27]. Лабораторная установка для бактериально-химического окисления (см. **рис. 1**) включает реактор UniVessel Glass объемом 2 литра из боросиликатного стекла с герметичной крышкой и мешалкой, конденсатор для выходящих газов, барботажную трубку с кольцевым барботером, контрольно-измерительную аппаратуру и порты с погружными трубками из нержавеющей стали AISI 316L. Для работы установки используются аппарат BIOSTAT B-MO и воздушный компрессор Tetra APS 300.

Порты на установке предназначены для подключения трубок и насосов. Они используются для подачи пульпы, бактериальной суспензии, слива продуктивного раствора и отбора проб с помощью одноканальных перистальтических насосов WM 114 FDC. Максимальный объемный расход насосов составляет до 78 мл/мин. Порты также служат для подачи воздуха для аэрации с помощью мембранного компрессора Tetra APS 300.

Аппарат BIOSTAT B-MO включает блок питания, контрольное устройство, систему измерения и регулирования, модули регулирования температуры с возможностью использования горячей или холодной воды, систему циркуляции холодной воды для охладителя конденсатора и модули одноканальных перистальтических насосов.

Контрольно-измерительная аппаратура включает температурный датчик Pt-100, датчик pH/Eh EasyFerm Plus VP pH/RX 225 и датчик контроля уровня. Они обеспечивают контроль и измерение важных параметров, таких как температура, pH, Eh и уровень, что позволя-

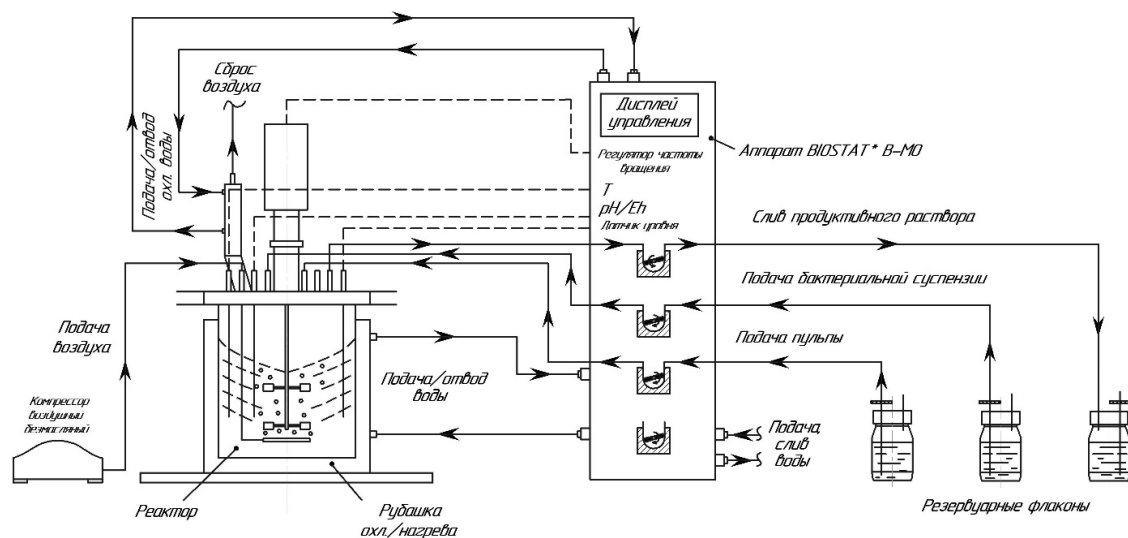


Рис.1. Схема лабораторной установки для бактериально-химического окисления.

ет эффективно контролировать и регулировать процессы бактериально-химического окисления в лабораторной установке.

Условия эксперимента. 1 этап – наработка необходимого объема бактериальной суспензии. Нарботку проводили в биореакторах BIOSTAT* В-МО объемом 2 литра в стерильных условиях. Параметры культивирования: перемешивание – 150 об/мин, аэрация – 2 л/мин, T=30°C, соотношение питательной среды к инокуляту – 1:4. Во время экспериментов использовалась питательная среда (г/л): (NH₄)₂SO₄ – 3 г, KCl – 0.1 г, K₂HPO₄×3H₂O – 0.65 г, MgSO₄×7H₂O – 0.5 г, Ca (NO₃)₂ ×4H₂O – 0.0144, FeSO₄×7H₂O – 44.2 г.

2 этап – определение способности автохтонной смешанной культуры после длительного хранения к окислению рудной пульпы и выщелачиванию Ni, Cu и Co.

Эксперимент проведен в лабораторных условиях с использованием стеклянного биореактора марки UniVessel Glass и аппарата BIOSTAT В-МО. В процессе работы биореактора была использована мешалка, вращающаяся со скоростью 300 об/ мин. Для барботажа использовался компрессор с мощностью 4.5 Вт и скоростью 2 л/мин. Температура в биореакторе поддерживалась на уровне 30°C.

Во время эксперимента осуществлялся контроль численность клеток, pH, Eh, концентрации Ni, Cu, Co, Fe²⁺, Fe³⁺ и общего содержания железа (Feобщ.). Определение pH, Eh осуществлялось на pH-метре/иономере Mettler-Tolado Seven Compact S 220 (погрешность pH±0.002, Eh±0.2). Концентрации двух- и трехвалентного железа в жидкой фазе определялись титриметрическим методом.

Численность клеток определяли стандартным методом прямого счета с использованием камеры Горяева и микроскопа Микромед-3. В эксперименте учитывались только планктонные формы бактерий. Пробы и временные препараты изготавливались и отбирались в Ламинарном шкафу.

В биореактор была загружена бактериальная суспензия с автохтонными ацидофильными хемолитотрофными бактериями объемом 1000 мл и 200 г истертой руды < 100 мкм с содержанием металлов в руде: Ni – 38.3 г/кг, Co – 0.89 г/кг и Cu – 5.5 г/кг.

Численность клеток в загруженной бактериальной суспензии составляла 134.5×10⁶. Длительность эксперимента составила 405 ч (17 суток). Первые четыре пробы были отобраны с интервалом в один час, в последующие дни проба отбиралась три раза в сутки.

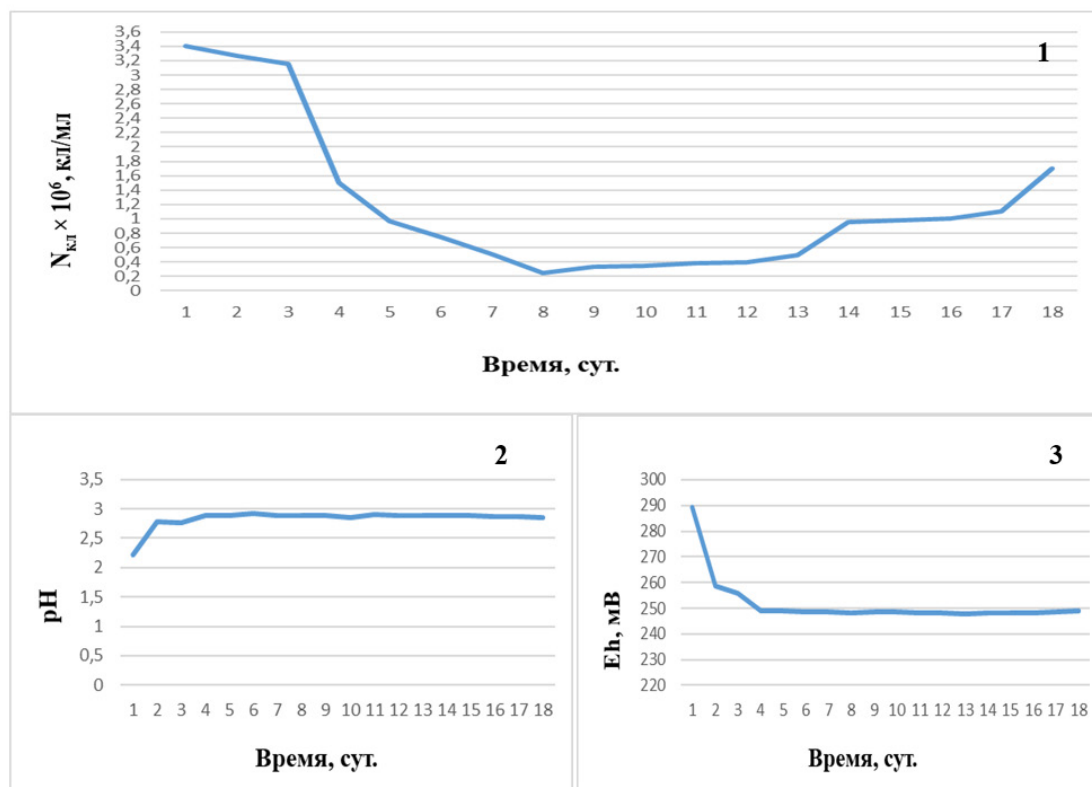


Рис.2. Динамика численности, pH и Eh автохтонной смешанной культуры ацидофильных хемолитотрофных бактерий при окислении рудной пульпы.

Результаты и обсуждения

В первые часы эксперимента наблюдалось снижение численности планктонных форм бактерий в жидкой фазе пульпы, что приводило к увеличению значения pH и снижению значения Eh. Эти результаты согласуются с исследованиями Gehrke Т. и др. [28] и нашими экспериментами [28], где отмечено снижение численности планктонных форм бактерий в жидкой фазе пульпы в начале бактериально-химического выщелачивания.

В первые часы эксперимента было обнаружено значительное снижение численности планктонных форм бактерий в жидкой фазе пульпы с исходного значения (численность клеток в инокуляте) 134.5×10^6 до 3.4×10^6 кл/мл, что составило 97.56% и продолжило снижаться до значения 0.25×10^6 кл/мл (8 сут. эксперимента), далее была отмечена тенденция роста. Параллельно с этим наблюдалось увеличение значения pH с 2.14 до 2.21, что составило 2.37% от исходного значения и снижение Eh с 293.3 до 289.4 мВ, что составило 1.33% от исходного значения. Такая тенденция наблюдалась на протяжении шести суток (144 ч)

достигнув значений pH 2.95 и Eh 245 мВ. На 17 сутки эксперимента были зафиксированы значения pH 2.56, а Eh 255 мВ, а увеличение численности планктонных форм бактериальных клеток не зафиксировано. Число бактериальных клеток автохтонной смешанной культуры к концу эксперимента составило 1.7×10^6 кл/мл (рис. 2).

На рис. 3 представлены данные изменения концентраций Fe^{2+} и Fe^{3+} в процессе эксперимента. Нулевая проба, взятая сразу после загрузки биореакторов, показала практически равные концентрации Fe^{2+} и Fe^{3+} . Концентрация двухвалентного железа (Fe^{2+}) составила 7.5 г/л, а трехвалентного железа (Fe^{3+}) – 7.0 г/л.

В первые сутки эксперимента наблюдалось увеличение концентрации Fe^{2+} , которая достигла своего максимального значения 11.17 г/л на вторые сутки. После этого было отмечено снижение значений концентрации Fe^{2+} . Это снижение продолжалось в течение 14 сут., когда концентрация Fe^{2+} достигла минимального значения 0.8 г/л, после чего начала возрастать и к концу эксперимента составила 2.23 г/л.

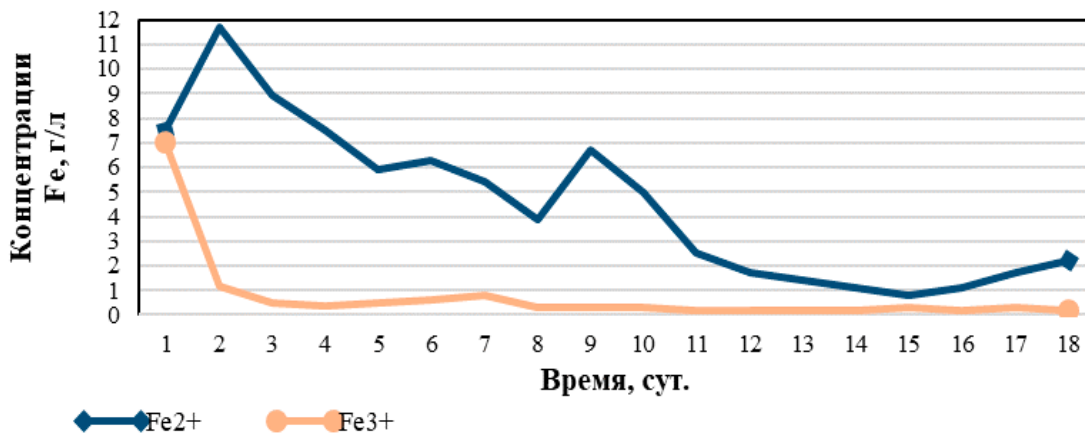


Рис.3. Изменение содержания двухвалентного железа (Fe^{2+}), трехвалентного железа (Fe^{3+}) в жидкой фазе пульпы (раствор) в процессе биовыщелачивания.

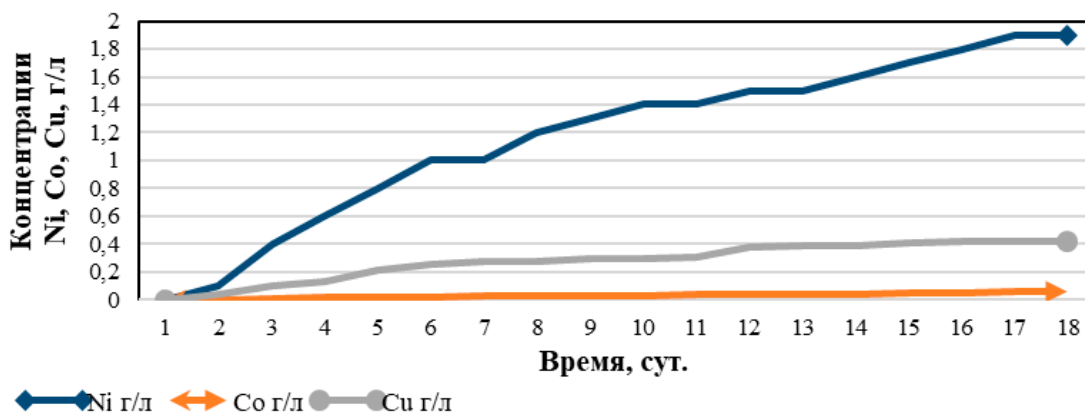


Рис.4. Изменение концентраций металлов в жидкой фазе пульпы в процессе биовыщелачивания металлов: Ni, Co, Cu

В отличие от концентрации Fe²⁺, концентрация Fe³⁺ в жидкой фазе пульпы с момента загрузки начала понижаться. Снижение концентрации трехвалентного железа наблюдалось в течение всего эксперимента и к концу эксперимента значение Fe³⁺=0.17 г/л.

График (см. **рис. 4**) показывает изменение концентраций металлов (Ni, Co, Cu) в растворе (жидкой фазе пульпы) в процессе бактериально-химического выщелачивания.

На графике (см. **рис. 4**) видно, что концентрации металлов в растворе увеличиваются в течение эксперимента. За 17 суток концентрация никеля в растворе увеличилась до 1.9 г/л, кобальта до 0.058 г/л и меди до 0.42 г/л.

Заключение

Динамику изменения соотношения форм трёхвалентного и двухвалентного железа связывают с увеличением железобактерий [30]. Согласно полученным данным численность планктонных форм бактерий в растворе к концу эксперимента была низкой 1.7 × 10⁶ кл/мл. Железобактерии наиболее используемые бактерии для биорастворения сульфидных минералов [31], которые используют не только различные соединения серы, но и ионы двухвалентного железа в виде источника энергии, что приводит к снижению pH и увеличению Eh во время бактериально-химического выщелачивания сульфидов [32, 33].

Во время эксперимента смешанная культура автохтонных железобактерий, хранившаяся долгое время при низкой температуре, показала низкую способность к переходу двухвалентной формы железа в трехвалентную во время биовыщелачивания руды. Так как снижение концентрации трехвалентного железа наблюдалось в течение всего эксперимента. Динамика изменения pH и Eh показателей тоже не дала положительных результатов, так как на протяжении почти всего эксперимента pH повышался, а Eh падал. Положительная динамика стала наблюдаться только к концу эксперимента и не привела к высоким показателям.

В результате анализа концентраций металлов было зафиксировано увеличение содержания никеля, кобальта и меди в растворе. Концентрация никеля увеличилась до 1.9 г/л, кобальта до 0.058 г/л и меди до 0.42 г/л, но делать выводы о прямой взаимосвязи этих процессов с окислительными способностями и активностью кислотолюбивых хемолитотрофных бактерий, подвергшихся длительному хранению, еще рано. Для более глубокого осмысления процессов окисления и выщелачивания металлов, смешанной культурой после длительного хранения, необходимо провести дополнительные исследования, включая анализ изменений концентраций металлов как в жидкой, так и в твердой фазах пульпы. **XXI**

Литература

1. Иванов В. И. Степанов Б. А. Применение микробиологических методов в обогащении и гидрометаллургии. М.: – 1960. – 125 с.
2. Соколова Г. А., Каравайко Г. И. Физиология и геохимическая деятельность тионовых бактерий. М.: Наука. 1964 – 336 с.
3. Bobadilla-Fazzini R., Poblete-Castro I. Biofilm formation is crucial for efficient copper bioleaching from bornite under mesophilic conditions: unveiling the lifestyle and catalytic role of sulfur-oxidizing bacteria // *Extreme Microbiology*. 2021. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.761997/full>
4. Булаев А.Г. Новые направления в развитии биогидрометаллургии // Горный информационно-аналитический бюллетень. 2021. № 3-1. С. 56-87. DOI: 10.25018/0236-1493_2021_31_0_56.
5. Очеретяна С.О. Выщелачивание меди из халькоперита в биогидрометаллургии: обзор // Горный информационно-аналитический бюллетень. 2022. № 12. С. 256–265. DOI: 10.25018/0236_1493_2022_12_10_256.
6. Hosseini S.M., Vakilchah F., Baniasadi M., Mousavi S.M., Darban A.K., Farnaud S. Green recovery of cerium and strontium from gold mine tailings using an adapted acidophilic bacterium in one-step bioleaching approach // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2022. V. 138. P. 1-8. DOI: 10.1016/j.jtice.2022.104482
7. Semerci N., Kunt B., Calli B. Phosphorus recovery from sewage sludge ash with bioleaching and electro dialysis // *International Biodeterioration & Biodegradation*. V. 144. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibid.2019.104739>
8. Кондратьева Т.Ф., Булаев А.Г. Муравьев М.И. Микроорганизмы в биотехнологиях переработки сульфидных руд. М.: Наука. 2015. 212 с.
9. Hedrich S., Schippers A. Distribution of acidophilic microorganisms in natural and man-made acidic environments. // *Curr. Issues Mol. Biol.*, 2021. V.40. P. 25-48. DOI:10.21775/cimb.040.025
10. Васильева Т.В., Блайда И.А., Иваница В.А. Основные группы микроорганизмов, участвующих в биогидрометаллургических процесса // *Проблемы экологічної біотехнології*, 2013. № 1. 233 с.
11. Хомченкова А.С. Тяжелые металлы и выщелачивание микроорганизмов (обзор) // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). Специальный выпуск № 32 «Камчатка-5». – М.: Горная книга. 2017. № 12. С. 228–336.
12. Хайнасова Т.С. Экологические аспекты распространения кислотолюбивых хемолитотрофных микроорганизмов, перспективных для биовыщелачивания // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). Специальный выпуск № 57 «Камчатка-7». – М.: Горная книга. 2018. № 12. С. 198–207.
13. Хайнасова Т.С., Пашкевич Р.И. Таксономический анализ культуры кислотолюбивых хемолитотрофных микроорганизмов, принимающей участие в биовыщелачивании сульфидной руды месторождения Шануч // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2019. №10. С. 28–33.
14. Bousecker K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms // *FEMS Microbiology Reviews*, V. 20. Is. 3-4. 1997. P. 591–604.
15. Каравайко Г.И., Росси Дж., Агате А., Грудев С., Авакян З.А. Биотехнология металлов. М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1989. 375 с.
16. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. – 2009. – № 4. – С. 99–120.
17. Грачева И.В., Осин А.В. Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2016. – № 3. – С. 5–12.
18. Гибсон Л.Ф., Хури Дж.Т. Хранение и выживание бактерий при ультразамораживании // *Letters Applied Microbiol.* – 1986. – Т.3. – С.127–129.

19. Steffenon G.D., Copetti J.B., de Oliveira J.D., Macagnan M.H., Cardoso E.M. A Critical Review on Cryopreservation of Cells Technics: Thermal Aspects. // *Multiphase Flow Dynamics. Lecture Notes in Mechanical Engineering*. – 2022. – pp.175–183. DOI: 10.1007/978-3-030-93456-9_16
20. Garcia-Gonzalez E, Moreno D, Galvez A, et al. Cryopreservation of bacterial cultures: Current advances and perspectives. *J Appl Microbiol.* – 2019. – Т. 126. – Vol.2. – P. 361–372. doi:10.1111/jam.14107
21. Parihar A., Seth A.K., Panda U., Khan Ru., Parihar D.S., Khan Ra. Cryopreservation: A Comprehensive Overview, Challenges, and Future Perspectives//*Advanced Biology*. – 2023. – Т.7 – Vol.6– pp. 1–23. DOI: 10.1002/adbi.202200285
22. Трухин Ю.П., Степанов В.А., Сидоров М.Д., Кунгурова В.Е. Шанучское медно-никелевое месторождение: геологогеофизическая модель, состав и геохимия руд // *Руды и металлы*. – 2009. – № 5. – С. 75–81.
23. Трухин Ю.П., Бальков А.А., Вайнштейн М.Б. Бактериально-химическое выщелачивание кобальт-медно-никелевых руд и технологическая схема переработки продуктивных растворов никеля и кобальта // *Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал)*. ГИАБ. Специальный выпуск № 35 «Камчатка-6». М. Горная книга. – 2017. – С. 5–21.
24. Хайнасова Т.С., Пашкевич Р.И. Таксономический анализ культуры ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов, принимающей участие в биовыщелачивании сульфидной руды месторождения Шануч // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2019. – № 10. – С. 28–33.
25. Иодис В.А. Разработка схемы реактора с УЗИ активацией пульпы для бактериально-химического окисления кобальт-медно-никелевых руд // *Горный информационно-аналитический бюллетень*. – 2022. – № 12. – (специальный выпуск 10). – С. 201–210. DOI: 10.25018/0236-1493_2022_12_10_201
26. Иодис В.А. Разработка схемы реактора с СВЧ активацией бактериальной суспензии для бактериально-химического окисления кобальт-медно-никелевых руд // *Горный информационно-аналитический бюллетень*. – 2022. – № 12. – (специальный выпуск 10). – С. 190–200. DOI: 10.25018/0236-1493_2022_12_10_190
27. Иодис В.А. Разработка схемы реактора с УЗИ активацией пульпы для бактериально-химического окисления кобальт-медно-никелевых руд // *Горный информационно-аналитический бюллетень*. – 2022. – № 12. – (специальный выпуск 10). – С. 201–210. DOI: 10.25018/0236-1493_2022_12_10_201
28. Gehrke T., Hallmann R., Kinzler K., Sand W. The EPS of *Acidithiobacillus ferrooxidans* – a model for structure–function relationships of attached bacteria and their physiology. *Water Science and Technology*. – 2001. – № 43. – pp. 159–167.
29. Очеретяна С.О., Пурлац В.Э., Вопилин Р.С. Образование биопленки при бактериально-химических процессах окисления кобальт-медно-никелевых руд // *Естественные и технические науки*. – 2023. – № 8 (183). – С. 72–77. DOI: 10.25633/ETN.2023.08.06
30. Хайнасова Т.С. Бактериально-химическое выщелачивание сульфидной кобальт-медно-никелевой руды в лабораторных условиях с использованием посевной культуры микроорганизмов // *Вестник ДВО РАН*. – 2014. – №4. – С. 101–107.
31. Devasia P., Natarajan K.A. Bacterial leaching. *Biotechnology in the mining industry // Resonance*. – 2004. – P. 27–34.
32. Haghshenas D.F., Bonakdarpour B., Alamdari E.K., Nasernejad B. Optimization of physicochemical parameters for bioleaching of sphalerite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* using shaking bioreactors // *Hydrometallurgy*. – 2012. – V. 111/112. – P. 22–28.
33. Johnson D.B. Biodiversity and interactions of acidophiles: key to understanding and optimizing microbial processing of ores and concentrates // *Transactions of Nonferrous Metals Soc. China*. – 2008. – V. 18. – P. 1367–1373.

UDC: 66.061.34 + 579.66

S.O. Ocheretyana, PhD in Biology, Senior Researcher SRGTC FEB RAS, blossom-so@yandex.ru

V.A. Iodis, PhD in Engineering, Senior Researcher SRGTC FEB RAS, iodisva@mail.ru

V.E. Averyanova, Junior Researcher SRGTC FEB RAS, Purlac@inbox.ru

R.S. Vopilin, Junior Researcher SRGTC FEB RAS, roman5016612@gmail.com

EFFECT OF LONG-TERM STORAGE ON THE OXIDIZING CAPACITY OF AN AUTOCHTHONOUS MIXED CULTURE OF IRON BACTERIA IN BIOLEACHING OF NICKEL (NI), COBALT (CO) AND COPPER (CU)

Abstract: The article analyzes the effect of long-term storage on the ability of bacteria involved in bacterial-chemical leaching to oxidize ore pulp after long-term storage. Autochthonous mixed iron-oxidizing bacterial culture was isolated from oxidized ore of the Shanuch deposit and stored for a long time at a temperature of 6°C without reseeded. The species composition of the autochthonous mixed culture of iron-oxidizing bacteria, according to PCR diagnostics, was as follows: *Acidithiobacillus thiooxidans*, *A. ferrooxidans* and *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. Iron-oxidizing bacteria are the most used bacteria for biodissolution of minerals in hydrometallurgy. The conducted experiment showed low oxidizing capacity of the selected culture in the process of bacterial-chemical leaching, the transition of divalent iron to trivalent during ore bioleaching did not occur, and the number of cells in the solution by the end of the experiment was low and amounted to 1.7×10^6 cells/ml. The pH increased from 2.21 to 2.45, and Eh decreased from 289.4 to 249.1.

The concentrations of Ni, Co and Cu in the solution increased insignificantly. At the end of the experiment, their content in the solution was: Ni – 1.9 g/l, Co – 0.06 g/l and Cu – 0.42 g/l, which demonstrates the reduced efficiency of bacterial-chemical oxidation of ore using long-term stored bacteria.

Keywords: acidophiles, chemolithotrophs, bacteria, bioleaching, cobalt-copper-nickel ores, pulp, bacterial-chemical processes, long-term storage.