



ПРОГРАММА ОРГАНИЗАЦИИ ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ
ПО ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ (ЮНЕП)
КОМИССИЯ СССР ПО ДЕЛАМ ЮНЕП

БИОГЕОТЕХНОЛОГИЯ МЕТАЛЛОВ

ПРАКТИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

Г.И. КАРАВАЙКО (СССР), ДЖ. РОССИ (ИТАЛИЯ),
А. АГАТЕ (ИНДИЯ), С. ГРУДЕВ (БОЛГАРИЯ)
З.А. АВАКЯН (СССР)

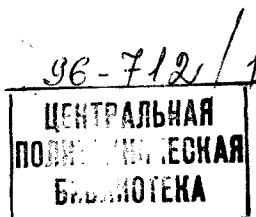
ЦЕНТР МЕЖДУНАРОДНЫХ ПРОЕКТОВ ГКНТ
МОСКВА, 1989

3

W 139 $\frac{9}{93}$

Настоящее Руководство подготовлено Центром международных проектов Государственного комитета СССР по науке и технике в соответствии с программой международного проекта СССР/ЮНЕП „Биогеотехнология металлов как экологически приемлемый метод рационального использования минеральных ресурсов”

Рецензенты: член-корр. АН СССР Е.Н. Кондратьева,
кандидат технических наук В.А. Сидоров



Руководство

Рассматриваются теоретические и прикладные аспекты биогеотехнологии металлов: микроорганизмы, активные в выщелачивании металлов из руд; методы их выделения и культивирования; основы кучного, подземного и чанового выщелачивания металлов из руд; новые направления в биогидрометаллургии.

Руководство рассчитано на широкий круг специалистов в области микробиологии, биогеохимии, гидрометаллургии, геотехнологии.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	8
Введение	9
Глава 1. Микроорганизмы и их роль в биогеотехнологии металлов.	
Г.И. Каравайко	11
1.1. Микроорганизмы и сферы их применения в гидрометаллургии	11
1.2. Роль бактерий в окислении Fe^{2+} , S^0 и сульфидных минералов	12
1.3. Механизм бактериального окисления Fe^{2+} , S^0 и сульфидных минералов	15
1.4. Характеристика бактерий, окисляющих Fe^{2+} , S^0 и сульфидные минералы	19
1.5. Микроорганизмы, восстанавливающие сульфаты и другие соединения серы.	
Т.Н. Назина	29
1.5.1. Сульфатвосстанавливающие бактерии, окисляющие органические вещества до ацетата	30
1.5.2. Сульфатвосстанавливающие бактерии, окисляющие органические вещества до углекислоты	37
1.6. Микроорганизмы, восстанавливающие и окисляющие другие чем сера и железо, элементы	38
1.6.1. Бактерии, окисляющие As^{3+}	38
1.6.2. Бактерии, восстанавливающие C^{6+}	39
1.6.3. Микроорганизмы, восстанавливающие и окисляющие марганец.	
А.Д. Агаге, В.А. Юрченко	41
1.7. Микроорганизмы, растворяющие, аккумулирующие и осаждающие золото	44
1.8. Микроорганизмы, участвующие в деструкции силикатов	45
1.8.1. Механизм деструкции силикатных минералов	45
1.8.2. Характеристика микроорганизмов, деструктирующих силикаты	45
1.9. Микроорганизмы, аккумулирующие металлы из растворов.	
З.А. Авакян	48
Глава 2. Методы выделения, учета и изучения микроорганизмов.	
Г.И. Каравайко	51
2.1. Выделение микроорганизмов	51
2.1.1. Ацидофильные бактерии рода <i>Thiobacillus</i>	51
2.1.2. Род <i>Sulfobacillus</i>	56
2.1.3. Род <i>Sulfolobus</i>	56
2.1.4. Род <i>Acidianus</i>	57
2.1.5. Род <i>Leptospirillum</i>	57
2.1.6. Род <i>Acidiphilium</i>	58
2.1.7. Другие гетеротрофные спутники <i>T. ferrooxidans</i>	58
2.1.8. Синтрофные ассоциации железо- и сероокисляющих бактерий	58
2.1.9. Сульфатвосстанавливающие бактерии. Т.Н. Назина	59
2.1.10. Бактерии, выщелачивающие марганец	62

2.1.11. Бактерии, окисляющие мышьяк (As^{3+})	63
2.1.12. Бактерии, восстанавливающие Cr^{6+}	63
2.1.13. <i>Bacillus mucilaginosus</i> . З.А. Авакян	64
2.2. Рецептуры питательных сред	64
2.3. Методы количественного учета	71
2.3.1. Метод серийных разведений	71
2.3.2. Подсчет колоний	72
2.3.3. Подсчет в микроскопе	74
2.3.4. Экспресс-метод определения биомассы <i>T. ferrooxidans</i>	75
2.3.5. Определение биомассы <i>T. ferrooxidans</i> по белку. Т.А. Пивоварова	77
2.3.6. Электронно-микроскопические методы исследования. Т.А. Пивоварова	79
2.4. Методы определения активности бактерий	81
2.4.1. Определение интенсивности фиксации $^{14}CO_2$	81
2.4.2. Другие методы определения активности бактерий	82
2.4.3. Определение температурного коэффициента	83
2.5. Методы получения высокоактивных штаммов бактерий. С.Н. Грудев	84
2.5.1. Общие положения	84
2.5.2. Селекция и индуцированный мутагенез <i>T. ferrooxidans</i>	84
2.5.3. Методы генной инженерии	86
Глава 3. Методы оценки бактериального выщелачивания металлов	94
3.1. Методы выщелачивания. Дж. Росси	94
3.1.1. Определение пригодности руд для выщелачивания	94
3.1.2. Испытания в колбах на качалках	95
3.1.3. Испытания в эрлифтных перколяторах	98
3.1.4. Испытания в колоннах	100
3.1.5. Испытания методом кучного выщелачивания	102
3.1.6. Чановое выщелачивание	103
3.1.7. Испытания в укрупненных установках	104
3.1.8. Выделение металлов из растворов	105
3.1.9. Определение крупности, измельчение руды, концентратов и продуктов выщелачивания	105
3.1.10. Аналитические методы определения химического состава руд, концентратов и продуктов выщелачивания	108
3.2. Методы изучения состава руд и минералов. Л.Г. Нестерович	108
3.2.1. Характеристика сульфидных продуктов	109
3.2.2. Электрохимические свойства минералов и методы их изучения	111
3.2.3. Полупроводниковые свойства сульфидов. Зонная модель строения кристаллов	114
3.2.4. Способы изучения процесса бактериального окисления сульфидных минералов	118
3.2.5. Окисление смесей сульфидных минералов	120
3.2.6. Методы исследований межфазовых переходов на поверхности сульфидных минералов Н.Г. Корешков	121
3.3. Получение биомассы <i>T. ferrooxidans</i> . Б.Г. Ковров, Г.В. Денисов, С.Н. Седельников	124
3.3.1. Метод получения биомассы с использованием электрического тока	125
3.3.2. Управление процессом непрерывного культивирования <i>T. ferrooxidans</i>	126
3.3.3. Управление минеральным питанием <i>T. ferrooxidans</i>	127
3.3.4. Состав питательной среды для непрерывного культивиро- вания	136

3.3.5. Влияние уголекислоты и молекулярного кислорода	137
3.3.6. Другие способы получения биомассы и регенерации Fe^{3+}	139
3.4. Методы статистической обработки результатов. Т.А. Петрова	140
3.4.1. Вычисление среднего и его доверительного интервала	140
3.5. Исследование и оптимизация биотехнологических процессов методом математического моделирования	151
3.6. Методы оценки экономики процессов бактериально-химического выщелачивания. Э.В. Адамов	166
Глава 4. Чановое бактериальное выщелачивание сульфидных концентратов	176
4.1. Общие положения	176
4.2. Подготовка проб. Н.Г. Корешков	178
4.2.1. Требования к отбору проб	178
4.2.2. Подготовка средней пробы	179
4.2.3. Характеристика основных параметров пульпы	183
4.3. Подготовка культуры бактерий. Т.О. Скакун, Н.Г. Корешков	184
4.4. Технологии чанового бактериального выщелачивания в различных режимах культивирования бактерий. Н.Г. Корешков, Т.О. Скакун	188
4.4.1. Бактериальное выщелачивание в периодическом режиме	188
4.4.2. Бактериальное выщелачивание сульфидных концентратов в отливно-доливном режиме	190
4.4.3. Бактериальное выщелачивание металлов в непрерывном режиме	193
4.5. Технологические схемы переработки сульфидных концентратов. Н.Г. Корешков, Т.О. Скакун	196
4.6. Полупромышленные испытания технологии чанового бактериального выщелачивания. Э.В. Адамов, Р.Я. Аслануков	202
4.6.1. Отделение растворов от твердых остатков	206
4.6.2. Выделение металлов из растворов	210
4.6.3. Аппараты для чанового бактериального выщелачивания	210
4.6.4. Контроль процесса бактериального выщелачивания	212
4.6.5. Экономика процесса чанового бактериального выщелачивания	213
4.7. Подготовка продуктов бактериального выщелачивания к проведению химического анализа. Расчет баланса металлов. Н.Г. Корешков	217
Глава 5. Подземное и кучное выщелачивание. Выщелачивание в отвалах. Дж. Росси	228
5.1. Общие положения	228
5.2. Эффективность бактериального выщелачивания	229
5.3. Бактериальное выщелачивание дробленой рудной породы	231
5.3.1. Создание оптимальных условий для роста микроорганизмов	231
5.3.1.1. Температура	231
5.3.1.2. Микроорганизмы	235
5.3.1.3. Питательные вещества и токсичные элементы	238
5.3.1.4. Аэрация	239
5.3.2. Контакт растворов и микроорганизмов с поверхностью минералов	240
5.3.2.1. Факторы, определяющие степень вскрытия рудных минералов	240
5.3.2.2. Проницаемость и степень трещиноватости	241
5.3.2.3. Количественные характеристики трещиноватости породы	244
5.3.2.4. Индексы степени дробления породы	245
5.3.2.5. Продвижение выщелачивающего потока внутри раздробленной породы и факторы на него влияющие	248
5.4. Предварительные испытания	253
5.5. Выщелачивание на месте залегания	254

5.5.1.	Бактериальное выщелачивание выработанных рудных залежей на месте залегания	263
5.5.2.	Выщелачивание неразработанных рудных тел в естественном залегании	267
5.5.3.	Выщелачивание на месте залегания и окружающая среда	284
5.5.4.	Выщелачивание в отвалах	285
5.5.4.1.	Способы подачи выщелачивающих растворов	286
5.5.4.2.	Сбор растворов	292
5.5.4.3.	Характеристика продуктивных растворов	293
5.5.4.4.	Потери воды	294
5.5.5.	Кучное выщелачивание	294
5.5.5.1.	Топографические и геоморфологические характеристики	295
5.5.5.2.	Химические, минералогические, структурные и физические характеристики породы и распределение гранулометрического состава	297
5.5.5.3.	Отсыпка куч	298
5.5.5.4.	Технология кучного выщелачивания	299
5.6.	Примеры организации процессов подземного и кучного бактериального выщелачивания	302
5.6.1.	Кучное выщелачивание на Николаевском руднике (СССР). Б.Д. Халезов	302
5.6.1.1.	Характеристика промышленной установки	302
5.6.1.2.	Микроорганизмы	303
5.6.2.	Кучное выщелачивание меди на Коунрадском руднике. Б.Д. Халезов	305
5.6.2.1.	Характеристика промышленной установки	305
5.6.2.2.	Микроорганизмы	308
5.6.3.	Подземное выщелачивание на Блявском руднике. Б.Д. Халезов	309
5.6.3.1.	Северная залежь	309
5.6.3.2.	Южная залежь	310
5.6.3.3.	Восточная залежь	310
5.6.3.4.	Распределение и состав выщелачивающих растворов	310
5.6.4.	Опытно-промышленное испытание подземного бактериального выщелачивания на месте залегания на руднике Авока	313
5.6.4.1.	Рудное тело	313
5.6.4.2.	Микроорганизмы	315
5.6.4.3.	Дробление руды буровзрывным методом	315
5.6.4.4.	Основной контур выщелачивания	315
5.6.4.5.	Скорость извлечения меди	316
5.6.5.	Технико-экономическое обоснование бактериального выщелачивания меди на месте залегания	317
5.6.5.1.	Выбор рудника	317
5.6.5.2.	Подготовка породы для бактериального выщелачивания на месте залегания	318
5.6.5.3.	Процесс выщелачивания	318
5.6.5.4.	Оценка стоимости	318
Глава 6.	Роль микроорганизмов в выщелачивании несulfидных материалов	327
6.1.	Выщелачивание и обогащение марганцевых руд. В.И. Ремезов, А.Д. Агате, В.А. Юрченко	327
6.1.1.	Характеристика минералов марганца	327
6.1.2.	Выщелачивание марганца	329
6.1.3.	Технологические аспекты выщелачивания марганца	331
6.1.4.	Обогащение марганцевых руд. Биоконверсия гаусманита	336
6.1.5.	Удаление фосфора и кремния	336

6.2.	Микробиологическое выщелачивание алюминия. С.Н. Грудев	338
6.2.1.	Характеристика алюминийсодержащего минерального сырья	338
6.2.2.	Технологическая схема	338
6.3.	Микробиологический способ обезжелезнения минерального сырья. С.Н. Грудев	342
6.3.1.	Характеристика минерального сырья	342
6.3.2.	Технологическая схема	343
6.4.	Микробиологическое растворение самородного золота. Г.И. Каравайко, Л.М. Верникова	346
6.4.1.	Характеристика золота	346
6.4.2.	Растворение самородного золота	346
Глава 7.	Биоаккумуляция и осаждение металлов микроорганизмами	352
7.1.	Очистка промышленных сточных вод от металлов. А.Н. Илялетдинов	352
7.1.1.	Осаждение металлов в присутствии продуктов разложения растений	352
7.1.2.	Использование активного ила для осаждения новых металлов	356
7.1.3.	Осаждение металлов в виде сульфидов	357
7.1.4.	Окисление и/или восстановление металлов	360
7.2.	Биосорбция металлов. З.А. Авакян	364
7.2.1.	Сорбция металлов экзополисахаридами	364
7.2.2.	Биосорбенты на основе биомассы микроорганизмов	367
7.2.2.1.	Очистка раствора от урана и нитратов денитрифицирующими бактериями	367
7.2.2.2.	Биосорбент М	370
7.2.2.3.	Способ „АМТ-биокейм”	371

Практическое Руководство „Биогеотехнология металлов” подготовлено в рамках проекта „Микробиологическое выщелачивание металлов из руд”, реализованного в период 1981–1985 гг. в соответствии с соглашением между Программой ООН по окружающей среде (ЮНЕП), Государственным комитетом СССР по науке и технике (ГКНТ) и Комитетом охраны природной среды НРБ при посредничестве с Советом Экономической Взаимопомощи (СЭВ). Инициатором создания проекта выступил Совет по микробиологии ЮНЕП/ЮНЕСКО/ИКРО.

Проект осуществлялся на базе Института микробиологии АН СССР, г. Москва.

В задачи проекта входило содействие подготовке специалистов в развивающихся странах по биогеотехнологии металлов и применению методов малоотходных технологий, содействующих рациональному использованию природных ресурсов.

В практическом руководстве рассматривается комплекс микробиологических и технологических методических подходов в решении основных задач кучного, подземного и чанового бактериально-химического выщелачивания сульфидных и несulfидных материалов, а также извлечения металлов из разбавленных растворов.

Разработка новых эффективных методов переработки минерального сырья является одним из определяющих факторов научно-технического прогресса. Ресурсы Земли хотя и велики, но ограничены и невозполнимы.

В последние годы наблюдается тенденция к снижению содержания металлов и усложнению минерального состава перерабатываемого рудного сырья, возросли требования к охране окружающей среды. Все это ведет к удорожанию добычи и извлечения полезных компонентов.

Постоянно растущая потребность в металлах приводит к необходимости использования бедных руд, месторождений, залегающих на больших глубинах, отвалов горнодобывающих предприятий.

Становится очевидным, что только совершенствование и коренное изменение методов добычи и переработки минерального сырья — создание безотходных и малоотходных технологий, обеспечивающих комплексное использование минеральных ресурсов — позволит обеспечить необходимыми металлами промышленность конца XX и начала XXI века. Одним из подходов к решению этих задач является применение биогеотехнологии.

Биогеотехнология металлов — это наука об извлечении металлов из руд, концентратов, горных пород и растворов под воздействием микроорганизмов или их метаболитов. Составными ее частями являются:

1. Биогидрометаллургия или бактериальное выщелачивание металлов.
2. Обогащение руд.
3. Биосорбция металлов из растворов.

Эти направления развиты не в одинаковой степени. В области биогидрометаллургии наиболее изучены процессы кучного и подземного выщелачивания меди, цинка, урана и ряда других металлов. Эта технология уже применяется для извлечения металлов из бедных забалансовых и потерянных руд в промышленных масштабах в США, Канаде, СССР, Болгарии и в ряде других стран. Себестоимость меди, получаемой этим способом в 1,5–2,0 раза ниже, чем традиционными способами. Процессы чанового выщелачивания металлов разрабатываются для извлечения ценных металлов из сложных по составу или бедных продуктов, не поддающихся переработке традиционными способами. К таким продуктам относят мышьяковистые золото- и оловосодержащие концентраты, метаколлоидные медно-цинковые концентраты и ряд других. Эта технология находится на стадии полупромышленного исследования в ряде стран (ЮАР, Канада, США, СССР). Практически все технологические схемы замкнутые, что в значительной мере снижает или вообще исключает загрязнение окружающей среды. Намечились и новые тенденции в развитии биогеотехнологии металлов. К ним относят обогащение ряда горных пород и руд, например

бокситов, при частичном выщелачивании кремния, сульфидизация окисленных руд, биосорбция металлов из растворов.

Использование биосорбентов, полученных на основе биомассы микроорганизмов позволяет решать не только технологические, но и природоохранные задачи. Создается реальная возможность очистки промышленных сточных вод от тяжелых металлов.

Использование новых бактериально-химических способов позволит увеличить сырьевые ресурсы, обеспечить комплексность извлечения металлов и не требует создания сложных горнодобывающих комплексов. При этом можно полностью автоматизировать соответствующие технологические процессы, повысить производительность труда и культуру производства, решить многие проблемы охраны окружающей среды. Главная задача настоящего руководства — дать основные методические подходы в решении технологических проблем.

В главах 1 и 2 подробно рассматриваются свойства бактерий уже нашедших применение в выщелачивании металлов, а также методы работы с ними. Это облигатные хемолитоавтотрофные и факультативно-автотрофные ацидофильные бактерии. Ряд неспецифических процессов, как, например, деструктирование силикатных минералов, биосорбция металлов, выщелачивание марганца и другие вызываются широким спектром уже известных микроорганизмов. Поэтому мы ограничились только оценкой их роли в этих процессах.

В главе 3 приводятся методы изучения не только микробиологических процессов выщелачивания металлов из руд, но и методы обеспечения и оценки. Эти методы связаны с изучением качественного состава руд и концентратов, получением активной биомассы бактерий, разработкой математических моделей процесса выщелачивания, созданием критериев экономической его оценки.

В главах 4 и 5 рассматриваются методы изучения и разработки технологии кучного, подземного и чанового бактериально-химического выщелачивания, приводятся примеры использования этих технологий для получения металлов.

В главе 6 с учетом имеющихся знаний приводятся методы изучения бактериального способа переработки несulfидных материалов, а в главе 7 — методы изучения биосорбции металлов.

Показано, что соединение микробиологических, химических и технологических методов позволит создать принципиально новую и эффективную технологию добычи металлов.

Практическое Руководство написано с учетом того, что специалисты — микробиологи, химики, технологи — будут работать совместно, а биотехнологи уже обладают навыками работы с микроорганизмами и методами их использования для выщелачивания металлов из руд и концентратов. Отдельные разделы Руководства написаны специалистами, которые непосредственно работают в той или иной конкретной области биоготехнологии металлов и обладают определенным опытом работы.

Оно может быть полезно для специалистов в области обогащения и переработки горнорудного сырья.

Глава 1

МИКРООРГАНИЗМЫ И ИХ РОЛЬ В БИОГЕОТЕХНОЛОГИИ МЕТАЛЛОВ

1.1. МИКРООРГАНИЗМЫ И СФЕРЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В ГИДРОМЕТАЛЛУРГИИ

В настоящее время известны следующие микробиологические процессы, важные для гидрометаллургии:

- а) окисление сульфидных минералов, элементарной серы и закисного железа;
- б) образование органотрофными микроорганизмами органических соединений, перекисей и т.д., способных деструктировать минералы и окислять или восстанавливать химические элементы с переменной валентностью;
- в) аккумуляция микроорганизмами химических элементов или их осаждение.

Т а б л и ц а 1.1

Микроорганизмы важные для гидрометаллургии

Микроорганизмы	Процессы	Возможная сфера применения
Бактерии родов Thiobacillus и Leptospirillum Thiobacillus ferrooxidans Thiobacillus thiooxidans Thiobacillus acidophilus (син. T. organoparus) Leptospirillum ferrooxidans Leptospirillum ferrooxidans в смешанной культуре с T. thiooxidans и T. acidophilus	Окисление сульфидных минералов, S^0 и Fe^{2+} при pH 1,4–3,5 и $t = 5-35^{\circ}C$	Кучное, подземное и чановое выщелачивание металлов из сульфидных и смешанных руд и концентратов, из отходов пирометаллургической промышленности; обессеривание углей
Факультативно-термофильные бактерии близкие к тиобациллам	То же при pH 1,1–3,5 и $t = 30-55^{\circ}C$	То же
Факультативно-термофильные бактерии рода Sulfolobus	То же при pH 1,1–4,0 и $t = 28-60^{\circ}C$	То же
Ацидофильные бактерии родов Sulfolobus и Acidianus	То же при pH 1,0–5,0 и $t = 45-96^{\circ}C$	То же

Таблица 1.1, продолжение

Микроорганизмы	Процессы	Возможная сфера применения
Гетеротрофные микроорганизмы и их метаболиты (бактерии, мицелиальные грибы, дрожжи, водоросли)	Деструктирование сульфидных, силикатных, алюмосиликатных минералов, восстановление и окисление марганца, растворение золота, биосорбция металлов	Извлечение металлов из карбонатных и силикатных руд и горных пород, обогащение руд; выщелачивание золота; использование бактериальной биомассы и метаболитов во флотации руд (липиды); очистка промышленных сточных вод от металлов; селективное извлечение металлов из растворов

В табл. 1.1 приведен перечень микроорганизмов важных для гидрометаллургии и возможные сферы их применения [18, 22, 43, 155].

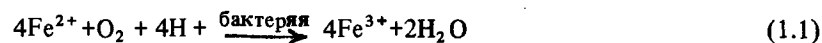
Ниже приводятся характеристики процессов выщелачивания и свойства микроорганизмов, играющих ведущую роль при извлечении металлов из руд и концентратов или наиболее активных в выделении металлов из растворов.

Ряд изучаемых в настоящее время процессов (деструкция силикатных минералов, выщелачивание марганца, золота, редких элементов, биосорбция металлов) осуществляется неспецифическими группами в основном широко известных микроорганизмов. Поэтому в соответствующих разделах данной главы приводится только их перечень, а подробное описание можно найти в известных определителях. Исключение делается только для небольшого числа видов используемых в исследованиях, но не включенных пока в определители.

1.2. РОЛЬ БАКТЕРИЙ В ОКИСЛЕНИИ Fe^{2+} , S^0 И СУЛЬФИДНЫХ МИНЕРАЛОВ

В окислении Fe^{2+} , сульфидных минералов и серы принимают участие главным образом бактерии родов *Thiobacillus*, *Leptospirillum*, *Sulfolobus*, *Sulfobacillus* и *Acidianus*. Особое значение для гидрометаллургии имеют ацидофильные бактерии, поскольку при низких значениях pH металлы после их вскрытия, благодаря окислению сульфидных минералов, переходят в раствор и могут быть в дальнейшем извлечены в товарный продукт.

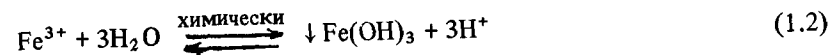
Окисление Fe^{2+} . Закисное железо — наиболее легко окисляемый субстрат для *T. ferrooxidans* и ряда других бактерий. Реакция окисления протекает по вероятной схеме [99]:



$$\Delta G_{30^\circ C} = -38,0 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$$

Эта реакция весьма важна для выщелачивания металлов, так как позволяет накапливать биомассу бактерий в рудах и растворах, получить силь-

ный окислитель многих сульфидных минералов — Fe^{3+} — и создать высокий окислительно-восстановительный потенциал среды. Окисное железо в зависимости от его концентрации и pH среды гидролизует, часть его выпадает в осадок и выделяются H^+ ионы:



Это позволяет регулировать pH и концентрацию окисного железа в растворах.

Кинетика окисления Fe^{2+} наиболее полно изучена у *T. ferrooxidans*. Эта бактерия ускоряет окисление Fe^{2+} в сотни тысяч раз. Особенно важными являются концентрация O_2 , CO_2 [225] и клеток *T. ferrooxidans*. (табл. 1.2).

Увеличение числа клеток *T. ferrooxidans* всего на один порядок с $2,5 \cdot 10^7$ до $2,5 \cdot 10^8$ в 1 мл позволяет ускорить процесс окисления Fe^{2+} в 3 раза даже при температуре 8–9°C [21].

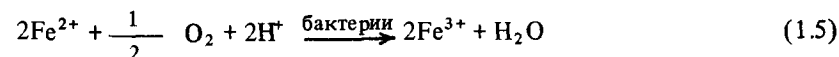
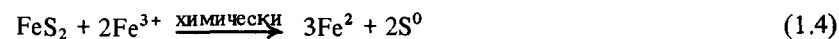
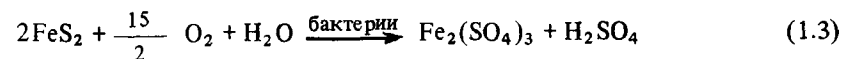
Таблица 1.2

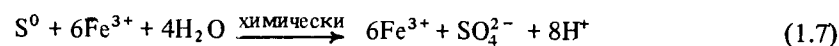
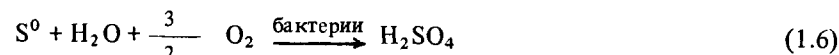
Зависимость скорости окисления Fe^{2+}
от биомассы *T. ferrooxidans*
($t = 28^\circ C$) [21]

Концентрация бактерий, г/л (сырая биомасса)	Окислено Fe^{2+} г.л. ⁻¹ час. ⁻¹
0,005	0,6
1,2	15

Окисление сульфидных минералов. Бактерии окисляют следующие сульфидные минералы [18, 142, 215, 216]: пирит и марказит (FeS_2), пирротин (FeS), халькопирит ($CuFeS_2$), борнит (Cu_5FeS_4), ковеллин (CuS), халькозин (Cu_2S), тетраэдрит ($Cu_8Sb_2S_7$), энаргит ($3Cu_2S \cdot As_2S_5$), арсенопирит ($FeAsS$), реальгар (AsS), аурипигмент (As_2S_3), кобальтин ($CoAsS$), пентландит (Fe, Ni)₉ S_8 , виоларит (Ni_2FeS_4), бравоит (Ni, Fe) S_2 , миллерит (NiS), полидимит (Ni_3S_4), антимонит (Sb_2S_3), молибденит (MoS_2), сфалерит (ZnS), марматит (ZnS), галенит (PbS), геокронит $Pb_5(Sb, As)_2S_8$, Ga_2S_3 , а также $CuSe$. Окислению подвергается сульфидная сера, а в таких минералах как пирит, халькопирит, арсенопирит, сера и железо, в Cu_2S — медь (Cu^+) и сера, а в $CuSe$ — селен (Se^{2-}).

Роль бактерий и химических процессов в окислении сульфидных минералов и выщелачивании металлов может быть показана на примере окисления пирита:





Иными словами при выщелачивании металлов следует учитывать прямое бактериальное окисление сульфидных минералов, связанное с жизнедеятельностью бактерий, и косвенное, связанное с действием Fe^{3+} , образующегося при бактериальном и химическом окислении закисного железа. Поэтому о выщелачивании металлов из сульфидных руд и концентратов принято говорить как о бактериально-химическом процессе.

Кинетика бактериально-химического окисления сульфидных минералов зависит от их термодинамических особенностей, электрохимического взаимодействия в рудах и концентратах, от условий среды (рН, температура, концентрация O_2 , CO_2) размера частиц минерала, Fe^{2+} , Fe^{3+} и других металлов, технологии процесса выщелачивания, концентрации и активности бактерий [11, 18, 60, 76, 158, 186].

Влияние концентрации бактерий на скорость окисления арсенопирита показано на рис. 1.1 [119].

Мезофильные и термофильные бактерии в зависимости от условий увеличивают скорость окисления сульфидных минералов в десятки, сотни и тысячи раз в сравнении с химическим их окислением молекулярным кислородом или ионами Fe^{3+} . Ионы Fe^{3+} активно окисляют такие сульфидные минералы, как халькозин, борнит, сфалерит. Однако они недостаточно эффективны в окислении пирита, халькопирита, арсенопирита и ряда других сульфидных минералов.

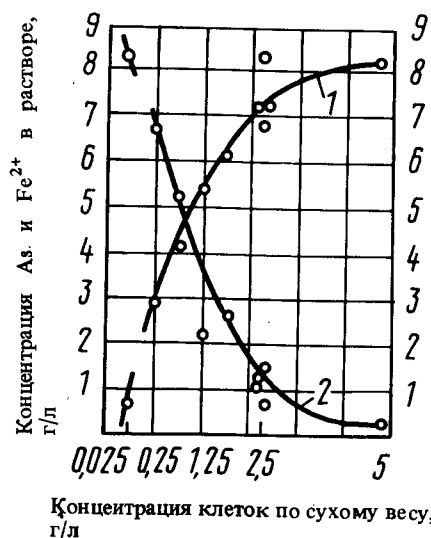
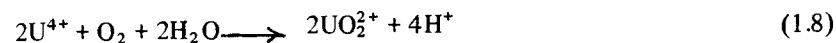


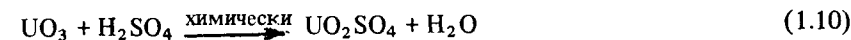
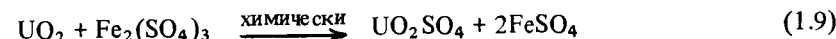
Рис. 1.1. Влияние концентрации бактерий на скорость выщелачивания мышьяка (1) и изменение концентрации Fe^{2+} в растворе (2).
Время опыта — 27 ч.; Т:Ж=1:5;
 $Fe^{2+}_{исх.} = 10 \text{ г/л}$

Окисление и выщелачивание урана [99]. *T. ferrooxidans* окисляет уран по реакции:



$$\Delta G_{30^\circ C} = -130,4 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$$

Однако в выщелачивании урана ведущая роль принадлежит трехвалентному железу. Fe^{3+} окисляет U^{4+} и U^{6+} , который растворим в сернокислых растворах:



Роль бактерий в этом случае заключается в регенерации Fe^{3+} при окислении Fe^{2+} или FeS_2 .

1.3. МЕХАНИЗМ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ Fe^{2+} , S^0 И СУЛЬФИДНЫХ МИНЕРАЛОВ

Окисление Fe^{2+} и восстановленных соединений серы бактериями весьма сложный и недостаточно изученный многоступенчатый процесс. Он включает следующие этапы: прикрепление бактерий к минералам, их деструкти-

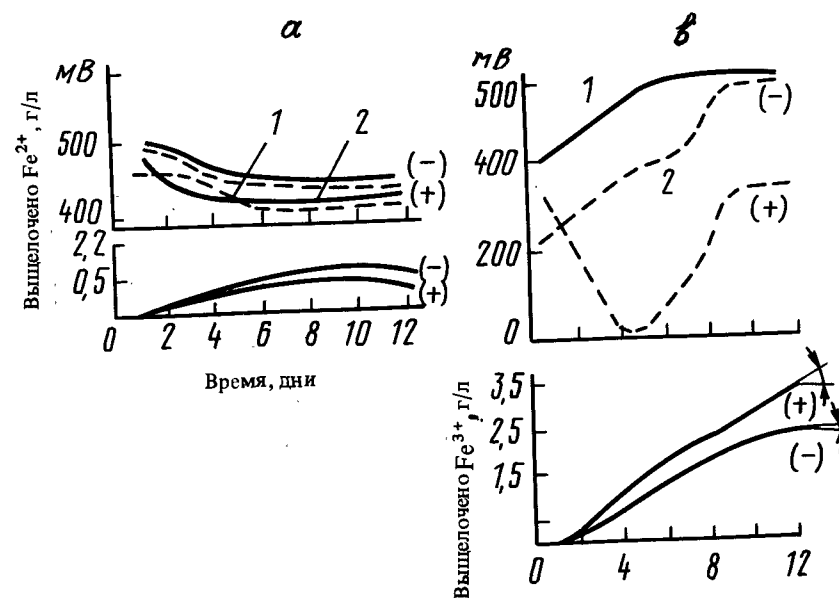


Рис. 1.2. Изменение Eh среды (1) и ЭП (2) дырочного (+) и электронного (-) пирита и вынос Fe^{2+} и Fe^{3+} в опытах без бактерий (а) и с бактериями *T. ferrooxidans* (б)

рование, растворение серы, транспортирование S^0 , Fe^{2+} или ионов других металлов в клетку и их окисление. На первом этапе происходит взаимодействие бактерий с поверхностью сульфидных минералов.

При этом, как показано на примере окисления пирита *T. ferrooxidans*, электродный потенциал этого минерала (ЭП) в значительной мере снижается, а окислительно-восстановительный потенциал среды (Eh) возрастает, т.е. создаются резко окислительные условия [60]. Без бактерий, когда ЭП пирита и Eh среды близки, окисление его не происходит (рис. 1.2).

Эта закономерность подтверждена и в отношении других сульфидных минералов. В смеси различных сульфидных минералов, образующих гальванические пары, бактерии прежде всего окисляют те, которые имеют более низкий ЭП, т.е. сульфид-анод (табл. 1.3).

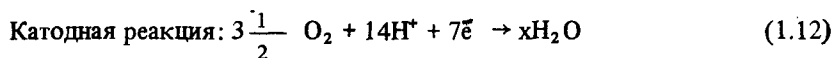
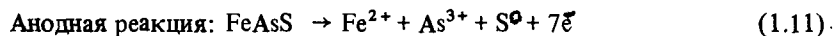
Очевидно, что микробиологический процесс окисления сульфидных минералов имеет ту же направленность, что и электрохимический. Это позволяет рассматривать его как электрохимический или коррозионный процесс, активизируемый бактериями. Бактерии при воздействии на сульфидные минералы увеличивают также дефектность их кристаллической структуры, что способствует окислительному процессу.

Таблица 1.3

Окисление смесей различных сульфидных минералов *T. ferrooxidans* [43, 73]

Смесь минералов в концентратах	Электродный потенциал, В	Предпочтительно окисляемые минералы
$CuFeS_2$ $FeAsS$	0,76 – 0,77 0,62 – 0,64	$FeAsS$
$CuFeS_2$ ZnS	0,60 – 0,68 0,23 – 0,43	ZnS
FeS_2 $CuFeS_2$	0,60 0,50	$CuFeS_2$

Схема бактериального окисления сульфидов показана на примере арсенипирита на рис. 1.3 [43, 192]. Реакции, происходящие в диффузионном слое, могут быть представлены в следующем виде:



Бактерии ускоряют электрохимический окислительный процесс двумя путями:

1. Снижают ЭП сульфидов и повышают Eh среды.
2. Окисляют S^0 и Fe^{2+} :

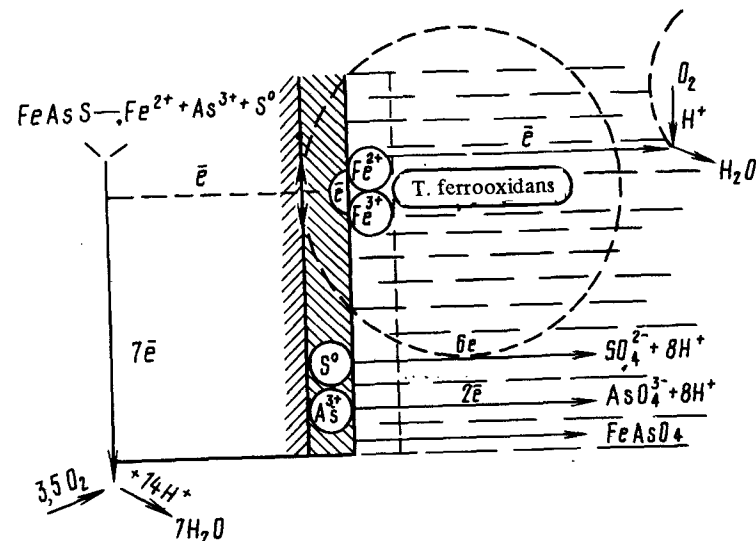
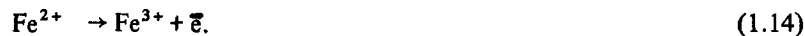


Рис. 1.3. Модель бактериально-химического окисления арсенипирита

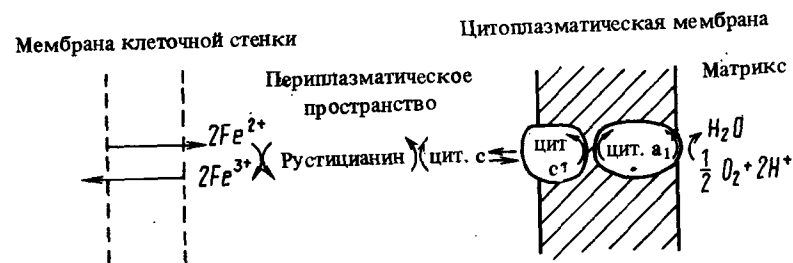


Рис. 1.4. Схема пути переноса электронов у *T. ferrooxidans* при окислении Fe^{2+}

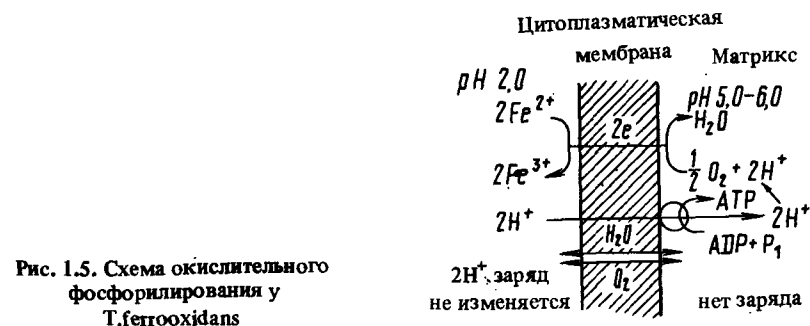


Рис. 1.5. Схема окислительного фосфорилирования у *T. ferrooxidans*

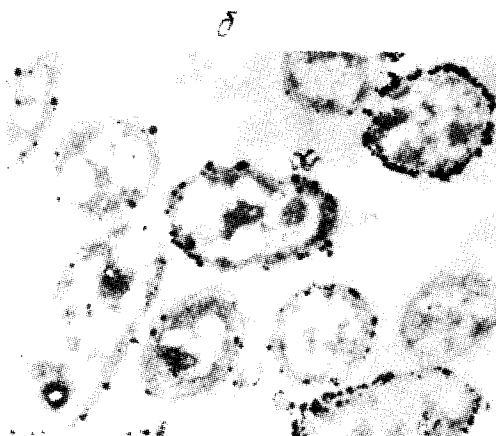
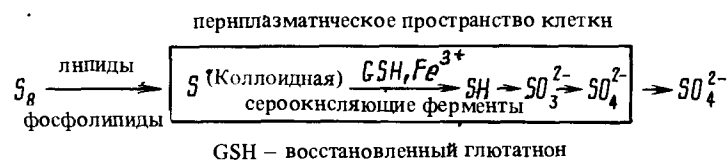
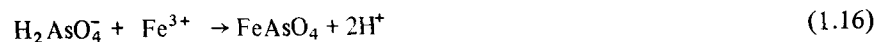
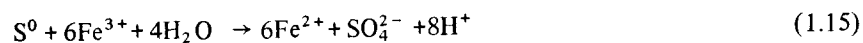


Рис. 1.6. Предполагаемая схема окисления элементарной серы *T. ferrooxidans* (a) и локализация ее в периплазматическом пространстве клетки (b) (черные точки – продукт реакции серы с $AgNO_3 - Ag_2S$)

Fe^{3+} в свою очередь взаимодействует с сульфидами и другими восстановленными соединениями серы, а также иными элементами в соответствии со следующими уравнениями реакций:



Механизм окисления Fe^{2+} и S^0 бактериями окончательно не выяснен. Схема переноса электрона при окислении закисного железа *T. ferrooxidans* и синтеза АТФ представлены на рис. 1.4 и 1.5 [147, 148].

Перенос электронов и протонов приводит к возникновению трансмембранного электрохимического потенциала, благодаря чему происходит синтез АТФ.

Окисление S^0 также происходит в тесном контакте между серой и клетками бактерий. На примере *T. ferrooxidans* показано, что в растворении элементарной серы важную роль играют фосфолипиды [23, 41]. Кристаллики серы локализуются на поверхности клеток бактерий, а растворенная

коллоидная сера поступает в периплазматическое пространство (рис. 1.6b) где и окисляется до серной кислоты по вероятной схеме (рис. 1.6a) [12, 20, 148, 212]:

1.4. ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ, ОКИСЛЯЮЩИХ Fe^{2+} , S^0 И СУЛЬФИДНЫЕ МИНЕРАЛЫ

Род *Thiobacillus* [70, 96]. Это мелкие грамотрицательные палочковидные клетки с одним полярным жгутиком, не образуют спор, большинство строгие аэробы*. Отдельные виды растут при pH от 0,5 до 9,0. Оптимальная температура для роста около 28–30°C. Энергию получают от окисления восстановленных соединений серы, а *T. ferrooxidans* использует также Fe^{2+} . Род включает облигатно хемолитоавтотрофные виды, для которых источником углерода служит CO_2 , а энергии – неорганические соединения серы, и факультативные хемолитоавтотрофы, способные расти как в автотрофных, так и в гетеротрофных и миксотрофных** условиях. Содержание Г + Ц в ДНК колеблется в пределах 48–68 мол.%. Широко распространены в рудных месторождениях, серных источниках и почвах.



Рис. 1.7. Клетка *T. ferrooxidans*, общий вид



Рис. 1.8. Клетка *T. thiooxidans* на среде с S^0

* Исключение составляет *Thiobacillus denitrificans* (факультативный анаэроб), который нами не рассматривается.

** Миксотрофными называют условия, в которых микроорганизмы сочетают одновременно различные типы питания, например, одновременно окисляют органические и неорганические вещества.

Подразделение тиобацилл на виды основано на различиях нуклеотидного состава ДНК, жирнокислотного состава клеточной стенки и физиологических свойств.

Поскольку в выщелачивании металлов основную роль играют кислотофильные тиобациллы, ниже рассматриваются свойства только этих бактерий (табл. 1.4, 1.5). К ним относятся хорошо изученные облигатные хемолитоавтотрофные виды *T. ferrooxidans* и *T. thiooxidans* (рис. 1.7, 1.8, табл. 1.4) и факультативные хемолитоавтотрофы — *T. acidophilus* (син. *T. organoparus*), а также ряд умеренно термофильных бактерий (табл. 1.5).

T. ferrooxidans легко можно выделить из рудничных вод. Эта бактерия хорошо растет на жидких средах с Fe^{2+} и сульфидными минералами, а также на твердых средах, приготовленных на основе силикагеля или полиакриламида. При развитии бактерий жидкая среда сначала прозрачная приобретает янтарный оттенок, переходящий в красно-коричневый от образования окисного железа. Колонии на твердых средах мелкие (от 1,0 до 1,5 мм в диаметре), округлые, гладкие с отложениями окислов железа.

T. thiooxidans широко распространен в сульфидных и серных месторождениях, откуда он легко выделяется. На жидкой среде с серой образует равномерную муть, а pH среды снижается до 1,0–1,5. На твердых средах с $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ образует мелкие колонии (от 1,0 до 2,0 мм в диаметре).

T. acidophilus (син. *T. organoparus*) выделен впервые из руд и описан как *T. organoparus* Маркосяном [34]. Впоследствии идентичная бактерия была выделена Гуэй и Сильвером из музейной культуры *T. ferrooxidans* и описана как *T. acidophilus* [132]. Под этим названием она и признана как новый вид тиобацилл. Использует следующие органические вещества: D — глюкозу, D — фруктозу, D — галактозу, D — маннит, D — ксилозу, D — рибозу; L — арабинозу, сахарозу, цитрат, малат; DL — аспартат, DL — глутамат.

Таблица 1.4

Свойства кислотофильных облигатных хемолитоавтотрофных тиобацилл

Признаки	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i> [4, 70, 135, 140, 142, 156, 157, 161, 211, 216, 225]	<i>Thiobacillus thiooxidans</i> [22, 70, 140, 156, 157, 230]
Форма и размеры клеток (мкм)	Палочки 0,3–0,5×1,0–1,7	Палочки 0,5×1,0–2,0
Клеточная стенка	Типичная для Грам [–] бактерий	Типичная для Грам [–] бактерий
Наличие жгутиков	+	+
Пили	+	Нет данных
Внутриклеточные гранулы:		
сера	+	+
гранулы полифосфата	+	+
карбоксисомы	+	+

Таблица 1.4, продолжение

Признаки	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i> [4, 70, 135, 140, 142, 156, 157, 161, 211, 216, 225]	<i>Thiobacillus thiooxidans</i> [22, 70, 140, 156, 157, 230]
Источники энергии для роста в хемолитоавтотрофных условиях:		
S^0	+	+
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+	+
$\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$	+	+
Fe^{2+}	+	–
U^{4+}	+	–
Cu^+	+	–
Se^{2-}	+	–
Сульфидные минералы	+	+ (слабо, некоторые сульфиды)
Источники азота	NH_4^+	NH_4^+
Пределы (оптимум) pH	1,2–6,0 (2,5–2,8)	0,5–6,0 (2,0–3,5)
Отношение к O_2	Строгий аэроб	Строгий аэроб
Температура для роста (оптимальная), °C	5–40 (28–35)	5–40 (28–30)
Содержание Г+Ц в ДНК, мол. %	55,0–57,4	52,0–53,0
Убихиноны:		
Q – 8	+	+
Q – 10	–	–
Гидроксированные жирные кислоты	3–ОН 14:0	3–ОН 14:0

Колонии на твердых средах с глюкозой — мелкие (от 1 до 2 мм в диаметре), круглые, выпуклые, слабо прозрачные, кремового цвета. На жидкой среде с серой образует помутнение и снижают pH до 1,5. **Термофильные бактерии** похожие на тиобациллы (ТН-1, 2, 3) в таксономическом отношении изучены еще слабо, однако они важны для гидрометаллургии. Их свойства приводятся в табл. 1.5.

Эти бактерии хорошо растут на средах с Fe^{2+} и сульфидными минералами в присутствии дрожжевого экстракта (0,02%). При 30°C слабо растут на среде с Fe^{2+} и не растут на среде с пиритом. Рост за счет окисления пирита начинается при 40°C. Развиваются также в среде с дрожжевым экстрактом без неорганических источников энергии. Дрожжевой экстракт может быть заменен отдельными органическими соединениями, являющимися источниками восстановленной серы (глутатион, цистеин, цистин).

Thiobacillus-подобные бактерии изолированы из терм с температурой 64°C и pH 4,3. Они были обнаружены в горячих источниках с pH 2,7 при

Таблица 1.5

Свойства ацидофильных факультативных хемолитоавтотрофных тиобацилл

Признаки	Thiobacillus acidophilus (син. T. organoparus [34, 132, 135, 156, 157])	Thiobacillus - подобные бактерии (ТН-1, 2, 3) [83, 85, 162]
Форма и размеры клеток (мкм)	Палочки 0,5–0,7х1,1–1,8	Палочки 0,4–0,8х1,2–4,2
Клеточная стенка	Типичная для Грам [–] бактерий	(?)
Наличие жгутиков	+ или –	+ или –
Внутриклеточные гранулы: сера	Нет данных	Нет данных
гранулы полифосфатов	+	Нет данных
карбоксисомы	Нет данных	Нет данных
Источники энергии для роста в хемолитоавтотрофных условиях:		
S ⁰	+	+
Fe ²⁺	–	+
Сульфидные минералы	–	+
Использование органических соединений	+	+
Источники азота	NH ₄ ⁺ , мочевина	NH ₄ ⁺
Пределы (оптимум) pH	1,5–6,0 (3,0)	1,1–3,5 (2,6)
Отношение к O ₂	Строгие аэробы	Строгие аэробы
Оптимальная для роста температура, °C	25–30	50
Содержание Г+Ц в ДНК, мол. %	62,9–63,2	48,0
Убихиноны:		
Q – 8	–	Нет данных
Q – 10	+	Нет данных
Гидроксированные жирные кислоты	3–ОН 14:0	Нет данных

температуре от 27 до 43,5 °C, а также в зонах разогрева руд при их выщелачивании.

Другие термофильные железо- и сероокисляющие тиобациллы выделены из проб осадков, полученных из горячих источников, из воды озера Мивам в северо-западной Исландии, имеющей pH – 1,8, а также из углей (pH 2,8) и из сточного канала (pH 1,5; 37°C) в Великобритании [174]. Некоторые из них окисляют серу при 50°C и описаны как штаммы, близкие к *T. thiooxidans*. Другой изолят, растущий на среде с Fe²⁺ при 50°C, по-видимому, близок к *T. ferrooxidans*. Оптимальное значение pH при росте на среде с Fe²⁺ колеблется от 1,5 до 1,8. Вуд и Келли [236] описали три термоацидофильные железоокисляющие бактерии, растущие в автотроф-

ных и миксотрофных условиях. Они были изолированы из угольных складов. Все три бактерии растут на минеральной среде, содержащей Fe²⁺, однако нуждаются в добавлении тиосульфата или тетрагидрата в качестве источников восстановленной серы. Ассимилировать SO₄^{2–} в биосинтетических целях не могут. При росте на органических субстратах требуют Fe²⁺. Стимуляция роста бактерий и окисления Fe²⁺ в присутствии глюкозы, как полагают Вуд и Келли, связана с более быстрыми биосинтетическими процессами.

Под *Sulfobacillus* [9, 10, 71]. Палочки с округлыми или заостренными концами, неподвижные, грамположительные встречаются парами или в виде коротких цепочек. Обнаруживаются также кокковидные, клиновидные и булавовидные клетки. Эндоспоры округлые или слегка овальные, расположены терминально или субтерминально. Спорангий расширен. Колонии на агаре, содержащем Fe²⁺, круглые, блестящие, вначале желтоватые затем приобретают красновато-коричневый цвет. Строгие аэробы.

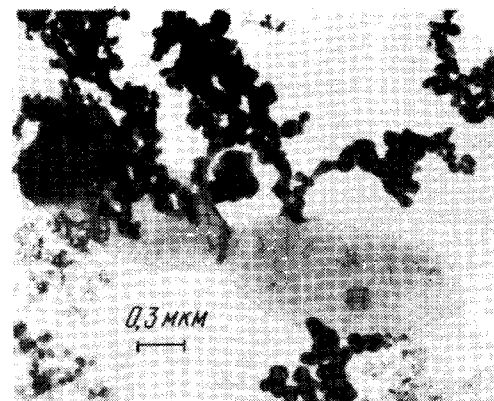
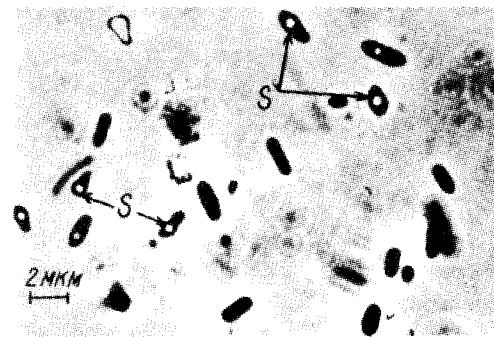
Рис. 1.9. Клетки *S. thermosulfidooxidans* на арсенопиритеРис. 1.10. Клетки *S. thermosulfidooxidans* со спорами

Таблица 1.6

Свойства видов рода *Sulfobacillus*

Признаки	<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> [9, 19]	<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> subsp. <i>thermotolerans</i> [27]	<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> subsp. <i>asporogenes</i> [32]
Форма и размеры клеток (мкм)	Палочковидные, клеточные агрегаты в виде палисадов, у-образных фигур; 0,6–0,8х1,0–3,0	Палочки, 0,9–1,0х3,0–6,0	Палочки, 0,5–0,9х2,0–4,0 мкм, с закругленными концами, одиночные, в парах или короткие цепочки. Имеют тенденцию образовывать нитевидные клетки
Клеточная стенка	Типичная для Грам ⁺ бактерий, с капсулярным слоем образует гликокаликс	Грамм ⁺ по окраске	Типичная для Грамм ⁺ бактерий
Пили	+	Нет данных	Нет данных
Образование спор	+	+	–
Гранулы полифосфата	+	Нет данных	+
Источники энергии для роста в хемолитоавтотрофных условиях			
S ⁰	+	+	+
Fe ²⁺	+	+	+
Сульфидные минералы	+	+	+
Субстраты для роста в гетеротрофных/миксотрофных условиях	Дрожжевой экстракт, глюкоза, сахароза, глутамат	Дрожжевой экстракт, глюкоза, крахмал, мочевины	Дрожжевой экстракт, глюкоза, глутатион, цистеин, казаминовые кислоты
Источники азота	NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺
Пределы pH (оптимум)	1,1–5,0 (1,7–2,4)	1,5–5,0 (2,0–2,7)	1,5–3,9 (1,6–1,8) на Fe ²⁺
Температура для роста (оптимальная), °C	20–60 (50–55)	(38–42)	2,0–4,5 (2,3–2,5) на S ⁰
Отношение к O ₂	Строгий аэроб	Строгий аэроб	Строгий аэроб
Содержание Г+Ц в ДНК, мол. %	47,2	49,34	45,5
Размер генома (Да)	3,7 · 10 ⁹	Нет данных	3,0 · 10 ⁹

Факультативные хемолитоавтотрофы. Окисляют серу, Fe²⁺ и сульфидные минералы. Могут расти в гетеротрофных условиях, в среде, содержащей 0,1 % глюкозы, сахарозы и ряда других органических соединений в присутствии 0,02 % дрожжевого экстракта. Ацидофилы. Факультативные термо-

филы. Содержание Г+Ц в ДНК 45,5–49,3 мол.%. Изолированы из руды отвала Николаевского месторождения. Широко распространены в термах, сульфидных месторождениях и в зонах коррозии городской теплотрассы. В настоящее время известен один вид — *S. thermosulfidooxidans* и два подвида — *S. thermosulfidooxidans* subsp. *thermotolerans* и *S. thermosulfidooxidans* subsp. *asporogenes*.

Типовой штамм *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* 1А (ВКМБ-1269). (табл. 1.6; Рис. 1.9, 1.10).

Род *Leptospirillum* [33]. Вибрионы, спиралевидные формы, псевдококки. Подвижные, имеют один полярный жгутик (рис. 1.11). Спор не образуют. Грамотрицательные. Колонии на силикагеле, пропитанном средой с Fe²⁺, мелкие, окрашенные окислами железа. Строгие аэробы. Облигатные хемолитоавтотрофы. В качестве источника энергии используют Fe²⁺ и FeS₂. Ацидофилы.

Широко распространены в месторождениях сульфидных руд.

Известен один вид рода — *L. ferrooxidans* (табл. 1.7).

Таблица 1.7

Свойства различных штаммов *Leptospirillum ferrooxidans*

Признаки	<i>L. ferrooxidans</i> [33, 40]	<i>L. ferrooxidans</i> ИНИИ 17 [19]
Форма и размеры клеток (мкм)	Вибрионы 0,2–0,4х0,9–1,1 спиральные формы, псевдококки, шаровидные формы	Спиралевидные, диаметр 0,3–0,4, вибрионидные 0,3–0,4х1,0–1,8, образуют псевдококки (диаметр 1,6–1,7)
Клеточная стенка	Типичная для грам [–] бактерий	Типичная для грам [–] бактерий
Наличие жгутиков	+	+
Источники энергии для роста в хемолитоавтотрофных условиях:		
Fe ²⁺	+	+
FeS ₂	+	+
Источники азота	NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺
Пределы (оптимум) pH	1,5–4,0 (2,5–3,0)	(1,9–2,4)
Температура (оптимум), °C	(30)	(40–45)
Отношение к O ₂	Аэроб	Аэроб
Содержание Г+Ц в ДНК, мол. %	Нет данных	Нет данных

Род *Sulfolobus* [70, 86]. Сферические клетки с лопастями (рис. 1.12), неподвижные, жгутиков и эндоспор нет. Грамотрицательные. Характеризуются, как и другие архебактерии, следующими особенностями:

1. Уникальное строение аппаратов транскрипции и трансляции, отличающееся от строения указанных аппаратов как других прокариот (эубактерий), так и эукариот.

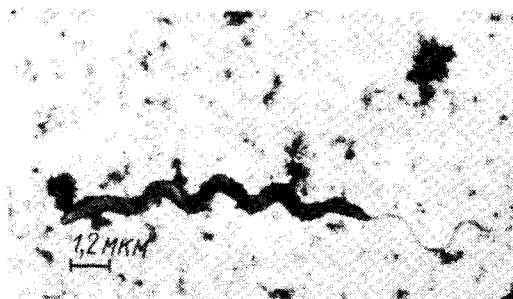


Рис. 1.11. Клетка *L. ferrooxidans* на среде с Fe^{2+}

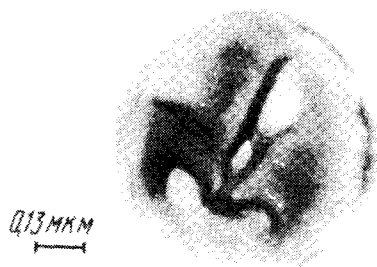


Рис. 1.12. Клетка *Sulfolobus* sp. на среде с S^0

2. Отсутствие в клеточной стенке муреина.

3. Уникальное строение липидов, которые в отличие от всех других организмов, не содержат глицериновых эфиров жирных кислот, а состоят в основном из изопреноидных и гидроизопреноидных углеводов и изопрениловых глицериновых эфиров. ДНК — зависимые РНК — полимеразы состоят из 9–11 субъединиц. Рибосомы по количеству белков ближе к рибосомам эукариот.

Колонии гладкие, блестящие, непигментированные. Факультативные хемолитоавтотрофы. Используют элементную серу в качестве источника энергии. В качестве источника энергии и углерода могут использовать дрожжевой экстракт, глутамат и другие органические соединения.

Рост и окислительные процессы обеспечиваются или активизируются только в присутствии дрожжевого экстракта (0,01–0,02%), а также ряда других органических веществ.

Аэробы. Акцепторами электронов при окислении серы могут быть также Fe^{3+} в аэробных и Mo^{6+} в анаэробных условиях.

Ацидофилы, облигатные термофилы. Содержание Г+Ц в ДНК от 60 до 68 мол.%. Распространены в термах и рудах. Типовой вид: *Sulfolobus acidocaldarius* Brock et al. [86].

Относятся к архебактериям — Archaeobacteria.

Свойства видов данного рода представлены в табл. 1.8.

Т а б л и ц а 1.8

Свойства термоацидофильных архебактерий круговорота серы и железа

Признаки	<i>Sulfolobus acidocaldarius</i> [86, 175, 238]	<i>Sulfolobus solfataricus</i> [98, 175, 238]	<i>Acidianus brierleyi</i> [78, 80, 204, 238]	<i>Acidianus infernus</i> [204]
Форма и размеры клеток (мкм)	0,8–1,0	Основная форма клеток сферическая 0,8–2,0	1,0–1,5	0,5–1,5 – в анаэробных и 0,8–2,0 – в аэробных условиях
Строение и состав клеточной стенки	+	+	–	Нет данных
Питие или оторостки	+	+	+	+
Источники энергии для роста в хемолитоавтотрофных условиях	+	+	+	–
S^0	–	–	–	–
Fe^{2+}	–	–	–	–
Сульфидные минералы	Дрожжевой экстракт, триптон, пептон, казеиновые кислоты гидролизат казеина, глутамин, аланин, аспарагин, сахароза, рибоза	Дрожжевой экстракт, глюкоза, ксилитоза, сахароза, лактоза, мальтоза, рамноза	Дрожжевой экстракт, сахароза, лактоза, маннит, L – кетоглутаровая кислота, триптон, мясной экстракт, пептон, казеиновые кислоты	1,0–5,5 (2,0) 65–96 (90)
Субстраты для роста в гетеротрофных/миксотрофных условиях	1,0–5,9 (2,0–3,0) 55–80 (70)	(3,0–5,0) 50–89 (75–87)	(1,5–2,0) 45–75 (70)	Факультативный анаэроб ~31,0
Пределы (оптимум) pH	Аэроб 34,0–39,0	Аэроб 34,0–39,0	Аэроб 34,0–39,0	
Температура для роста (оптимум), °C				
Отношение к O_2				
Содержание Г+Ц в ДНК, мол.%				

Род *Acidianus* [204]. Сферические клетки, иногда образуют дольчатые формы или выглядят как тетраэдры, пирамиды, диски или тарелки. Клеточная стенка состоит из субъединиц в гексагональной упаковке, лишена муреина. Клетки устойчивы к ванкомицину, ампициклину, канамицину. Липиды представлены изопrenoидными эфирами. Факультативные анаэробы. Литотрофный рост происходит в аэробных условиях при окислении серы или Fe^{2+} и сульфидных минералов или анаэробно при восстановлении серы молекулярным водородом. Растут в автотрофных или миксотрофных условиях.

Термоацидофилы. Растут в присутствии 0,1–4% NaCl. Содержание Г+Ц в ДНК около 31,0 мол.%. Встречаются в кислых сольфатарах и морских гидротермах. Типовой вид *Acidianus infernus*. Известны два вида рода *Acidianus*: *A. infernus* и *A. brierleyi* (прежде *Sulfolobus brierleyi*).

Свойства их приведены в табл. 1.8.

Спутники *T. ferrooxidans*. Заварзин [15] обнаружил в культуре *T. ferrooxidans* гетеротрофный спутник, представляющий собой подвижные тонкие палочки. Развитие спутника происходило при pH 2,0–3,0 в присутствии Fe^{2+} , а также при добавлении лимонной кислоты. Более слабый рост был отмечен на среде с сахарозой, фруктозой, рибозой, глюкозой, мальтозой, ксилозой, янтарной и фумаровой кислотами, маннитом и этанолом. Таксономическое его положение не ясно. По мнению Г.А. Заварзина, он напоминает *Acetobacter acidophilum*, но растет при более низком pH и слабее образует уксусную кислоту из этанола. В последние годы Аркештейн [65] обнаружил спутник *T. acidophilus* в коллекционных культурах *T. ferrooxidans* (ATCC), а Баррос и др. [69] и Харрисон и др. [134, 136] показали, что некоторые музейные культуры *T. ferrooxidans* (ATCC) содержат гетеротрофный спутник, который был изолирован и получил название *Acidiphilium scurptum*. Это грамотрицательная, аэробная, мезофильная, палочковидная бактерия. Спор не образует. Некоторые штаммы подвижны, имеют один полярный или два латеральных жгутика. Растут на бедной органической среде при pH от 1,9 до 5,9. Ацетат натрия сильно ингибирует рост при концентрации 0,01%. Растет в среде, содержащей 0,5% глюкозы при pH 3,5. Содержание Г+Ц в ДНК 68–70 моль%.

Четыре штамма *T. ferrooxidans*, поддерживаемые национальной коллекцией промышленных и морских бактерий (Великобритания), также были загрязнены ацидофильными гетеротрофными бактериями [152]. Все гетеротрофные ацидофильные штаммы представляют собой грамотрицательные подвижные палочки. На минеральных средах с Fe^{2+} и серой не растут. Каждый из них образует хорошо дифференцируемые по цвету и размерам колонии на агаризованном триптон-соевом бульоне (TSB).

Ацетат натрия в концентрации 0,1% ингибирует рост, однако эти бактерии растут в среде, содержащей 0,5% глюкозы (pH 3,5). Контроль на возможное присутствие гетеротрофных спутников следует проводить как при работе с чистыми культурами *T. ferrooxidans* так и при выщелачивании металлов.

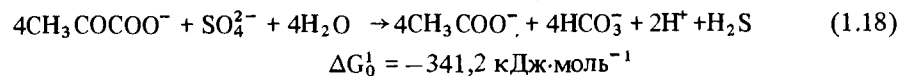
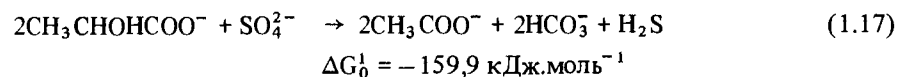
Бактерии *Beijerinckia lacticogenes* могут поставлять *T. ferrooxidans* соединения азота и ускорять окислительные процессы.

1.5. МИКРООРГАНИЗМЫ, ВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ СУЛЬФАТЫ И ДРУГИЕ СОЕДИНЕНИЯ СЕРЫ

Сульфатвосстанавливающие бактерии широко распространены в месторождениях металлических руд. Эти бактерии развиваются как в анаэробных зонах, так и в местах проникновения молекулярного кислорода в микроразонах, где они сохраняют жизнедеятельность под слоем аэробных бактерий-спутников. Рост сульфатвосстанавливающих бактерий сопровождается образованием значительного количества сероводорода, который способствует осаждению металлов и вызывает подавление окислительных процессов в отвалах или рудных телах. Они играют также важную роль в осаждении металлов в прудах и отстойниках, что позволяет использовать их для очистки промышленных сточных вод от ионов металлов.

Сульфатвосстанавливающие бактерии используют в качестве доноров электронов органические вещества и молекулярный водород. Акцепторами электронов служат сульфат, ряд окисленных соединений серы (SO_4^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, S^0), которые восстанавливаются до сульфида, а также фумарат и нитрат [58, 197]. К группе сульфатвосстанавливающих бактерий относятся представители родов *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfomonas*, *Desulfobulbus*, *Thermodesulfobacterium*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema* и *Desulfosarcina*, *Desulfobacterium* [45].

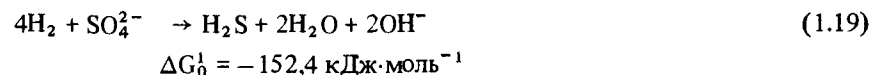
По способу окисления органических веществ в процессе сульфатредукции сульфатвосстанавливающие бактерии подразделяются на две группы. Первая группа осуществляет неполное окисление органических соединений с образованием ацетата по схемам:



В качестве доноров электронов чаще всего используют лактат, пируват, малат, фумарат; некоторые спирты — этанол, бутанол, изобутанол, пропанол и молекулярный водород [58, 197]. Большинство указанных органических соединений одновременно используются в биосинтетических процессах.

Отдельные штаммы *D. nigrificans*, *D. vulgaris* и *Desulfovibrio* sp. в процесс восстановления сульфатов вовлекают сахара — глюкозу, галактозу, рибозу [58, 139, 166]. Но в целом для группы сульфатвосстанавливающих бактерий использование сахаров не является характерным.

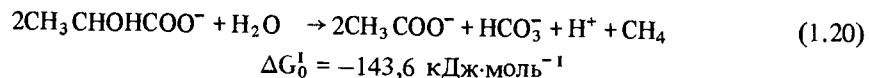
Рост на водороде возможен в присутствии ацетата и углекислоты, которые требуются для синтеза вещества клетки [52, 53, 66]: H_2 окисляется по схеме:



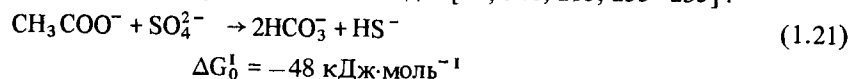
Эта группа бактерий включает представителей родов *Desulfotomaculum* (кроме *D. acetoxidans*), *Desulfovibrio* (кроме *D. baarsii*), *Desulfobulbus*, *Desulfomonas* и *Thermodesulfobacterium*.

Наряду с сульфатредукцией, многие сульфатвосстанавливающие бактерии способны получать энергию в процессе сбраживания органических веществ, чаще всего брожению подвергаются холин и пируват.

Кроме того, сульфатвосстанавливающие бактерии могут расти в средах, лишенных сульфатов, осуществляя межвидовой перенос водорода. Показан синтрофный рост *Desulfovibrio* и метанобразующих бактерий на средах с лактатом и этанолом (92), недоступных каждому организму в отдельности:



Вторая группа сульфатвосстанавливающих бактерий включает организмы, которые осуществляют полное окисление органических соединений, включая ацетат, до углекислоты и воды [77, 146, 213, 233–235].



В данную группу входят бактерии родов *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema*, а также *Desulfotomaculum acetoxidans* и *Desulfovibrio baarsii*.

Представители *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema* и *Desulfovibrio baarsii* используют широкий набор органических субстратов в процессе сульфатредукции — ацетат, формиат, пропионат, бутират, высшие жирные кислоты (до C_{14} — C_{18}), а также сбраживают лактат и пируват. Отмечен рост *Desulfonema limicola* и *Desulfosarcina variabilis* в автотрофных условиях в ряде последовательных пересевов в атмосфере молекулярного водорода и углекислоты [231].

Классификация сульфатвосстанавливающих бактерий, разработанная Постгейтом [196] и Кемпбеллом [93], в последние годы уточнена и дополнена рядом новых родов и видов [231]. В основу разделения бактерий на роды положены морфология клеток, способность к спорообразованию, состав цитохромов, наличие десульфовиридина и других пигментов. Для видовой дифференцировки в качестве таксономически значимых использованы следующие свойства: тип жгутикования, отношение к различным органическим субстратам, нуклеотидный состав ДНК, устойчивость к хлориду, термофилия и галофилия.

1.5.1. Сульфатвосстанавливающие бактерии, окисляющие органические вещества до ацетата

Род *Desulfovibrio*. Этот род объединяет анаэробные грамотрицательные неспорообразующие организмы, характеризующиеся вибриоидной (*D. desulfuricans*, *D. vulgaris*, *D. salexigens*), сигмовидной (*D. africanus*) или

спиралловидной формой клеток (*D. gigas*), подвижные в результате наличия одного или нескольких полярно расположенных жгутиков (табл. 1.9). Бактерии содержат цитохромы *c* и *b* и десульфовиридин — фермент, выполняющий функцию бисульфитредуктазы, проявляющий красную флуоресценцию при 630 нм после облучения ультрафиолетовым светом (365 нм) в щелочной среде.

Эти микроорганизмы используют ограниченный набор органических соединений. Универсальными субстратами, окисляемыми в процессе восстановления сульфатов, являются лактат и пируват. Малат, формиат, этанол, холин и некоторые другие органические вещества используются лишь отдельными представителями р. *Desulfovibrio*.

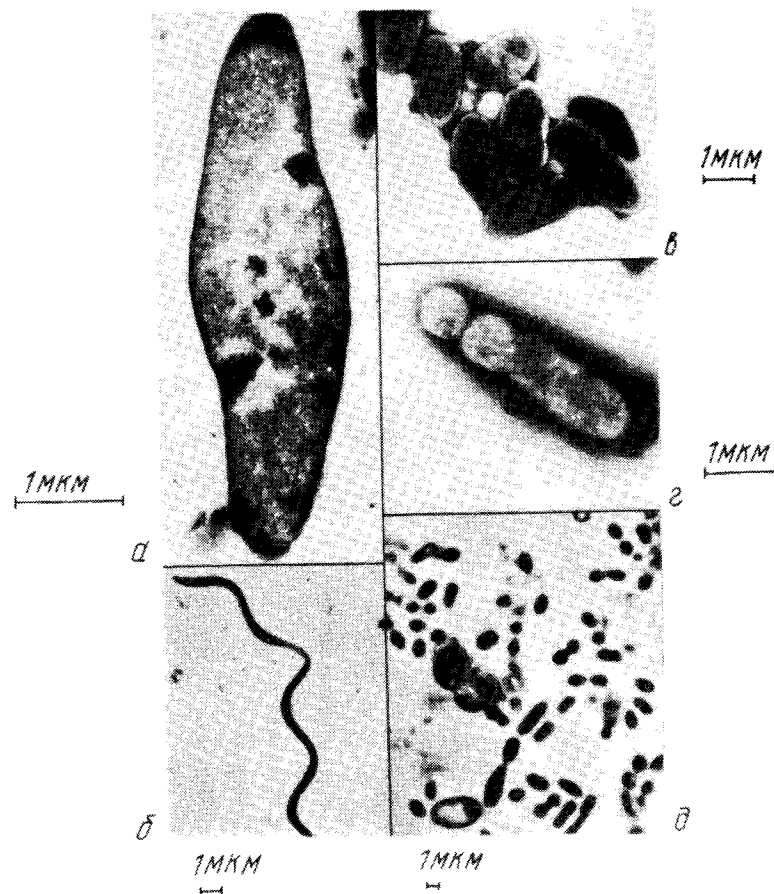


Рис. 1.13 Клетки сульфатвосстанавливающих бактерий:
а — *Desulfotomaculum nigrificans*; б — *Desulfovibrio africanus*; в — *Desulfovibrio baculatus*; г — *Desulfobulbus* sp.

Свойства сульфатовосстанавливающих бактерий, окисляющих органические вещества до ацетата

Род и вид	Форма клеток	Наличие жгу- т-ков	Размеры клеток (мкм)	Десульфова- рин- лин	Наличие спор	Требование NaCl	Г+П, мол. %	Питохромы	Субстраты, использо- ваемые для восстано- вления SO ₄ ²⁻ субстраты					
									формы- ат	малат	эта- нол	пиру- ват	холин	
<i>Desulfovibrio</i>														
<i>D. desulfuricans</i>	Вибрионы, спириллы	+	0,5-1х3-5	+	-	-	55,3±1	c ₃	-	+	-	+	+	+
<i>D. vulgaris</i>	Вибрионы, спириллы	+	0,5-1х3-5	+	-	-	61,2±1	c ₃	+	-	+	-	-	-
<i>D. salexigens</i>	Вибрионы, спириллы	+	0,5-1х3-5	+	-	+	46,1±1	c ₃	-	+	-	-	-	-
<i>D. africanus</i>	Сигмовидные палочки	+	0,5х5-10	+	-	-	61,2±1	c ₃	-	+	-	-	-	-
<i>D. gigas</i>	Спириллы	+	1,2-1,5х5-10	+	-	-	60,2	c ₃	Нет дан- ных	-	Нет дан- ных	-	-	-
<i>D. sapovorans</i>	Сигмовидные изогну- тые палочки	+	1,5х3-5,5	-	-	-	52,7	b, c	-	-	-	+	Нет дан- ных	-
<i>D. baculatus</i>	Палочки	+	0,5-0,6х0,4-1,4	-	-	-	56,8±0,4	b, c	+	(в при- сутствии ацетата)	+	-	-	-
<i>D. thermophilus</i>	Палочки	+	0,6х2	+	-	-	Нет дан- ных	c ₃	-	-	-	-	-	-
<i>Desulfomonas</i>														
<i>D. pigra</i>	Палочки	-	0,8-1х2,5-10	+	-	-	67,0	Нет дан- ных	-	Нет дан- ных	-	+	Нет дан- ных	-
<i>Desulfohalobus</i>														
<i>D. propionicus</i>	Овонидные/лимоно- видные, палочки	+	1-1,3х1,8-2	-	-	-	59,9	b, c	-	-	+	+	-	-
<i>D. elongatus</i>	Овонидные/лимоно- видные, палочки	+	0,5-0,7х1,5-2,5	-	-	-	59,0	b, c	-	-	+	+	Нет дан- ных	-
<i>Thermodesulfobacterium</i>														
<i>T. commune</i>	Палочки	-	0,3х0,9	-*	-	-	34,4	c ₃	Нет дан- ных	-	-	+	Нет дан- ных	-
<i>Desulfotomaculum</i>														
<i>D. nigrificans</i>	Палочки	+	0,3-0,5х3-6	-	+	-	44,7	b	-	Нет дан- ных	+	+	Нет дан- ных	-
<i>D. ruminis</i>	Палочки	+	0,5х3-6	-	+	-	45,5	b	+	Нет дан- ных	-	+	Нет дан- ных	-
<i>D. orientis</i>	Палочки	+	1,5х5	-	+	-	41,7	b	-	Нет дан- ных	-	-	Нет дан- ных	-
<i>D. antarcticum</i>	Палочки	+	1-1,2х4-6	-	+	-	Нет дан- ных	b	-	Нет дан- ных	Нет дан- ных	+	Нет дан- ных	-
<i>D. guttoideum</i>	Палочки	+	1,0х2-3	-	+	-	51,6	c	-	-	-	+	Нет дан- ных	-

* - Содержат десульфифуцилин.

Свойства сульфатовосстанавливающих бактерий,
окисляющих органические вещества до углекислоты

Род и вид	Форма клеток	Наличие жгутиков	Размеры клеток, мкм	Г + П, мол. %	Десульфуривирдин	Питохромы	Субстраты, используемые при восстановлении SO_4^{2-}					Сбраживае- мые субст- раты	
							фо- ми- ат	спир- ты C_2 - C_4	лак- тат эо- ат	H_2 + CO_2	выс- шие жир- ные кис- лоты до C_{14}	лак- тат	пиру- ват
<i>Desulfobacter</i> <i>D. postgatei</i> *	Палочковидные, эллипсоидные	+	1-2x1,7-3,5	45,9	-	b, c	-	-	-	-	-	-	-
<i>D. hydrogenophilus</i>	Овальные, продол- говатые	+	1-1,3x2-3	44,6	-	+	-	+(C ₂)	Нет	Нет	+	Нет	Нет
<i>D. latus</i>	Овальные, палочко- видные	+	1,6-2,4x4-7	43,8	-	+	-	-	Нет	Нет	-	Нет	Нет
<i>D. curvatus</i>	Вибрионы	+	0,5-1x1,7-3,5	46,1	-	+	-	+(C ₂)	Нет	Нет	+	Нет	Нет
<i>Desulfococcus</i> <i>D. multivorans</i> *	Сферические	-	1,5-2,2	57,4	+	b, c	+	+	+	-	+	+	+
<i>D. niacini</i> **	Сферические	+	1,5-3,0	45,8	-	b	+	+	-	+	+(C ₁₆)	-	-
<i>Desulfonema</i> <i>D. limicola</i> *	Палочки, образу- ющие нити	-	2,5-3x2,5-3,5	34,5	+	b, c	+	+	-	+	+	-	-
<i>D. magnum</i>	Палочки, образу- ющие нити	-	6-8x9-13	41,6	-	b, c	+	-	-	+	+(C ₁₀)	-	-
<i>Desulfosarcina</i> <i>D. variabilis</i> *	Палочковидные/ эллипсоидные, в пакетах	±	1-1,5x1,5-2,5	Нет	-	Нет	+	+	+	+	+	+	+
<i>Desulfovibrio</i> <i>D. baarsii</i> *	Изогнутые палочки, сигмовидные	+	0,5-0,7x1,5-4	Нет	-	Нет	+	-	-	-	+	-	-
<i>Desulfotomaculum</i> <i>D. acetoxidans</i> *	Палочковидные	+	1-1,5x3,5-9	37,5	-	b	+	+	-	-	-	-	-
<i>D. sapromandens</i>	Палочки	+	1,2-2,0x5-7	48,0	Нет	Нет	+	+	-	+	Нет	дан- ных	-
<i>Desulfobacterium</i> *** <i>D. indolicum</i>	Палочки, овоидные клетки	+	0,7-1,5x2-2,5	47,4	-	b, c	+	+	-	-	-	-	-
<i>D. phenolicum</i>	Изогнутые палочки		1-1,5x2-3	40,6	-	Нет	+	+	+	-	-	-	-
<i>D. autotrophicum</i> <i>D. catecholicum</i>	Овоидные Овоидные до лимо- новидных	+	1-1,5x1,5-2,5 - 1,3-1,8x2,2-2,8	42,6 52,4	-	b, c +	+	+	+	+	+	+	+

* [45, 231].

** [146].

*** [145].

В последнее время выделен ряд новых штаммов беспоровых сульфатвосстанавливающих бактерий, имеющих форму палочек (рис. 1.13).

Они были отнесены к различным таксономическим группам. Палочковидные бактерии, у которых десульфовиридин отсутствовал, *D.baculatus*, *D.thermophilus*, *S.baarsii*, были оставлены внутри рода *Desulfovibrio* [44, 46, 231]. Неподвижная палочковидная бактерия, содержащая десульфовиридин, выделенная Муром с соавт. [177], была обособлена в новый род и вид *Desulfomonas pigra*. Термофильная бактерия, близкая к *D.thermophilus*, была отнесена к новому роду и виду *Thermodesulfobacterium commune* [237].

Вероятно, необходимы дальнейшие исследования физиологии, биохимии и генетического родства палочковидных бактерий *D.baculatus*, *D.thermophilus*, *D.baarsii*, *D.pigra* и *T.commune* для установления реальности существования предложенных родов и видов [197].

D.baculatus, *D.thermophilus*, *Thermodesulfobacterium commune* и *Desulfomonas pigra* отличаются узкой субстратной специфичностью. *D.baarsii* — единственный представитель р.*Desulfovibrio*, который не использует лактат и пируват, но растет на средах с формиатом, ацетатом, пропионатом, бутиратом, высших жирных кислотах, которые он полностью окисляет до CO_2 (табл. 1.10).

Род *Desulfotomaculum*. Этот род объединяет спорообразующие бактерии, восстанавливающие сульфаты. Окрашиваются по Граму отрицательно, но имеют строение клеточной стенки свойственное грамположительным бактериям [38, 197]. Бактерии представлены палочковидными или лимоновидными клетками с перитрихальным (*D.nigrificans*, *D.orientis*, *D.ruminis*, *D.antarcticum*, *D.guttoideum*) или полярным (*D.acetoxidans*), жгутикованием; содержат цитохромы типа b и c. Вместо десульфовиридина в клетках спорообразующих сульфатвосстанавливающих бактерий присутствует бисульфитредуктаза с абсорбционным максимумом при 582 нм — пигмент P_{582} . В состав рода входят термофильный вид *D.nigrificans* и мезофильные виды *D.ruminis*, *D.orientis*, *D.antarcticum*, *D.acetoxidans*, *D.guttoideum* (табл. 1.9, 1.10).

Представители этого рода используют в процессе восстановления сульфатов узкий набор органических субстратов. Для *D.nigrificans* он включает лактат, пируват, этанол и глюкозу; *D.ruminis* — лактат, пируват, формиат; *D.orientis* — пируват, лактат; для *D.acetoxidans* — лишь ацетат. Кроме того, *D.nigrificans* и *D.ruminis* способны расти в отсутствие сульфатов, сбраживая пировиноградную кислоту до ацетата, CO_2 и H_2 (табл. 1.9). Разные виды р.*Desulfotomaculum* окисляют органические вещества до стадии уксусной кислоты. *D.acetoxidans* — единственный представитель этого рода, окисляющий ацетат до CO_2 и H_2O [234].

Род *Desulfobulbus*. Род объединяет эллипсоидные и лимоновидные грамотрицательные бактерии, подвижные за счет одного полярного жгутика, не образующие спор. Клетки содержат цитохромы b и c-типа, десульфовиридина нет. Род представлен двумя видами *D.elongatus* и *D.propionicus* (табл. 1.9). Типовые штаммы *D.propionicus* и *D.elongatus* осуществляют

сульфатредукцию за счет использования лактата, пропионата, этанола, пропанола, пирувата, образуя ацетат в качестве конечного продукта окисления. Для развития в атмосфере молекулярного водорода требуется внесение в среду ацетата и CO_2 на конструктивные процессы. Уникальной является способность *D.propionicus* использовать в качестве акцепторов электронов помимо сульфатов (SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) нитраты, которые восстанавливаются стехиометрически до аммония. В средах без сульфатов и нитратов оба организма могут получать энергию в процессе сбраживания лактата и пирувата [201, 231].

1.5.2. Сульфатвосстанавливающие бактерии, окисляющие органические вещества до углекислоты

Род *Desulfobacter*. Род объединяет три штамма грамотрицательных сульфатвосстанавливающих бактерий, относящихся к одному виду *D.postgatei*. Бактерии имеют палочковидную или эллипсоидную форму, неподвижны или передвигаются с помощью одного полярного жгутика. Типовой штамм *D.postgatei* „Dangast”. Zac9 окисляет только ацетат, другие два штамма используют также лактат и этанол (табл. 1.10). Акцепторами электронов являются сульфат и другие окисленные соединения серы. В клетках обнаружены цитохромы b и c типа, дисульфовиридин отсутствует [235].

Род *Desulfococcus*. Род представлен сферическими грамотрицательными бактериями, иногда подвижными за счет одного полярного жгутика. В состав рода входят два вида — *D.multivorans* и *D.niacini*, характеризующиеся широким спектром субстратов, используемых в процессе сульфатредукции. Бактерии окисляют пируват, формиат, ацетат, пропионат, бутират, низшие спирты (этанол, пропанол, бутанол), высшие жирные кислоты (до C_{14}). Наблюдается рост *D.multivorans* в отсутствие сульфатов за счет сбраживания лактата и пирувата. Специфическое обогащение культуры *D.multivorans* наблюдается в средах с бензоатом, а *D.niacini* — с никотиновой кислотой. Бактерии содержат цитохром b; у *D.multivorans* обнаружены, кроме того, цитохром c и десульфовиридин [146, 231].

Род *Desulfonema*. Род включает палочковидные сульфатвосстанавливающие бактерии, формирующие нити длиной до нескольких миллиметров. Нити находятся в прикрепленном состоянии, но иногда наблюдается их перемещение посредством скольжения.

Клетки окрашиваются по Граму положительно, хотя на ультратонких срезах имеют свойственное грамотрицательным бактериям строение клеточной стенки [233].

В процессе восстановления сульфатов или других окисленных соединений серы *D.limicola* и *D.magnus* осуществляют полное окисление формиата, пропионата, бутирата, высших жирных кислот (с длиной цепи 10–14 углеродных атомов) до углекислоты. Рост на среде с ацетатом обычно медленный, но улучшается при добавлении в среду сукцината, высших жирных кислот или экстракта анаэробно разрушенных органических веществ сточных вод. Оба организма не способны сбраживать органические вещества (табл. 1.10).

D.limicola содержит цитохромы b и c, а также десульфовиридин. У *D.magnus* также обнаружены цитохромы b и c, и сульфитредуктаза Π_{582} , свойственная спорообразующим сульфатвосстанавливающим бактериям *p.Desulfotomaculum*.

Под *Desulfosarcina*. К этому роду относятся грамотрицательные сульфатвосстанавливающие бактерии, образующие пакеты клеток. Бактерии в пакетах имеют неправильную форму, тогда как свободноживущие клетки — палочковидные или эллипсовидные. Иногда встречаются подвижные клетки с одним полярным жгутиком.

Род представлен одним видом *D.variabilis*, отличающимся чрезвычайно широким спектром используемых субстратов. Бактерии окисляют в процессе сульфатредукции спирты (этанол, пропанол, бутанол), низшие кислоты (формиат, ацетат, пропионат, бутират), высшие жирные кислоты (до C_{14}), лактат, пируват, сукцинат, фумарат, бензоат и др.; способны расти в автотрофных условиях в атмосфере $H_2 + CO_2$. В отсутствие сульфатов *D.variabilis* осуществляет сбраживание лактата, пирувата и фумарата (табл. 1.10).

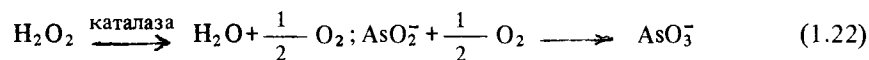
Клетки не содержат десульфовиридин. Состав цитохромов и Г+Ц в ДНК этих бактерий пока не определены.

1.6. МИКРООРГАНИЗМЫ, ВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ И ОКИСЛЯЮЩИЕ ДРУГИЕ ЧЕМ СЕРА И ЖЕЛЕЗО ЭЛЕМЕНТЫ

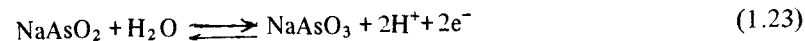
Процессы окисления или восстановления ряда элементов с переменной валентностью могут осуществляться как автотрофными так и гетеротрофными микроорганизмами. В последнем случае эти элементы либо играют роль акцепторов электронов (восстановление Cr^{6+}), либо окисляются под действием продуктов метаболизма микроорганизмов.

1.6.1. Бактерии, окисляющие As^{3+} [1, 2, 17]

Ряд штаммов *Pseudomonas putida* и *Alcaligenes eutrophus*, выделенных из золотомышьяковистых месторождений, применяются для очистки промышленных сточных вод от мышьяка (глава 7). Они окисляют As^{3+} в присутствии органических веществ до As^{5+} . Предполагается, что окисление As^{3+} происходит под действием атомарного кислорода, образующегося при разрушении каталазой перекиси, выделяемой бактериями. Эти реакции можно представить в следующем виде:



Автотрофная бактерия *Pseudomonas arsenitoxidans* выделена из вод золотомышьяковистого месторождения. В автотрофных условиях она окисляет As^{3+} в As^{5+} , используя в качестве источника углерода CO_2 атмосферы. Окисление As^{3+} идет по схеме:



Значение pH среды в результате этой реакции снижается до 6.0. Свойства этих бактерий приведены в табл. 1.11.

Таблица 1.11

Свойства бактерий, окисляющих As^{3+}

Признаки	<i>Pseudomonas putida</i> [1]	<i>Alcaligenes eutrophus</i> [2]	<i>Pseudomonas arsenitoxidans</i> [17]
Форма и размер клеток (мкм)	Палочки, 0,6x1,5	Палочки, 0,6x2,0 Иногда образуют цепочки + (перитрих)	Палочки, 0,4x1,2–1,5
Наличие жгутиков	+	—	+
Окраска по Граму	—	—	—
Пределы pH (оптимум)	4,0–10,5 (7,0–8,5)	4,0–10,5 (6,0–9,0) (28)	6,0–8,5 (7,5–8,0) (28–35)
Температура (оптимум), °C	4–28	Аэроб	Аэроб
Отношение к O_2	Аэроб	Аэроб	Аэроб
Источники энергии и углерода	Арабиноза, ксилоза, рамноза, глюкоза, фруктоза, галактоза, сахароза, мальтоза, рафиноза, этанол, маннит	Органические вещества, H_2CO_2	As^{3+} , CO_2
Источники азота	NH_4^+	NH_4^+	NH_4^+
Катазная активность	+	Нет данных	—
Тип колоний на МПА	Гладкие, блестящие, коричневые	Нет данных	Мелкие точечные колонии на минеральной среде с As^{3+}

1.6.2. Бактерии, восстанавливающие Cr^{6+} [26, 31, 47]

Pseudomonas dechromaticans. Выделен из активного ила биовосстановителя, в который поступали бытовые сточные воды и промышленные стоки, содержащие хроматы. *Pseudomonas chromatophila* выделен из воды на дне карьера Кемпирсайского хромитового месторождения, а также из сточных заводских вод. *Aeromonas dechromatica* выделен из сточных вод станко-строительного завода. Эти бактерии способны использовать хроматы и бихроматы в качестве акцепторов электронов при росте на органических средах в анаэробных условиях. При этом Cr^{6+} восстанавливается до Cr^{3+} , который осаждается в виде $Cr(OH)_3$. Это позволило разработать микробиологический способ очистки промышленных стоков от хрома (см. глава 7).

Свойства *P.dechromaticans*, *P.chromatophila* и *A.dechromatica* приведены в табл. 1.12.

Таблица 1.12

Свойства бактерий, восстанавливающих хром

Признаки	<i>Pseudomonas dechromaticans</i> [47]	<i>Pseudomonas chromatophila</i> [31]	<i>Aeromonas dechromatica</i> [26]
Форма и размер клеток (мкм)	Палочки, 0,4x1,5	Палочки, 0,4x6-8	Кокковидные и палочковидные, 0,5-1,6x до 15
Наличие жгутиков	+	+	+ (от 1 до 10)
Окраска по Граму	-	-	- (+), стенка типична для Грам ⁻ бактерий
Пределы pH (оптимум)	(7,7-8,3)	(7,0-8,5)	5,0-9,0 (6,8-7,0)
Температура (оптимум), °C	(20-25)	17-42 (27)	4-45 (34)
Отношение к O ₂	Факультативный анаэроб	Факультативный анаэроб	Факультативный анаэроб
Способность к денитрификации	+	-	+
Источники энергии и углерода	Органические вещества в анаэробных условиях в присутствии Cr ⁶⁺	Органические вещества в анаэробных условиях в присутствии Cr ⁶⁺	Органические вещества в анаэробных условиях в присутствии Cr ⁶⁺
Гидролиз желатина и крахмала	-	-	-
Источники азота	NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺
Образование каталазы	Нет данных	67 ± 0,3	59 ± 0,2
Содержание Г+Ц в ДНК, мол.%	Нет данных		
Отношение к NaCl	Нет данных	Растет при содержании 1,0% NaCl в среде	Растет только в присутствии NaCl - 3% оптимальная концентрация

P.dechromaticans. На МПА образует вначале мелкие, водянистые колонии с розовыми краями. Со временем колонии увеличиваются в размере, слегка приподняты в центре, приобретают розоватый цвет, пастообразную консистенцию.

На ломтиках картофеля растет медленно, штрих плотный бугорчатый, окрашен от слабо-розового до красноватого в старых культурах. На МПБ растет с помутнением бульона.

В присутствии Cr⁶⁺ растут на средах с пептоном, глюкозой, спиртом и т.д., в анаэробных условиях также растет на среде со спиртом.

P.chromatophila. На МПА, крахмальном агаре, образует бесцветные колонии с ровными краями, слегка приподнятые к центру, пастообразной консистенции, 1,0-1,5 мм в диаметре. Растет в аэробных и анаэробных условиях за счет использования следующих органических веществ: рибозы,

фруктозы, натриевых солей бензоата, фумарата, лактата, ацетата, сукцината, малата и тартрата. Низкомолекулярные спирты не использует.

A.dechromatica. Колонии на МПА мелкие, прозрачные, блестящие; с неровными краями, с возрастом (6 суток) желтеющие. На жидких средах рост дисперсный с помутнением среды, окраска среды, содержащей Cr⁶⁺, изменяется с желтой на голубоватую. Метаболизм дыхательный и бродильный, сбраживает глюкозу, гидролизует казеин и крахмал, разжижает желатин, коагулирует молоко, не образует ацетон из глюкозы, разлагают галактозу, маннозу, мелибиозу, сахарозу, фруктозу, лактозу, целлобиозу, арабинозу, маннит, дульцит, сорбит, глицерин.

1.6.3. Микроорганизмы, восстанавливающие и окисляющие марганец

Микробиологическое выщелачивание марганца связано с восстановлением его до двухвалентного состояния.

Эта способность обнаружена у микроорганизмов различных таксономических групп (табл. 1.13). Их характеристика приведена в известных определителях [70-72]. Восстановление Mn⁴⁺ может происходить как ферментативным путем, так и в результате действия различных метаболитов, например, органических кислот, перекисей и некоторых других [13, 62, 63].

Таблица 1.13

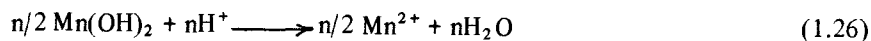
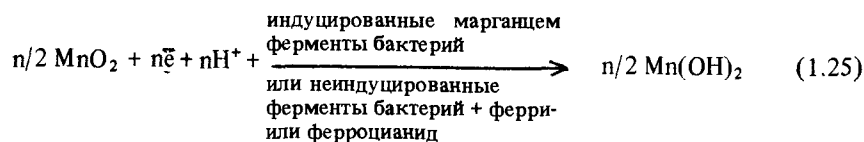
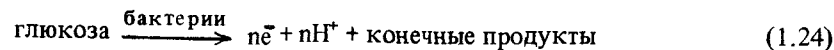
Бактерии, выщелачивающие марганец

Микроорганизмы	Литература
Пресные воды и осадки Bacillus macerans Bacillus subtilis Clostridium felsineum Enterobacter aerogenes Proteus vulgaris Bacillus cereus Bacillus circulans Bacillus mycoides Bacillus polymyxa Pseudomonas fluorescens Escherichia coli	[54-56] [217]
Океанские и морские осадки Arthrobacter sp. Arthrobacter, strain B. Bacillus spp. Acinetobacter calcoaceticus Pseudomonas herbicola sp. 10*, Aeromonas sp. 125 Rhodopseudomonas sphaeroides**	 [61, 62, 90] [112, 189, 218] [59] [50] [101]

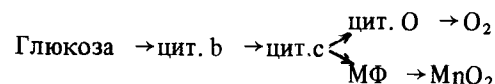
В настоящее время: * - не признан [71, 72]

** - Rhodobacter sphaeroides [145]

Ферментативное восстановление. Тримбл и Эрлих [218] показали, что штамм *Bacillus* sp. № 29 восстанавливает MnO_2 , используя глюкозу в качестве донора электронов. MnO_2 также восстанавливают культуры покоящихся клеток и клеточные экстракты *Bacillus* sp 29 [97, 219]. Высказано мнение, что для восстановления MnO_2 необходим индуктор в форме Mn^{2+} или Mn^{4+} . Реакции суммированы ниже:

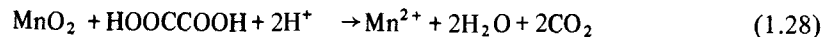
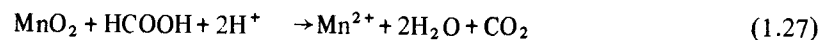


Некоторые морские бактерии также восстанавливают MnO_2 подобным путем [111, 112]. В этих реакциях MnO_2 служит конечным акцептором электронов и связан с электронтранспортной системой. Предполагается, что в восстановлении MnO_2 участвуют b, c и O цитохромы, а также металлофермент (МФ) по вероятному пути:



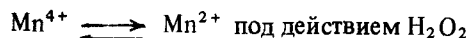
Ряд микроорганизмов, например *V. polymyxa*, имеющих нитратредуктазу, восстанавливают Mn^{4+} в процессе диссимиляционной нитратредукции [178, 193, 194]. У *A. calcoaceticus* восстановление Mn^{4+} происходит в результате действия ассимиляционной нитратредуктазы [25].

Неферментативное восстановление марганца. Некоторые бактерии и, вероятно, многие грибы восстанавливают MnO_2 косвенным путем, благодаря выделению различных метаболитов. Самыми активными восстановителями марганца являются муравьиная и щавелевая кислоты, взаимодействие которых с MnO_2 описывается следующими уравнениями [109]:

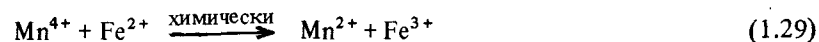


Такой путь восстановления Mn^{4+} является наиболее эффективным из известных для выщелачивания этого элемента [59].

Известен также перекисный механизм восстановления и окисления марганца [13, 24, 57]. Этот путь восстановления Mn^{4+} зависит от активности каталазы бактерий и от ряда факторов среды, как например, концентрации органического субстрата. В кислой и нейтральной средах восстановление Mn^{4+} происходит в соответствии с реакцией:



Существуют и другие пути восстановления марганца. Например, при наличии ионов закисного железа осуществляется химическая реакция [13, 57]:



Как известно, потенциал MnO_2 в кислой среде равняется 1,23 В. Поэтому в кислых условиях восстановление Mn^{4+} закисным железом происходит и в аэробных или микроаэрофильных условиях.

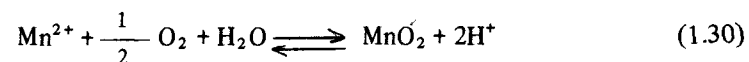
Восстановление Mn^{4+} происходит также химически в присутствии сульфидных минералов, серы, сероводорода и сернистого газа [22, 144, 179]. Однако, присутствие *T. thiooxidans* способствует этим процессам. Высказано предположение, что *T. thiooxidans* использует двуокись марганца в качестве акцептора электронов при окислении серы [227].

Сернистый газ восстанавливает Mn^{4+} до MnS_2O_6 . Дитионит марганца окисляется *T. thiooxidans* до $MnSO_4$.

При выщелачивании марганца из руд следует иметь в виду, что Mn^{2+} в растворе при соответствующих условиях может окисляться микроорганизмами до Mn^{4+} и осаждаться.

Прямое или ферментативное окисление марганца. У бактерий известны три различных механизма окисления марганца. Два из них включают окисление свободных ионов Mn^{2+} и один — окисление ионов Mn^{2+} , связанных с окислами Mn^{4+} .

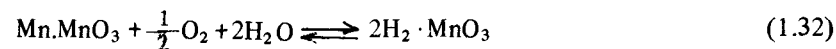
Механизм 1. Окисление свободных ионов Mn^{2+} катализируется оксидазами конститутивными или индуцибельными, которые передают электроны на O_2 посредством цитохромов:



Механизм 2. Окисление ионов Mn^{2+} катализируется каталазой в реакции с перекисью (H_2O_2):



Механизм 3. Mn^{2+} , связанный с Mn^{4+} , окисляется с помощью марганцевой оксидазы, которая передает электроны на O_2 посредством цитохромов. Этот конститутивный фермент свободные ионы Mn^{2+} не окисляет.



Ферментативный механизм окисления Mn^{2+} установлен у *Sphaerotilus discophorus* (в настоящее время *Leptothrix discophora*). Свободная энергия при pH 7,0 для вышеупомянутой реакции составляет $-16,3 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$ [108], что достаточно для генерации 1 молекулы АТФ.

Arthrobacter sp штамм В окисляет Mn^{2+} в соответствии с механизмом 1. Ферменты, участвующие в окислении Mn^{2+} , вероятно, локализованы в цитоплазматической мембране [110]. У *Arthrobacter* sp № 37, изолирован-

ного из глубоководных океанических осадков и железомарганцевых конкреций, обнаружена конститутивная ферментная система, которая окисляет связанный Mn^{2+} ($Mn-MnO_3$). Этот микроорганизм не может окислять ионы Mn^{2+} до тех пор, пока они не связаны с MnO_2 или с синтетическим окислом $Mn-Fe$, или с субстратом из конкреций [107]. Реакция окисления протекает в две стадии. Вторая стадия протекает в соответствии с механизмом 3. Ферментные системы этого микроорганизма охарактеризованы Эрлихом [108].

У двух различных штаммов *Oceanospirillum* sp. показано участие цитохрома с в окислении Mn^{2+} [64]. Подобный механизм окисления Mn^{2+} обнаружен Эрлихом у *Arthrobacter* sp № 37 и у шести других штаммов морских бактерий [108]. Микроорганизмы, упомянутые выше являются гетеротрофами.

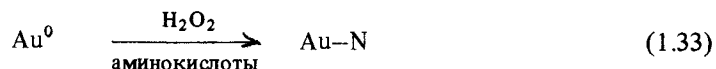
Ферментативное окисление Mn^{2+} было продемонстрировано также в бесклеточных экстрактах *Pseudomonas* sp. и *Citrobacter freundii* [102, 103]. Дубинина показала, что *Leptothrix pseudoochracea*, *A. siderocapsulatus* и *Metallogenium* окисляют Mn^{2+} H_2O_2 с помощью каталазы (механизм 2) [13].

Неферментативное окисление Mn^{2+} . Известно, что некоторые группы микроорганизмов образуют метаболиты, которые окисляют Mn^{2+} [88, 89, 153, 216]. При окислении марганец осаждается на поверхности клеток микроорганизмов, как например на гифах грибов и на зигоспорах водорослей *Chlamidomonas* [203], и на клетках *Metallogenium*, *Caulococcus*, *Kuznezovia*, *Pedomicrobium*, *Hyphomicrobium*, *Siderocapsa* (в настоящее время *Arthrobacter*), *Naumaniella* [110].

1.7. МИКРООРГАНИЗМЫ, РАСТВОРЯЮЩИЕ, АККУМУЛИРУЮЩИЕ И ОСАЖДАЮЩИЕ ЗОЛОТО

Растворять самородное золото способны различные микроорганизмы, а также их метаболиты. Наиболее активны представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и ряд других бактерий, выделяющих аминокислоты [29, 39, 160].

Синтезируемые бактериями аминокислоты и белки в щелочной среде (рН 9–10), образуют через атом аминогруппы связь $Au-N$, что приводит к возникновению комплексов в основном анионного характера. Растворение происходит в присутствии окислителей, например, H_2O_2 :



Окислитель (перекиси) может быть образован самим микроорганизмом. Однако, на практике его лучше вносить извне. В кислой среде аминокислоты восстанавливают ионные формы золота до металла, в результате образуется так называемое „новое” золото.

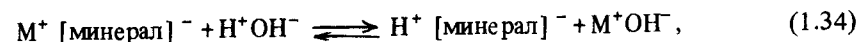
В аккумуляции и осаждении золота принимают участие бактерии, дрожжи, мицелиальные грибы и микроформы водорослей [8, 37, 49, 160].

1.8. МИКРООРГАНИЗМЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ДЕСТРУКЦИИ СИЛИКАТОВ

1.8.1. Механизм деструкции силикатных минералов

Микробиологическая деструкция силикатов изучается либо с целью обескремневания низкосортного минерального сырья (например, бокситов), либо с целью извлечения полезных компонентов (Al, Ti, U, Au и других) из силикатных и алюмосиликатных пород и минералов.

Механизмы, определяющие воздействие микроорганизмов на силикаты, не изучены. По имеющимся данным [7, 35, 205] в основе химического деструктирования силикатов лежат процессы гидролиза, которые в общем виде описываются реакцией:



где $M^+ [\text{минерал}]^-$ – исходный минерал;

$H^+ [\text{минерал}]^-$ – выветрелый минерал,

M^+ – катион.

Из этого уравнения, представляющего собой равновесную реакцию, видно, что любой процесс, который изменяет концентрации реагентов или конечного продукта, будет влиять на протекание реакции гидролиза.

Экспериментально показано, что в присутствии микроорганизмов процессы деструкции силикатов протекают более активно [3, 7, 74, 205].

Как известно, ряд микроорганизмов являются активными продуцентами минеральных и органических кислот и комплекссообразователей. Можно предположить, что механизм микробиологической деструкции силикатных минералов косвенный и связан с активизацией процессов гидролиза и комплекссообразования.

1.8.2. Характеристика микроорганизмов, деструктирующих силикаты

В процессах деструкции силикатных и алюмосиликатных минералов участвуют представители различных систематических групп микроорганизмов [3, 7, 205], а именно: **Автотрофные микроорганизмы:** диатомовые водоросли, *Thiobacillus* sp., *Thiobacillus thioararus*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Nitrosospira briensis*, *Nitrobacter vinogradskyi*; **Гетеротрофные микроорганизмы:** *Aspergillus niger*, *Cephalosporium* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium glaucum*, *Penicillium brevicaulis*, *Penicillium expansum*, *Penicillium notatum*, *Penicillium simplicissimum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichoderma lignorum*, *Spicaria* sp., *Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium* sp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* sp. **Популяции микроорганизмов:** популяции почвенных микроорганизмов. **Симбиотические культуры:** лишайники. Как правило, это широко известные микроорганизмы, описание которых можно найти в соответствующих определителях [70–72, 120, 198, 214]. Исключение составляет

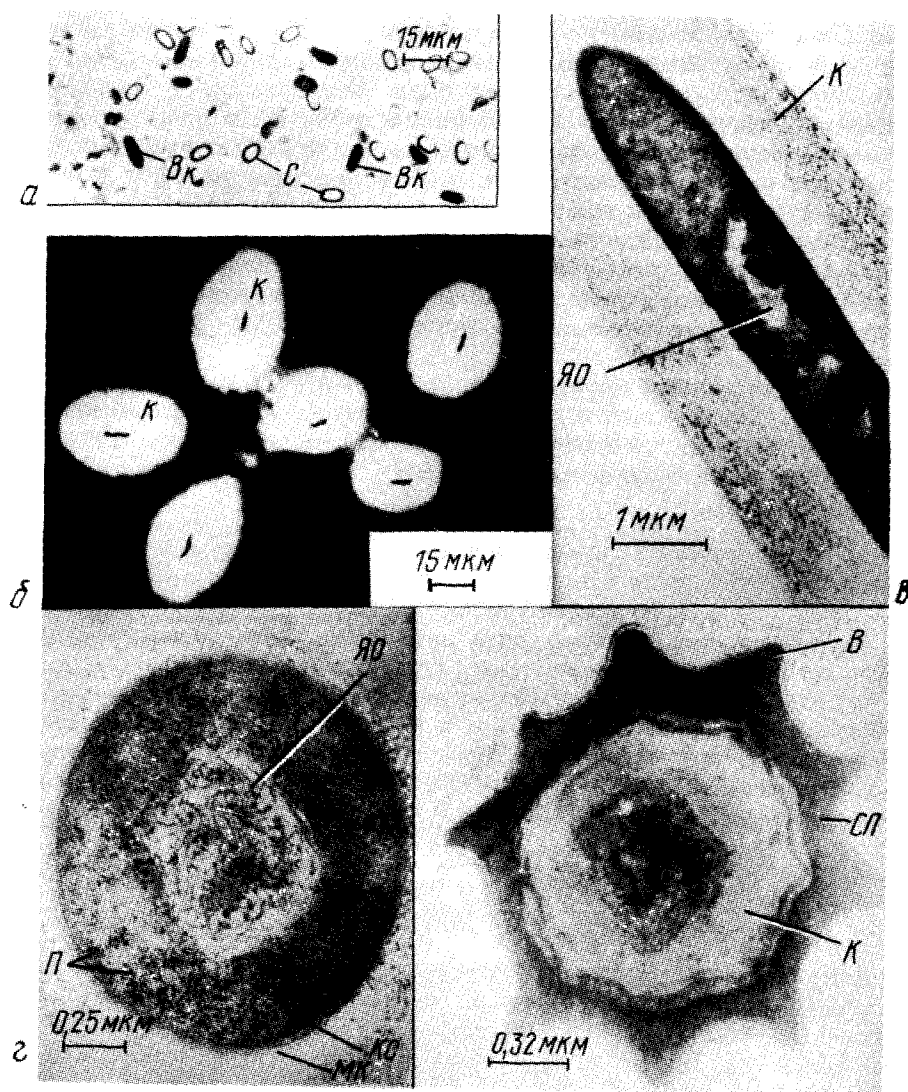


Рис. 1.14. Клетки и споры *B. mucilaginosus*:

а – вегетативные клетки и споры (24-х часовая культура на картофельном агаре, фазовый контраст), С – споры; Вк – вегетативные клетки; б – вегетативные клетки и капсулы (48-часовая культура на среде Эшби, окраска тушью, фазовый контраст, К – капсула) в – г – ультратонкие срезы вегетативных клеток: К – капсула; МК – микрокапсула; КС – клеточная стенка; П – полирибосомы; ЯО – ядерная область; д – ультратонкий срез спор: К – кортекс; В – выросты; СП – споровые покровы

B. mucilaginosus. Эта бактерия близка к видам *B. circulans* и *B. polymyxa*. Однако, по имеющимся данным [5] она не может быть отнесена ни к одному из этих видов. Учитывая, что данный вид широко используется в исследованиях и пока не включен в определитель Берги [70–72], приводим более подробное его описание.

B. mucilaginosus. Впервые выделен из различных почв и описан Александровым и Зак [6]. Впоследствии другие авторы выделяли этот вид из некоторых горных пород [5].

Свойства *B. mucilaginosus* приведены в табл. 1.14, а клетки на рис. 1.14.

Хорошо растет на синтетических средах с углеводами и соединениями азота и на картофельном агаре. На этих средах проходит полный цикл развития, заканчивающийся спорообразованием. При росте на среде Эшби спорообразование ингибируется. На МПА, МПБ, МПЖ не растет.

Колонии на картофельном агаре: светлосерые, гладкие, плоские, с ровным краем, влажные, блестящие.

Рост на ломтике картофеля: обильный, светлосерый.

Колонии на среде Эшби: выпуклые, полупрозрачные, слизистые, край ровный, консистенция вязкая, диаметр колоний – до 10 мм.

Таблица 1.14

Свойства *B. mucilaginosus* ВКМ 1480 Д [5]

Признаки	<i>B. mucilaginosus</i> ВКМ 1480 Д
Форма и размер клеток (мкм)	Палочки, 1,0–1,2х4–7
Подвижность	–
Форма и размер спор (мкм)	Овальная, 1,1х1,7–2,0
Гребневидные выросты	+
Расположение спор в спорангии	Центральное, субтерминальное
Температура (оптимум), °С	10–42 (37–40)
Пределы (оптимум) pH	5,5–9,5 (7,5–9,0)
Отношение к O ₂	Аэроб
Рост на средах с NaCl:	
1%	+
2%	–
Образование:	
кристаллических декстринов	–
дигидроксиацетона	–
Денитрификация	–
Гидролиз:	
казеина	–
желатина	–
крахмала	+
Источники азота	NH ₃ ⁺ , мочевины
Использование:	
цитрата	+
фумарата	–
Образование кислот из:	
L-арабинозы	+
D-маниозы	+
сорбита	+
Содержание Г+Ц в ДНК, мол.%	59

Молоко не осветляет и не коагулирует, хотя наблюдается слабый рост и слизьеобразование.

Индол не образует, на среде с тиосульфатом не образует H_2S .

Использует в качестве единственного источника углерода и энергии следующие соединения: крахмал, целлобиозу, глюкозу, сахарозу, фруктозу, арабинозу, галактозу, лактозу, ксилозу, мальтозу, трегалозу, раффинозу, сорбозу, сорбит, инозит, маннит, глицерин, малонат, цитрат, лактат.

Не использует целлюлозу, галактозу, этанол, бутанол, арабит, формиат, ацетат, пропионат, бутират, олеат, сукцинат, тартрат, α -кетоглутарат.

Рост на углеводах и многоатомных спиртах сопровождается образованием органических кислот, газ не выделяется.

Нитрит из нитрата в аэробных условиях не образует, не использует нитрат как акцептор электронов в анаэробных условиях.

1.9. МИКРООРГАНИЗМЫ, АККУМУЛИРУЮЩИЕ МЕТАЛЛЫ ИЗ РАСТВОРОВ

Микроорганизмы способны аккумулировать катионы различных металлов, извлекая их из растворов. Активность в аккумуляции металлов проявляют живые и мертвые клетки. Это может быть использовано как для извлечения ценных металлов из растворов, так и для очистки промышленных сточных вод от металлов. Активность и селективность процессов извлечения металлов из растворов определяется особенностями микроорганизма, свойствами сорбируемых элементов и физико-химическими факторами среды (например, pH).

Можно выделить два основных механизма аккумуляции:

- 1) связывание ионов металлов компонентами поверхности клеток (биосорбция);
- 2) внутриклеточная аккумуляция, связанная с активным и пассивным транспортом катионов металлов.

Количество сорбированных элементов может составлять до 15–30% от веса сухой биомассы [95, 208, 209, 222, 223].

В таблице 1.15 приведен перечень наиболее активных в аккумуляции металлов видов. Это хорошо известные микроорганизмы, характеристики которых приводятся в соответствующих определителях [70–72, и др.]. Данный перечень показывает, что способность аккумулировать металлы широко распространена среди микроорганизмов различных систематических групп. Но для большинства приведенных в списке видов имеются сведения только об аккумуляции отдельных элементов. Есть все основания полагать, что дальнейшие исследования не только расширят список микроорганизмов, активных в сорбции металлов, но и покажут, что перечень катионов, сорбируемых отдельными видами не ограничивается приведенными в табл. 1.15.

Т а б л и ц а 1.15

Микроорганизмы, активные в сорбции и аккумуляции металлов

Микроорганизмы	Катионы металлов	Литература
Автотрофные бактерии		
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , UO_2^{2+} , Ag^+ , Au^{3+}	[100]
Цианобактерии	Cd^{2+} , Au^{3+}	[122, 188]
Водоросли		
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+}	[137, 180]
<i>Chlorella regularis</i>	UO_2^{2+} , Mo	
Неидентифицированные водоросли	UO_2^{2+} , Mo, катионы других тяжелых металлов	[80, 82, 114, 115, 200]
Гетеротрофные бактерии		
<i>Acinetobacter</i> sp.	UO_2^{2+}	[239–241]
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Cd^{2+}	[207]
<i>Bacillus subtilis</i>	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+}	[75, 94]
<i>Bacillus cereus</i>	Au^{3+} , UO_2^{2+}	[104, 5, 165, 181]
<i>Escherichia coli</i>	Cd^{2+}	[159]
<i>Gluconobacter oxydans</i>	Cd^{2+}	[165]
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Co^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+}	[91]
<i>Leptothrix discophora</i>	Mn, Fe^{3+}	[118]
<i>Pseudomonas</i> sp.		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , UO_2^{2+} , Th	[165, 170, 171, 181, 208]
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
<i>Pseudomonas putida</i>		
<i>Pseudomonas saccharophila</i>		
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		
<i>Sphaerotilus natans</i>	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+}	[138]
<i>Zoogloea ramigera</i>	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , UO_2^{2+} , Zn^{2+}	[106, 182–184]
Смешанные культуры бактерий	Ag^+ , UO_2^{2+} , Ni^{2+}	[95, 209]
Актиномицеты		
<i>Actinomyces flavoviridis</i>	Th, UO_2^{2+}	[113, 141, 180, 181, 222]
<i>Streptomyces niveus</i>		
<i>Streptomyces albus</i>		
<i>Streptomyces cineruber</i>		
<i>Streptomyces echinatus</i>		
<i>Streptomyces scabies</i>		
<i>Streptomyces viridochromogenes</i>		
Дрожжи		
<i>Candida lipolytica</i>	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}	[113, 181, 184, 186]
<i>Candida utilis</i>		
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>		

Таблица 1.15, продолжение

Микроорганизмы	Катионы металлов	Литература
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
<i>Rhodotorula glutinus</i>		
Мицелиальные грибы		
<i>Aspergillus niger</i>	Co^{2+} , Ra^{2+} , Th , UO_2^{2+}	[104, 113, 141, 181, 220]
<i>Aspergillus ustus</i>		
<i>Aspergillus oryzae</i>		
<i>Aspergillus terreus</i>	Co^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}	[181]
<i>Fusarium sp.</i>		
<i>Mucor rouxii</i>		
<i>Fusarium oxysporum</i>	Th , UO_2^{2+}	[113, 141, 181, 220–223, 229]
<i>Penicillium chrysogenum</i>		
<i>Penicillium levitum</i>		
<i>Penicillium ochrochloron</i>		
<i>Rhizopus arrhizus</i>		
<i>Rhizopus javanicus</i>		
<i>Rhizopus oligosporus</i>		
<i>Rhizopus oryzae</i>		

Глава 2

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ,
УЧЕТА И ИЗУЧЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

В настоящей главе приводятся методы выделения, количественного учета, определения активности и изучения микроорганизмов, нашедших применение в практике бактериального выщелачивания и при очистке промышленных сточных вод. В основном это бактерии, окисляющие S^0 , Fe^{2+} , сульфидные минералы и сульфатвосстанавливающие бактерии.

Такие процессы как деструкция силикатных минералов, выщелачивание марганца, золота и других элементов, биосорбция металлов вызываются широким спектром известных микроорганизмов и еще не нашли практического применения. Поэтому в настоящей главе приведены методы выделения только тех видов, которые используются в исследованиях, но не вошли в известные руководства.

2.1. ВЫДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

Выделение микроорганизмов, важных для гидрометаллургии, проводят путем высева соответствующих проб руды или растворов на питательные среды. Таким путем получают накопительные культуры. Даже при использовании селективных сред накопительные культуры помимо выделяемых микроорганизмов содержат и другие виды. Поэтому выделение чистых культур зачастую представляет значительные затруднения. Ниже приводятся методы получения как накопительных, так и чистых культур бактерий, наиболее перспективных для использования в гидрометаллургии.

2.1.1. Ацидофильные бактерии рода *Thiobacillus*
T. ferrooxidans [22, 152, 168, 176]

Получение накопительной культуры [22]. В колбы Эрленмейера на 100 мл вносят 30 мл стерильной среды Сильвермана и Люндгрена 9К (№2) и пробы рудничной воды или руды из месторождений сульфидных руд, затем инкубируют при 30°C до появления роста. О развитии бактерий судят по появлению бурой окраски среды, вызванной образованием соединений трехвалентного железа. Для выделения штаммов бактерий, активных в окислении сульфидных минералов и устойчивых к ионам тяжелых металлов, целесообразно использовать в качестве энергетического суб-

страта вместо закисного железа сульфидные минералы, а также добавлять в состав среды ионы тяжелых металлов.

Выделение чистой культуры. Чистую культуру можно выделить, используя твердую агаризованную среду 9К [168, 176]. Однако, лучше использовать гелевые пластинки, пропитанные средой Летена (№1) или средой 9К (№2) [22, 143] или плотные среды, приготовленные на полиакриламидном геле. На плотных средах появляются мелкие колонии рыжевато-коричневого цвета.

Из колоний, выросших на твердой среде, проводят отсев в небольшие объемы (4–6 мл) жидкой питательной среды с Fe^{2+} (№ 2) или в колбочки с сульфидными минералами. Затем проверяют чистоту культуры.

Для выделения чистой культуры *T. ferrooxidans* можно использовать метод разведений. Из накопительной культуры, в которой по данным анализов имеется, например, $10^7 - 10^8$ клеток *T. ferrooxidans* берут 1 мл раствора и разбавляют в 10, 100 ... 1 млн. и 10 млн. раз. Можно ожидать, что в последние разведения попадут единичные клетки бактерий. Из последних разведений делают предпочтительно рассевы на среду 9К с соответствующими источниками энергии (Fe^{2+} , сульфидные минералы).

Чистая культура *T. ferrooxidans* может быть получена на среде Летена (№ 1), содержащей 400 мг/л Fe^{2+} или на среде 9К (№ 2), содержащей 9 г/л Fe^{2+} при добавлении от 1 до 5 г/л Cu^{2+} ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Гетеротрофные спутники в присутствии ионов меди погибают [152].

Проверка чистоты. Как уже отмечалось выше, спутниками *T. ferrooxidans* могут быть факультативные автотрофы *T. acidophilus* (*T. organoparus*), хемолитоавтотроф *T. thiooxidans*, гетеротрофы *A. sturtum* и другие. Для оценки чистоты культуры *T. ferrooxidans* проводится посев на среды для вышеуказанных бактерий, а также на МПА, МПБ, среду Эшби (№ 27), картофельный агар, крахмало-аммиачный агар, сусло-агар, а также на среду с глюкозой и Fe^{2+} .

Поддержание и хранение культуры. Культура *T. ferrooxidans* поддерживается на жидкой среде 9К (№ 2) с Fe^{2+} или на той же среде с сульфидными минералами в холодильнике при 4°C. Пересев проводится не реже 1 раза в месяц. Известны методы длительного хранения *T. ferrooxidans*. Ряд из них приводится ниже.

1) Смешивание с инертным или слабодеградирующим субстратом.

а) Культуру бактерий выращивают в колбах Эрленмейера на 250 мл на жидкой среде 9К в течение 48 часов на качалке, затем помещают в стерильные пробирки или ампулы со смесью песка и пирита, взятых в соотношении 1:3, и герметично закрывают. Можно использовать и другие соотношения песка и пирита. Песок и пирит предварительно промывают и высушивают. Ампулы запаивают, а пробирки закрывают резиновыми пробками и парафинируют. Смесью песка и пирита вносят в количестве 2–3 г на 1–2 мл культуры плотностью 10^9 кл/мл, при pH 2–2,5 и Eh 350–370 мВ. Fe^{2+} вносят в концентрации 4,5–4,7 г/л. В таком виде культуру хранят при комнатной температуре 2,5–3 года [16].

б) Готовят суспензию клеток *T. ferrooxidans* с определенным числом клеток, ампулы с 1 г халькопирита стерилизуют автоклавированием при

121 °C в течение 20 мин на протяжении трех дней, стерилизуют шприц и иглы к шприцу.

Затем определенное количество этой культуры (суспензия клеток) вносят с помощью стерильного шприца в стерильные ампулы с инертным носителем—лигнитом или халькопиритом* (медленно окисляющийся субстрат). Ампулы запаивают и хранят при комнатной температуре, периодически определяя число жизнеспособных клеток.

Хранящаяся таким образом культура остается активной в течение года.

Гупта и Агате [133] смешивали суспензию клеток *T. ferrooxidans*, содержащую 10^{12} кл/мл с 1 г лигнита или 1 г халькопиритсодержащей руды. После 8 месяцев хранения окислительная активность бактерий снижалась на халькопиритной руде на 5%, на лигните — на 30%.

2) Лиофилизация.

Метод длительного хранения *T. ferrooxidans* предложен Манхе [167]. Суть его состоит в быстром замораживании клеток. *T. ferrooxidans* выращивают при 30 °C на среде с Fe^{2+} при pH 1,6. При этом значении pH среды осаждение соединений Fe^{3+} не происходит. Затем из пипетки по каплям 48–72-часовую культуру вносят в стеклянный сосуд, содержащий жидкий азот. Сосуд помещают в сетку из медной проволоки и погружают в блок с полистироловой пеной. Затем замороженные капли с культурой переносят в охлажденный сосуд объемом 2 мл, который закрывают и погружают в вакуумированный сосуд с жидким азотом при температуре от –120 до –180 °C.

Показано, что при таком способе хранения *T. ferrooxidans* не теряет железоокисляющей активности даже через 36 мес., в то время как при хранении при +4 °C бактерии полностью теряли активность после 12 мес. хранения.

Высушивание клеток в вакууме проводят также на среде следующего состава: порошок снятого молока, 100 г; глутамат натрия, 10 г; H_2O дист. — 1 л [121]. Среда готовят с незначительным количеством дистиллированной воды и перемешивают так, чтобы не было комков. Затем добавляют остаток воды и перемешивают с помощью миксера. Стерилизацию проводят в автоклаве 15 мин при 121 °C и 1 атм.

В каждую пробирку помещают 0,2 мл высушенной среды и 1 петлю бактерий с тиосульфат-агаровой среды*, или, например, 0,3 мл центрифугата (5 мин, при 6000 x g), полученного из 50 мл культуры, выращенной на среде с серой**. При этом в сухую среду должно попасть некоторое количество серы, так как клетки *T. ferrooxidans* находятся в контакте с ней. Среда, используемая для лиофилизации *T. ferrooxidans*, действовала тормозяще на его рост при дальнейшем выращивании. Поэтому, при дальнейших

* Агаризованная среда с тиосульфатом.

KH_2PO_4 , 2,0 г; NaCl , 1,0 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 г; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 г; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,03 г; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,02; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,02 г; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10,0 г; Йон-Агар № 2 (Oxoid), 10,0 г; H_2O дист. — 1 л, pH 4,4–4,6.

** Среда с серой. Соответствует среде с $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (*), но вместо тиосульфата добавляют стерильную сублимированную серу.

пересевы поступают следующим образом: лиофилизированные клетки (около 10^{-4} Торг) переносят в железосодержащую среду*** объемом 0,3 мл. В течение 30 мин время от времени встряхивают и переносят на мембранный фильтр, простерилизованный в автоклаве 15 мин при 121°C и 1 атм. Затем три раза промывают 20 мл среды, содержащей Fe^{2+} .

Мембранный фильтр с клетками помещают в 50 мл среды с Fe^{2+} в колбе Эрленмейера на 300 мл при 28°C. После 21 дня инкубации наблюдается интенсивный рост.

Хранить лиофилизированные культуры лучше в темноте при температуре от 4 до 8°C.

3) Хранение в жидком азоте [133].

1 мл, суспензии клеток, содержащей $1,8-2,0 \times 10^{12}$ клеток смешивают с 1 мл стерильного глицерина (10%). Капилляры с внутренним диаметром 1 мм и длиной 2,5 см погружают в суспензию клеток с глицерином, затем запаивают с обеих концов и помещают в жидкий азот. После 8 месяцев хранения активность бактерий снижалась не более чем на 15%.

T. acidophilus (*T. organoparus*) [34, 132]

Получение накопительной культуры *T. acidophilus*. В питательную среду 9К (№ 2), содержащую глюкозу (0,01–1,0%) и 2 мг – 2 г/л Fe^{2+} , вносят посевной материал. Может быть использована также среда Летена, содержащая вместо Fe^{2+} глюкозу (5,0–10,0 г/л) и имеющая pH 3,0 (№ 1).

Выделение чистой культуры. Колонии *T. acidophilus* выделяют на агаризованной среде 9К с глюкозой вместо Fe^{2+} при 25°C и pH 4,5. Путем пересевов колоний на жидкую среду получают чистую культуру. Маркосян выделил чистую культуру этих бактерий на силикагелевых пластинках, пропитанных глюкозо-минеральной средой (№ 1, с глюкозой). Глюкозу добавляют вместо Fe^{2+} . Колонии пересевают на жидкую среду Ваксмана с элементной серой (№ 9).

Поддержание культур. *T. acidophilus* поддерживают на среде 9К с глюкозой, содержащей 1 мг/л закисного железа при 25°C. Пересевы делаются один раз в неделю. На среде с серой (1%), содержащей 1 мг/л Fe^{2+} , пересевы делаются 1 раз в 2 недели. Культуру поддерживают также на агаризованных средах при 5°C в течение 1 месяца.

Thiobacillus thiooxidans [22, 230]

Получение накопительной культуры. Жидкую питательную среду Ваксмана с серой (№ 9) засевают пробами рудничной воды или руды и инкуби-

*** Среда с Fe^{2+} . Раствор А: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,05 г; KH_2PO_4 , 0,1 г; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0,1 г; H_2O дист., 700 мл.

Раствор В: раствор следов элементов SL4 по Пфеннигу: ЭДТА (динатриевая соль) 500 мг; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 200 мг; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 мг; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,3 мг; H_3PO_3 , 30 мг; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 20 мг; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 мг; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2 мг; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 3 мг. H_2O дист. – 1 л; pH-3-4, добавляют 10 мл/л среды.

Раствор С: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 45 г, H_2O дист. – 300 мл.

Растворы А, В и С объединяют и стерилизуют фильтрацией.

руют в термостате при 28–30°C. Через 3–4 дня появляется помутнение среды, а pH ее снижается. В накопительной культуре часто присутствуют *T. ferrooxidans* и другие ацидофильные бактерии, окисляющие серу и ее соединения, а также гетеротрофы, особенно мицелиальные грибы.

Выделение чистой культуры. Для выделения чистой культуры используют твердую среду Ваксмана с тиосульфатом (№ 10). Для приготовления среды используется очищенный агар или агар Дифко. Через 3–10 дней на поверхности агаровых пластинок появляются очень мелкие колонии *T. thiooxidans*. Мицелиальные грибы на этой среде растут плохо. Для получения чистой культуры из колоний, выросших на твердой среде, производят массовый посев в пробирки на среду № 9. О развитии *T. thiooxidans* судят по снижению реакции среды до pH 2,0 и ниже и по ее помутнению.

Поддержание культуры. *T. thiooxidans* поддерживают на жидкой среде с элементной серой (№ 9) в холодильнике при 5°C. Пересев проводят не реже 1 раза в месяц.

Термофильные железо- и сероокисляющие бактерии, близкие к тиобациллам [174]

Получение накопительной культуры. Пробы воды и осадков из терм. образцы угля и промывные воды вносят в среду № 11, содержащую Fe^{2+} ($\text{FeSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) или пирит (FeS_2) и помещают при 50 и 65°C. В среду добавляют дрожжевого экстракта, в отсутствие его – тиосульфат (0,2 г/л) как источник восстановленной серы.

Выделение чистой культуры. Чистую культуру получают на среде Маннинга (№ 3), используя серийные разведения и агаризованные среды с Fe^{2+} ($\text{FeSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). При 50°C в среду добавляют K_2HPO_4 и $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (конечная концентрация в среде 0,01 и 0,2 г/л соответственно). Культуры на агаризованных средах инкубируют при 50°C в атмосфере 5% (об) CO_2 . Колонии высевают в жидкую среду, содержащую $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ и Fe^{2+} . Среда обогащают CO_2 . Пересев повторяется несколько раз.

Поддержание культуры. Выделенные штаммы поддерживают частыми пересевами на среде № 11 без дрожжевого экстракта. Вуд и Келли [236] сообщили о трех подобных железоокисляющих бактериях, способных окислять Fe^{2+} , FeS_2 . Эти штаммы поддерживались также на среде № 11.

Thiobacillus-подобные бактерии [83, 163]

Среды № 9 и № 10 засевают пробами воды и инкубируют при 50°C. Используют также эти среды с добавлением 0,02% (вес/об) дрожжевого экстракта 0,2% (об/об) раствора следов металлов, среду 9К без Fe^{2+} , но с сульфидными минералами или с серой. Культуры инкубируют в стационарных условиях и на качалках при 200 об/мин при температуре 50°C.

Для роста этих бактерий используют также среду № 1, содержащую Fe^{2+} .

2.1.2. Под *Sulfobacillus*

S.thermosulfidooxidans [9] и *S.thermosulfidooxidans* subsp. *asporogenes* [32].

Получение накопительной культуры. Активные культуры получают при высеве проб руды на среду, содержащую S^0 , Fe^{2+} , сульфидные концентраты, пирит и 0,02% дрожжевого экстракта Дифко (№ 12).

О развитии *S.thermosulfidooxidans* судят по помутнению среды, ее подкислению, а на среде с Fe^{2+} и по цвету (красно-бурый). Колонии получают на тех же агаризованных средах.

Выделение чистой культуры. Чистую культуру выделяют методом предельных разведений. Для устранения неспорозных спутников *S.thermosulfidooxidans* прогревают при 100°C в течение 30 мин. Чистоту культуры проверяют высевами на мясо-пептонные и картофельно-пептонные среды, тиосульфатный агар, а также на агаризованную среду № 12 с Fe^{2+} , Fe^{2+} и глюкозой 0,1% или с одной глюкозой (0,1%).

Поддержание и хранение культур. *S.thermosulfidooxidans* поддерживается в лабораторных условиях на среде № 12 с сульфидными концентратами или пиритом в качестве источника энергии. Добавляют также дрожжевой экстракт (0,2 г/л). Пересевать культуру можно не чаще одного раза в месяц.

Sulfobacillus thermosulfidooxidans subsp. *thermotolerans* [27]

Получение накопительной культуры. В среду Маннинга (№ 3) с Fe^{2+} вносят руду или рудничную воду. О развитии бактерий судят по окислению Fe^{2+} и появлению бурой окраски.

Выделение чистой культуры. Чистую культуру выделяют, используя твердую агаризованную среду Маннинга при добавлении органических веществ в концентрации 0,01–0,1% (глюкоза, крахмал, мочевины, дрожжевой экстракт). Затем производят рассев отдельных колоний на жидкую среду.

Поддержание культуры. Чистую культуру поддерживают на среде Маннинга (№ 3) с сульфидными минералами.

2.1.3. Под *Sulfolobus* [86], *S.acidocaldarius*

Получение накопительной культуры. Наиболее простым приемом для получения накопительной культуры *S.acidocaldarius* является добавление 0,1% подкисленного раствора дрожжевого экстракта к пробам воды из источников и инкубирование при 70°C. После 3–7 дней появляется сильное помутнение, часто на поверхности среды образуется пленка. При микроскопировании среды видно большое количество типичных для *Sulfolobus* клеток. В дальнейшем культуру пересевуют на среду № 13, содержащую 0,1% дрожжевого экстракта. При выделении культуры из почвы около 0,1–0,5 г почвы вносят в среду, содержащую 0,1% дрожжевого экстракта. Для гетеротрофно растущей культуры устанавливают pH 2,0. Однако, когда накопительную культуру получают при 55°C, для предотвращения роста *Vacillus acidocaldarius* pH устанавливают 1,0.

При получении накопительной культуры *S.acidocaldarius* пробу воды или почвы добавляют к среде, содержащей около 1% элементной серы, и устанавливают pH 3,0.

Выделение чистой культуры. Колонии *Sulfolobus* получают на агаризованной среде № 13 с 0,1% дрожжевого экстракта. Однако рост не воспроизводится на этой среде [86]. Циллиг и др. [238] для получения чистой культуры использовали гелевые пластинки. Рост колоний наблюдается после 2–3 дней инкубации при 85°C. В течение 1 недели колонии вырастают до их максимального размера (около 2 мм). Из отдельных колоний бактерии пересевуют на жидкую среду № 13.

Поддержание культуры. Чистые культуры поддерживают на среде № 13 или на той же среде с pH 6,0 при 4°C с интервалами в пересевах 1 месяц.

2.1.4. Под *Acidianus* [204]

Acidianus infernus и *Acidianus brierleyi*. Для получения накопительной культуры *A.infernus* в среду № 14 вносят пробы воды (5%) и инкубируют в присутствии S^0 в атмосфере H_2-CO_2 (80:20 об/об) при 85°C в анаэробных условиях. Чистая культура *A.infernus* получена из накопительной культуры путем последовательных серийных разведений. Колонии получают на твердой среде, содержащей 9% крахмала, около 12 г коллоидной серы и 0,2 г дрожжевого экстракта в 1 л воды, инкубируя культуру после посева при 80°C в газовой среде H_2-CO_2 .

Для выделения *A.brierleyi* используют среду № 14, содержащую в качестве источника энергии серу или Fe^{2+} ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), а также 0,02% дрожжевого экстракта. Инкубируют при 60°C.

Доказательством чистоты выделенных культур была генетическая идентичность (уровень гомологии ДНК) аэробно и анаэробно растущих клеток и очень короткая лаг-фаза при росте после посева из аэробных в анаэробные условия.

2.1.5. Под *Leptospirillum*

L.ferrooxidans [33] и *L.ferrooxidans* ИНМИ 17 [19]

Получение накопительной культуры. Питательные среды Летена (№ 1) или 9К (№ 2) засевают пробами рудничной воды или руды из месторождений сульфидных руд. О развитии судят по появлению бурой окраски среды от образования сернокислых соединений окисного железа. Норрис [185] в качестве источника энергии использовал пирит (FeS_2).

Выделение чистой культуры. Для выделения чистой культуры используют силикагелевые пластинки, пропитанные средами № 1 или № 2. При засеве их накопительной культурой появляются микроскопические колонии, окрашенные окислами железа. При пересеве колоний на жидкую среду можно получить чистую культуру. Чистую культуру *Leptospirillum*-подобных бактерий также можно получить из накопительной культуры

путем серийных разведений и посева на твердую среду, содержащую 0,5% (вес/об) агара по Маннингу (№ 3) [168]. K_2HPO_4 (конечная концентрация 0,01 г/л) и $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (конечная концентрация 2,78 г/л) добавляют к среде Маннинга (№ 3), и чашки помещают при 30°C. Чистоту культуры проверяют микроскопированием и посевом на органические среды для гетеротрофов и минеральные среды для тионовых бактерий. Особое внимание следует обращать на возможность присутствия *T. ferrooxidans*, растущего на тех же средах.

Поддержание культуры. Культуру *L. ferrooxidans* поддерживают на минеральных средах с Fe^{2+} при 5°C, пересевая 1 раз в месяц.

2.1.6. Род *Acidiphilium*

***Acidiphilium cryptum* [134].**

Получение накопительной культуры. Питательную среду содержащую триптон, сою и глюкозу (№ 15), засевают почвой или пробам из накопительной культуры *T. ferrooxidans*, pH доводят до 2,0. Инкубируют культуру при 28°C на качалках. Спустя несколько дней культуру пересевают на агаризованную триптон-соевую среду с глюкозой.

Получение чистой культуры. Чистую культуру *A. cryptum* получают из отдельных колоний.

Поддержание культуры. *A. cryptum* поддерживают на агаризованной триптон-соевой среде, содержащей глюкозу, в холодильнике, пересевая 1 раз в месяц.

2.1.7. Другие гетеротрофные спутники *T. ferrooxidans*

Для выделения гетеротрофных спутников используют среду Летена (№ 1) с добавлением 0,01–0,02%-ного дрожжевого экстракта, pH устанавливают 2–3 [15].

Чистую культуру спутника можно выделить методом разведений на среде Летена с добавлением дрожжевого экстракта и глюкозы. Джонсон и Келсо [152] и Маннинг [168] для выделения гетеротрофных спутников использовали соответственно среды № 16 и № 17.

2.1.8. Синтрофные ассоциации железо- и сероокисляющих бактерий

Известно, что ряд синтрофных ассоциаций бактерий более активно окисляет сульфидные минералы в автотрофных условиях, чем в монокультурах. К ним относятся: *L. ferrooxidans* и *T. thiooxidans*, *L. ferrooxidans* и *T. organoparus* (*T. acidophilus*), *S. thermosulfidooxidans* и *L. ferrooxidans* *Bacillus lacticogenes* [19, 187, 224]. Они могут быть выделены на соответствующих средах с сульфидными минералами или сульфидными концентратами в качестве источника энергии. На этих же средах их поддерживают при 5°C, пересевая не реже 1 раза в месяц.

2.1.9. Сульфатвосстанавливающие бактерии

При приготовлении сред для сульфатвосстанавливающих бактерий необходимо учитывать следующие факторы.

Питательные среды должны содержать основные минеральные компоненты — набор фосфатов, солей аммония, калий, магний, сульфаты, используемые в качестве акцептора электронов, восстановленное железо.

Поскольку все сульфатвосстанавливающие бактерии являются облигатными анаэробами, обязательно внесение в среду восстановителей. Обычно им служит сульфид натрия. В некоторых случаях применяют тиогликолат натрия, цистеин-сульфид, аскорбиновокислый натрий или дитионит.

Большинство представителей *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum* растут в средах, приготовленных на водопроводной воде, и не требуют дополнительного внесения микроэлементов. Для культивирования других сульфатвосстанавливающих бактерий рекомендуется внесение набора микроэлементов или природной воды, отобранной там же, где и исследуемый штамм. При росте на отдельных субстратах *D. multivorans* и *D. variabilis* проявляют специфические потребности в селените и молибдате [231].

При культивировании сульфатвосстанавливающих бактерий, выделенных из засоленных местообитаний, требуется внесение в среду хлористого натрия. Причем для *D. desulfuricans* subsp. *aestuarii* необходимым компонентом является ион Na^+ , а *D. saxigens* требует присутствия ионов Cl^- . Из солоноватоводных и морских местообитаний Виддель [231] выделил сульфатвосстанавливающие бактерии, облигатно требующие для роста высокие концентрации $NaCl$, $MgCl_2$, $CaCl_2$. К галотолерантным и галофильным бактериям относятся *D. postgatei*, оптимум солености которого 0,7% $NaCl$, а также *D. variabilis*, *D. magnum* и *D. limicola*, имеющие оптимум при 1,5–2% $NaCl$.

Кроме того, в среды для сульфатвосстанавливающих бактерий включают вещества, необходимые для конструктивного метаболизма. К ним относятся дрожжевой экстракт, набор витаминов, высшие жирные кислоты, ацетат. Бактерии родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*, как правило могут развиваться на синтетических средах, но для улучшения роста в среду вносят дрожжевой экстракт. Многие сульфатвосстанавливающие бактерии окисляющие органические вещества до CO_2 , отличаются большей требовательностью к составу среды. Так *D. postgatei* нуждается в пара-аминобензойной кислоте и биотине; *Desulfotomaculum acetoxidans* — в пара-аминобензойной кислоте; *Desulfonema magnum* — в 4-аминобензойной кислоте, биотине и B_{12} . Рост *D. multivorans* стимулируется небольшим количеством высших жирных кислот.

Выделению и очистке бактерий рода *Desulfonema* значительно способствует создание условий, поддерживающих их скользящее движение. Это достигается внесением в среду 0,2% агара или фосфата алюминия [232].

Мезофильные бактерии обычно имеют оптимум развития в интервале температур от 30 до 37°C. Для известных термофильных бактерий *D. nigrificans*, *D. thermophilus* и *T. commune* оптимальны 55, 65 и 70°C соответственно.

Крайними значениями рН, при которых сульфатвосстанавливающие бактерии и процесс сульфатредукции обнаруживаются в природе, являются 2,8 и 9,9 [149, 202]. Для большинства чистых культур оптимально рН значение среды 6,8–7,3.

В среде создают окислительно-восстановительный потенциал, равный –100, –200 мВ. Выделение *D. gigas*, способных расти при $E_h +80$ мВ, проводят на средах со слабым восстановителем – аскорбатом натрия.

Подробные рецепты сред, методы очистки и субстраты, наиболее предпочтительные для выделения отдельных видов сульфат-восстанавливающих бактерий, даны в оригинальных работах [190, 195, 231, 233, 234]. Ниже приводится состав наиболее часто используемых сред, пользуясь которыми можно выделить сульфатвосстанавливающие бактерии.

Сульфатвосстанавливающие бактерии, окисляющие органическое вещество до ацетата. Наиболее благоприятными для выделения, культивирования и изучения свойств сульфатвосстанавливающих бактерий, окисляющих органические вещества до ацетата, являются среды Постгейта В, С, D и N (№ 18) [195].

Среда В используется для обнаружения, количественного учета и выделения этих бактерий. Заменяя лактат натрия в среде В на другие органические соединения (соли низших органических кислот, оксикислоты, низшие спирты, сахара, летучие и высшие жирные кислоты), определяют круг субстратов, утилизируемых этими бактериями. Среда С и N не имеют осадка и применяются для накопления биомассы. Среда D практически не содержит сульфатов ($0,01 \text{ мг/л FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и может служить для проверки способности бактерий к брожению, а внесение в нее сульфата, сульфита или тиосульфата позволит определить возможности исследуемого организма в отношении использования различных акцепторов электронов.

Порядок посева. Для удаления из среды № 18 (раствор 1) растворенного кислорода ее следует довести до кипения и быстро охладить в струе холодной воды, затем внести в требуемых количествах в указанной последовательности следующие ингредиенты: 1) дрожжевой автолизат; 2) сернокислое железо; 3) микроэлементы и витамины (в случае необходимости); 4) с помощью растворов HCl и NaHCO_3 довести реакцию среды до рН 7,0–7,4 по бромтимолблау, который при этом значении рН приобретает сине-зеленую окраску; 5) ввести сульфид натрия ($\sim 100 \text{ мг/л}$) – среда при этом приобретает темно-серую – черную окраску. В приготовленную к посеву среду вносят культуру и разливают в герметично закрывающиеся емкости.

Культивируют сульфатвосстанавливающие бактерии в пробирках, которые доверху заполняют средой и закрывают стерильными резиновыми пробками так, чтобы под пробкой не оставалось пузырьков воздуха, применяя прокаленную в пламени стальную проволочку. Очень удобна для культивирования этих бактерий анаэробная техника Хангейта. В случае отсутствия пробирок Хангейта их могут заменить стеклянные флаконы, закрывающиеся резиновой пробкой, которая закрепляется навинчивающимся металлическим или пластмассовым колпачком. Среда, приготовленная к посеву, помещенная в эти емкости, может длительно храниться. Эти флако-

ны удобны для перевозки, в них можно производить количественный учет сульфатвосстанавливающих бактерий из природного материала, а создавая соответствующую газовую фазу, можно культивировать эти микроорганизмы в хемолитотрофных условиях. Посевной материал вносится в такие флаконы с помощью стерильного шприца. Перед посевом поверхность резиновой пробки необходимо стерилизовать, протирая подкисленным этанолом и слегка обжигая поверхность резины в пламени горелки.

Сульфатвосстанавливающие бактерии, окисляющие органические вещества до CO_2 . Их культивируют на среде Видделя и Пфеннига (№ 19) [235]. Основные принципы работы с этой группой бактерий аналогичны вышеприведенным.

Получение накопительной культуры. Накопительные культуры сульфатвосстанавливающих бактерий получают путем засева образцами природного материала жидкой среды В с лактатом или среды Видделя и Пфеннига с ацетатом (или другими субстратами). Почернение среды и появление запаха сероводорода в процессе инкубации указывают на рост этих бактерий. Для получения активной накопительной культуры следует делать ряд последовательных пересевов на жидкие питательные среды 2–4-суточным посевным материалом, лучше из осадка, так как здесь, как правило, наблюдается скопление сульфатвосстанавливающих бактерий. Посевной материал берут в количестве 2–4% по объему.

Прежде чем приступить к выделению чистой культуры из единичных колоний, следует оптимизировать среду для накопительной культуры, варьируя соленость, температуру, добавляя витамины, микроэлементы или природную воду. При этом стараются получить за один и тот же промежуток времени максимально возможный прирост сероводорода.

Исследование накопительной культуры начинают с выявления наличия в ней спорообразующих сульфатвосстанавливающих бактерий. Для этого 1 мл 8–10-суточной культуры помещают в ампулы объемом 1–2 мл, на которые надевают резиновые шланги с зажимом. Посредством иглы от шприца ампулы продувают в течение 3–5 мин инертным газом для удаления кислорода. Затем зажим закрывают, ампулы быстро запаивают и погружают в кипящую водяную баню на 10, 20 и 30 мин. Прокипяченный материал высевают на одну из сред Постгейта или на среду Видделя и Пфеннига. Рост спорообразующих бактерий *p.Desulfotomaculum* обнаруживают после 3–4-суточной инкубации по почернению среды и присутствию подвижных клеток. Опыт на проращивание спор позволяет одновременно избавиться от беспоровых спутников.

Оригинальный способ выделения многоклеточных скользящих сульфатвосстанавливающих бактерий предложен Видделем [232, 233]. Нитчатые бактерии отмыкают от основной массы мелких микроорганизмов-спутников, используя электронно-микроскопические металлические сеточки, смонтированные в стеклянные трубки.

Выделение чистой культуры. Выделение чистых культур проводят путем получения единичных колоний на оптимизированных средах, дополненных 1,5% агара. Перед внесением агара при приготовлении минеральной среды ее нужно нейтрализовать до значения рН 6–7. В противном случае

после стерилизации она не затвердеет. Плотную среду готовят к посеву таким же образом, как и жидкую. В качестве посевного материала используют свежие 2–3-суточные накопительные культуры. Инокулят получают методом предельных разведений в жидкой среде того же состава, затем вносят в плотную среду. Плотную среду разливают в пробирки высоким слоем или натягивают в стеклянные трубки Виньяля, концы которых после затвердения среды запаивают в пламени горелки. Через 2–5 суток инкубации в плотной среде можно обнаружить черные колонии сульфатвосстанавливающих бактерий. Из пробирок колонии извлекают с помощью пастеровской пипетки, а из трубок Виньяля — разрезая трубки вблизи колоний и выдавливая агар в чашку Петри.

Получение изолированных колоний этих бактерий на поверхности плотной среды возможно при использовании метода вращающихся пробирок Хангейта или метода посева в чашки Петри, которые инкубируют в анаэро-стате.

Чистоту культур сульфатвосстанавливающих бактерий проверяют согласно методике, предложенной Постгейтом [195]. Исследуемую культуру высевают в среду с МПА для обнаружения факультативно-анаэробных гетеротрофных спутников; в среде с сахарами и пептоном — для бактерий, осуществляющих брожение; на среду Бейеринка [48] — для выявления тионовых бактерий. Для достоверности получаемые данные всегда необходимо сравнивать с контролем (стерильная среда).

Хранение культур. Чистые культуры поддерживают на оптимизированной жидкой среде, осуществляя пересев не реже, чем через 2 месяца.

2.1.10. Бактерии, выщелачивающие марганец

Получение накопительной культуры. Накопительные культуры бактерий, выщелачивающих марганец, получают на среде Бромфильда (№ 20), содержащей 5–10 г/л глюкозы или сахарозы. Питательную среду засевают пробами марганцевых руд, отходами обогащения и т.д.

Для получения аэробной накопительной культуры в питательную среду (50–100 мл) вносят посевной материал и инкубируют при 28–30°C в аэробных условиях. Желательно постоянное перемешивание, обеспечивающее необходимый массообмен в системе.

При выделении анаэробных и факультативно аэробных бактерий питательную среду разливают высоким слоем в пробирки. Чтобы создать в среде равномерное распределение марганецсодержащего материала, руду втирают в неплотный ватный тампон, который помещают в пробирку со средой. Сверху среду заливают слоем вазелинового масла. Стерильные пробирки со средой перед посевом кипятят и охлаждают в водяных банях. Инкубирование засеянных пробирок ведут в термостате при 28–30°C.

О развитии микроорганизмов, выщелачивающих марганец, и об активности процессов восстановления Mn^{4+} судят по скорости перехода Mn^{2+} в раствор.

Выделение чистых культур. Для получения чистых культур марганецвыщелачивающих микроорганизмов используют плотную среду Бромфильда (№ 20). Посев проводят на 5–6 сутки культивирования накопительной культуры из разведений 10^{-4} и 10^{-5} по 0,1–0,2 мл на чашку. Засеянные чашки инкубируют при 28–30°C в зависимости от условий получения накопительных культур в аэробных или анаэробных условиях.

При развитии Mn^{4+} -восстанавливающих микроорганизмов на плотной среде вокруг их колоний образуются светлые зоны, по величине которых можно судить об активности восстановления Mn^{4+} . Чистоту культуры проверяют путем посева на различные среды для роста афототрофных и гетеротрофных микроорганизмов. Микроорганизмы идентифицируют, используя соответствующие определители.

Поддержание культуры. Чистую культуру следует поддерживать на жидкой питательной среде с рудой. Пересевы необходимо делать один раз в 10 дней, инокулят добавляют в количестве 10%. Mn^{4+} -восстанавливающую активность хранящихся культур контролируют 1 раз в месяц.

2.1.11. Бактерии, окисляющие мышьяк (As^{3+})

Выделение *P.arsenitoxidans* [17]. Накопительную культуру получают при посеве шахтных вод золотомышьяковистого месторождения на среду № 22, содержащую 1,3 г/л As^{3+} .

Чистая культура получена методом рассева капель [14], с дальнейшим высевом на гелевые пластинки, пропитанные средой № 22, содержащей 1,0 г/л As^{3+} . Чистоту культуры проверяют высевом на МПА, картофельный агар, МПБ.

2.1.12. Бактерии, восстанавливающие Cr^{6+}

***P.dechromaticans* [47, 48].** Накопительную культуру можно получить при внесении в среду № 23 проб активного ила биовосстановителя, в который поступает бытовая сточная жидкость и промышленные стоки, содержащие Cr^{6+} . Чистую культуру получают путем многократных пересевов из крайних разведений, а также из отдельных колоний после посева на МПА и выращивания в аэробных условиях.

***P.chromatophila* [31].** Накопительную культуру получили при внесении в среду № 24 образцов воды, скопившейся на дне карьера хромитового месторождения, а также из сточных заводских вод. Чистую культуру получают из отдельных колоний, выросших в столбиках агаризованной среды № 24.

***A.dechromatica*. [26].** Накопительную и чистую культуры выделяют из установки по очистке промышленных сточных вод машиностроительного завода традиционными методами, используя среду № 25.

2.1.13. *Bacillus mucilaginosus* [5]

Получение накопительной культуры. Накопительную культуру *B. mucilaginosus* получают посевом водных суспензий образцов почв и горных пород на жидкую среду Эшби (№ 27). Для облегчения выделения чистой культуры суспензию образца в стерильной водопроводной воде прогревают в течение 10 мин при 80°C на водяной бане, затем быстро охлаждают и используют для посева.

Чистую культуру выделяют из отдельных колоний, полученных на агаризованной среде Эшби или картофельном агаре № 26 после посева на эти среды накопительной культуры. Чистоту культуры проверяют по характерным признакам роста на указанных выше средах, по отсутствию роста на МПА и МПБ, по морфологическим признакам вегетативных клеток и спор. Идентификацию проводят на основании признаков, отмеченных в табл. 1.16 (глава 1), а также путем ДНК-ДНК гибридизации с другими видами рода *Bacillus*.

Поддержание и хранение. *B. mucilaginosus* поддерживают периодическими пересевами (1 раз в 2–3 месяца) на картофельном агаре. Косяки со свежесозревшими культурами, прошедшими стадии спорообразования, хранят в холодильнике. Споры *B. mucilaginosus* длительное время хранят в жидком азоте или в лиофилизированном состоянии, в воздушно-сухом состоянии в смеси со стерильной почвой или кварцевым песком.

2.2. РЕЦЕПТУРЫ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Успех выделения новых и уже известных микроорганизмов, активных в окислении элементарной серы, закисного железа, сульфидных минералов или в биосинтезе метаболитов в значительной степени зависит от используемых питательных сред. Ниже мы приводим рецептуру питательных сред для выделения и культивирования микроорганизмов, наиболее важных для биогеотехнологии металлов.

№ 1. Среда Летена для *T. ferrooxidans* и других железоокисляющих бактерий [161]:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,15 г; KCl, 0,05 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г; KH_2PO_4 , 0,10 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,01 г; H_2O дист. — 1 л.

К среде добавляют 10 мл 10%-ного раствора $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, подкисленного до pH 3,5, который стерилизуют отдельно фильтрованием через асбестовый фильтр. Стерилизацию раствора $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ можно проводить в автоклаве при 0,5 атм., предварительно подкислив его H_2SO_4 до pH 2,0–2,5. Конечный pH среды устанавливают 3,5.

№ 2. Среда Сильвермана и Люндгрена 9К для *T. ferrooxidans* [206]:

1-й раствор: в 700 мл дистиллированной воды растворяют $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3,0 г; KCl, 0,1 г; K_2HPO_4 , 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,01 г.

2-й раствор: в 300 мл дистиллированной воды растворяют $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 44,2 г, добавляют 1 мл 10 н серной кислоты.

Вместо $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ можно брать соль Мора $[\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$. В этом случае $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ к раствору не добавляется, а 2-й раствор гото-

вится следующим образом: в 300 мл дистиллированной воды растворяют 63 г $[\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ и добавляют 1 мл 10 н серной кислоты. Такое количество соли Мора соответствует 9 г/л железа и 21,4 г/л $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Растворы стерилизуют отдельно: 1-й раствор при 1 атм и 2-й при 0,5 атм. Перед употреблением оба раствора смешивают. Эта среда является наиболее благоприятной для роста *T. ferrooxidans* и поэтому используется чаще других.

№ 3. Среда Маннинга для железоокисляющих бактерий [168]:

Раствор А. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (33,4 г/л) растворяют в 300 мл воды, доведенной до pH 2,5 6 М H_2SO_4 и стерилизуют фильтрованием.

Раствор Б. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 6,0 г; KCl, 0,2 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,02 г; H_2O дист. — 550 мл, pH 3,0.

Раствор стерилизуют в автоклаве при 121°C в течение 15 мин.

Раствор В. Очищенный агар L28, 7,0 г добавляют к 150 мл дистиллированной воды, выдерживают в течение 15 мин и автоклавируют при 121°C в течение 15 мин.

Растворы Б и В охлаждают в течение 5 мин при комнатной температуре и сливают при перемешивании. Затем добавляют раствор А и перемешивают. Готовую среду разливают в чашки Петри.

№ 4. Среда для *T. ferrooxidans* и *Beijerinckia lacticogenes* [224]:

K_2HPO_4 , 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г; Na_2SO_4 , 0,15 г; KCl, 0,1 г; $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,01 г; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0005 г; H_2O — 1 л, pH 2,5.

№ 5. Среда для *B. lacticogenes* [224]:

KH_2PO_4 , 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 г; CaCl_2 , 0,1 г; FeCl_3 , 0,005 г; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0005 г; дрожжевой экстракт (Дифко) 0,5 г; сахара, 2,5 г; агар, 15,0 г; H_2O — 1 л; pH 3,0.

№ 6. Среда для *L. ferrooxidans* [33]:

Используют среды № 1 и № 2. В качестве источника энергии добавляют Fe^{2+} или FeS_2 .

Норрис и Келли [185] использовали питательную среду следующего состава: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,4 г; K_2HPO_4 , 0,1 г; KCl, 0,1 г; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50 мМ; дрожжевой экстракт и сульфидные минералы (пирит, халькопиритный концентрат); сульфидные минералы смачивают водой и стерилизуют при 0,5 атм. либо текучим паром 3 дня; H_2O — 1 л.

№ 7. Среда Ваксмана для *T. thiooxidans* [22, 230]:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 г; KH_2PO_4 , 3,0 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,25 г; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, следы; серный цвет (S^0), 10 г; H_2O дист. — 1 л; pH 4,0. Серу предварительно стерилизуют текучим паром в течение 3-х дней, либо спиртом в течение двух часов. Затем спирт испаряют и получают порошок стерильной серы. Асептически ее вносят в стерильную среду.

№ 8. Твердая среда Ваксмана для *T. thiooxidans* [230]:

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5 г; NH_4Cl , 0,1 г; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,25 г; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,1 г; KH_2PO_4 , 3,0 г; выщелоченный агар-агар или агар Дифко, 20 г; H_2O дист. — 1 л, pH 5,0. pH устанавливается добавлением серной кислоты после стерилизации среды.

№ 9. Среда „S” Постгейта для бактерий близких к тиобациллам [195]:

Сера, 10 г (или $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5 г); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2–4 г; KH_2PO_4 , 2–4 г; CaCl_2 , 0,25 г; MgSO_4 , 0,5 г; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 мг, H_2O дист. — 1 л. Исходное значение pH 5,0 для бактерий, близких к *T.thiooxidans* и 7,5 — для бактерий, близких к *T.thioparus*. Среда с элементарной серой стерилизуют текучим паром. Среда с тиосульфатом стерилизуют при 0,5 атм. в течение 20 мин. При этом тиосульфат стерилизуется отдельно и добавляется к основной среде.

№ 10. Среда для бактерий, близких к тиобациллам [83]:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 г; NaCl , 0,3 г; KH_2PO_4 , 0,1 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,01 г; раствор следов элементов, 0,5 мл дрожжевой экстракт Дифко, 2 г; добавляют также либо Fe^{2+} , либо пирит, либо серу; H_2O дист. — 1 л.

Раствор 25 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в 100 мл дистиллированной воды с 0,75 мл концентрированной H_2SO_4 стерилизуют автоклавированием при 15 psi, что соответствует 1 атм., 15 мин. 4 мл этого раствора добавляют к 96 мл солевого раствора и доводят pH до 2,2 или 1 г пирита добавляют к 100 мл среды.

Серный цвет (S^0) стерилизуют текучим паром по 30 мин в течение трех дней и добавляют в количестве 0,5 г в 100 мл стерильной среды, имеющей pH от 2,5 до 3,0.

Раствор следов элементов содержит в г/л: Na_2 EDTA, 50,0; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 11,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 7,34; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2,5; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,5; $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5,0; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,2; NaOH примерно 11 г; pH 6,0; H_2O дист. — 1 л.

№ 11. Среда для других железо- и сероокисляющих бактерий [174, 236]:

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,4 г; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 г; KCl , 0,1 г; K_2HPO_4 , 0,1 г; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 13,9 г. В качестве источника энергии используют также FeS_2 , 2 г или серный цвет, 5 г; H_2O дист. — 1 л; pH 2,0–3,0.

Культуры инкубируют при 50 и 60°C после добавления дрожжевого экстракта (0,2 г/л) или в закрытых флаконах после обогащения среды 5% (об/об) CO_2 . В отсутствие дрожжевого экстракта в среду добавляют $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,2 г/л в качестве источника восстановленной серы.

Для роста бактерий в миксотрофных условиях в среду добавляют глюкозу, дрожжевой экстракт (0,2 г/л), цистеин в виде растворов с pH 1,7.

Вместо CO_2 можно добавлять NaHCO_3 в виде раствора (5 мМ), простерилизованного фильтрованием через фильтр с порами 0,45 мкм. Дрожжевой экстракт (2% вес/об) стерилизуют при давлении 15 psi (1,05 атм) в течение 15 мин. Другие компоненты среды стерилизуют при давлении 10 psi в течение 10 мин.

Для приготовления твердой среды используют японский агар (0,5% вес/об), который добавляют к среде Маннинга (№ 3). Конечную концентрацию Fe^{2+} устанавливают — 2,78 г/л. К этой среде добавляют K_2HPO_4 , 0,01 г/л и $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,2 г/л в конечной концентрации.

№ 12. Среда для *S.thermosulfidooxidans* [9]:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,3 г; NaCl , 0,2 г; KH_2PO_4 , 0,2 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,07 г; дрожжевой экстракт, 0,2; H_2O дист. — 1 л; pH 2,5.

В качестве источника энергии используют порошок пирита (FeS_2), серный цвет (S^0) или порошок медноцинковой руды, 2%.

Дрожжевой экстракт стерилизуют отдельно. Пирит, S^0 и руду стерилизуют также отдельно, смачивают водой и текучим паром в течение 3-х дней.

№ 13. Среда Аллена, модифицированная Брокком для *S.acidocaldarius* [86, 98]:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,3 г; KH_2PO_4 , 0,28 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,25 г; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,07 г; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,02 г; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1,8 мг; $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 4,5 мг; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,22 мг; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,05 мг; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,03 мг; $\text{VOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,03 мг; CoSO_4 , 0,01 мг; H_2O дист. — 1 л; pH 2,0 устанавливают 10 н H_2SO_4 . Органические компоненты добавляют к основной среде либо в сухом виде после автоклавирования, либо (сахара) из стерильного раствора, сконцентрированного в 100 раз.

Серу стерилизуют текучим паром в сухом виде по 3 часа в течение трех дней и добавляют в количестве примерно 1 г на 100 мл стерильной среды.

Твердую агаризованную среду готовят следующим образом. Сконцентрированный в два раза и автоклавированный раствор солей охлаждают до 45°C и смешивают с автоклавированным и сконцентрированным в два раза агаровым гелем. Затем стерильно добавляют дрожжевой экстракт до конечной концентрации 0,1%. Смесь разливается в чашки Петри или пробирки. Отмечается более хороший рост колоний, если вместо агара Дифко использовать Ионагар 2 (Ionagar 2, Oxoid). Ионагар используется в конечной концентрации 1,2%.

Полисиликатная питательная среда готовится путем смешивания 94 мл H_2O , 6 мл раствора силиката натрия и 5 г бентонита (натровый), pH быстро доводится до 6,0 H_2SO_4 , и среда вносится в чашки Петри. Для лучшей видимости колоний добавляют индикатор подобный бромкрезолпурпурному или хлорфенолкрасному в количестве 0,01%. Инокулированные чашки помещают во влажные камеры и инкубируют при 80°C.

№ 14. Среда для *A.infernus* и *A.brierleyi*:

Для *A.infernus* используется среда Аллена, содержащая 2 г/л S^0 и имеющая pH 2,5 (см. № 13). Анаэробные условия создаются по Балчу и др. [68] и добавлением Na_2S (0,75 г/л). В качестве индикатора используют резазурин (1 мг/л). Среда по 20 мл разливают во флаконы и вводят под давлением H_2 — CO_2 (80–20 об/об; 300 кПа) и стерилизуют тиндализацией.

Для выделения *A.brierleyi* используют среду Брайерли [238]: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3,0 г; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г; KCl , 0,1 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,01 г; дрожжевой экстракт, 0,2 г; серный цвет, 10 г; H_2O дист. — 1 л; pH 2,0 устанавливают H_2SO_4 . Приготовление данной среды осуществляется как в случае среды № 13.

№ 15. Среда для *A.cryptum* [134]:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2,0 г; KCl , 0,1 г; K_2HPO_4 , 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г; дефицированный триптиказо-соевый бульон, 0,1 г; глюкоза, 1 г; H_2O — 1 л. pH доводят до 3,0 1 н H_2SO_4 . Глюкозу (10% раствор) стерилизуют автоклавированием отдельно и после охлаждения нужное количество добавляют к стерильной среде (pH 3,0). Твердая среда готовится при добавлении

агара — 12 г/л. Агар и глюкозу (двойной концентрации) и другие компоненты стерилизуют отдельно при давлении 15 фунтов/кв.дюйм (1,05 кг/см²) в течение 15 мин и затем после охлаждения смешивают.

№ 16. Среда для выделения других гетеротрофных спутников *T. ferrooxidans* [152]:

Используют подкисленную маннит-триптон-соевую среду, содержащую: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 г; $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 г; KH_2PO_4 , 0,05 г; KCl, 0,05 г; $Ca(NO_3)_2$, 0,01 г; маннит, 1,0 г; триптон-соевый бульон (TSB, Oxoid), 0,1 г; агар (бактериологический, Oxoid) или агароза (BDH), 12,0 г; H_2O — 1 л. pH среды, исключая агар и агарозу, доводят до 3,5 H_2SO_4 до автоклавирования (120°C, 15 мин). Гелеобразный раствор (4,5%, вес/об) стерилизуют в автоклаве отдельно, чтобы избежать его гидролиза, и оба раствора после охлаждения сливают.

№ 17. Среда Маннинга для гетеротрофных ацидофилов [168]:

Среду, содержащую глюкозо-солевой раствор, дрожжевой экстракт и агар (GSYE) готовят смешением следующих растворов:

1. 25 мл 20% раствора глюкозы;
2. $(NH_4)_2SO_4$, 1 г/л; KCl, 0,1 г/л; K_2HPO_4 , 1,0 г/л; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,2 г/л; дрожжевой экстракт, 0,5 г/л; H_2O дист. 750 мл. Растворы доводят до pH 2,8 6M H_2SO_4 .

3. 225 мл дистиллированной воды, содержащей 15,0 г агара (Difco).

Каждую часть среды стерилизуют автоклавированием, затем смешивают растворы 2 и 3 и добавляют раствор 1.

Дрожжевой экстракт не является обязательным компонентом среды.

Жидкую среду готовят смешением растворов 1 и 2.

№ 18. Среда Постгейта В, С, D, N [195] для сульфатвосстанавливающих бактерий, окисляющих органические вещества до ацетата:

Ингредиент	Среда (г/л)			
	B	C	D	N
KH_2PO_4	0,5	0,5	0,5	0,5
NH_4Cl	1	1	1	1
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	—	—	0,1	—
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	1	—	—	—
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2	0,06	—	0,06
Na_2SO_4	—	4,5	—	—
$(NH_4)_2SO_4$	—	—	—	5
Лактат натрия	3,5	6	—	6
Пировинограднокислый натрий	—	—	3,5	—
Дрожжевой экстракт	1	1	1	1
Лимоннокислый натрий	—	0,3	—	0,3
Аскорбиновокислый натрий	—	—	1	—
$Na_2S \cdot 9H_2O$	0,1	0,1	—	0,1
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5	0,1	0,01	0,1
Вода водопроводная	1	—	—	—
Вода дистиллированная	—	1	1	1

Среду с лактатом натрия стерилизуют в автоклаве при давлении 1 атм. Остальные компоненты при 0,5 атм. в запаянных ампулах или герметично закрывающихся флаконах с завинчивающейся крышкой и вносят в простерилизованную среду (раствор 1).

На дистиллированной воде готовят следующие растворы:

- 1) 5%-й раствор дрожжевого автолизата или экстракта.
- 2) 5%-й раствор $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ в 1%-й соляной или серной кислоте.
- 3) 5%-е растворы HCl и $NaHCO_3$, используемые для доведения pH до нужной величины.

4) 10%-й раствор пировинограднокислого натрия и 5%-е растворы аскорбиновой и тиогликолевой кислот в воде, освобожденной кипячением от кислорода. Последние кислоты нейтрализуют NaOH, стерилизуют в доверху наполненных запаянных ампулах и хранят в холодильнике. Сульфид натрия ($Na_2S \cdot 9H_2O$) готовят в виде 5%-го раствора в 1%-ом растворе $NaHCO_3$. Другие восстановители — тиогликолат натрия готовят и сохраняют как сульфид; дитионит ($Na_2S_2O_4$) стерилизуют в 1%-м растворе $Na_2S \cdot 9H_2O$, а при работе с накопительными культурами $Na_2S_2O_4$ вносят в среду стерильным шпателем в виде сухих кристаллов (10–30 мг/л).

№ 19. Среда Видделя и Пфеннига [235] для сульфатвосстанавливающих бактерий, окисляющих органические вещества до CO_2 .

Основная среда имеет следующий состав: Na_2SO_4 , 3,0 г; KH_2PO_4 , 0,2 г; NH_4Cl , 0,3 г; KCl, 0,5 г; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,15 г; H_2O — 1 л.

Для выделения пресноводных штаммов на 1 л среды вносят 1,0 г NaCl и 0,4 г $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, для солоноватоводных штаммов — 7,0 г NaCl и 1,2 г $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, для морских изолятов — 20,0 г NaCl и 3,0 г $MgCl_2 \cdot 6H_2O$.

Среду стерилизуют автоклавированием при 1 атм., кипятят, охлаждают в токе холодной воды, а затем добавляют из стерильных растворов следующие компоненты: $NaHCO_3$, 2,5 г; $Na_2S \cdot 9H_2O$, 0,36 г; раствор витаминов. Витамины вносят по рецепту Пфеннига и Липперта в концентрации (нг/мл среды): биотин — 10, пантотенат кальция — 25, тиамин — 50, р-аминобензойная кислота — 50, никотиновая кислота — 100, пиридоксамин — 250; микроэлементы (см. ниже) — 1 мл/л; ацетат натрия, 2,8 г; H_2O — 1 л. С помощью растворов HCl или $NaHCO_3$ устанавливают pH 7,1–7,3. Среду инокулируют посевным материалом, добавляют дитионит (10–30 мг/л) и сразу же герметично закрывают флаконы. Все дополнительные компоненты, которые вносят в основную среду, стерилизуют как указано выше при 0,5 атм (среда № 18).

Раствор микроэлементов по Видделю и Пфеннигу [235]:

Рецепт микроэлементов для сульфатвосстанавливающих бактерий: HCl, 25%, 10 мл; $FeCl_2 \cdot 4H_2O$, 1,5 г; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 190 мг; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 100 мг; $ZnCl_2$, 70 мг; H_3BO_3 , 62 мг; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 36 мг; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, 24 мг; $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, 17 мг. Хлорид железа первым растворяют в соляной кислоте, затем дистиллированной водой доводят объем до 1 л и вносят остальные ингредиенты.

№ 20. Среда Бромфильда для марганцевосстанавливающих бактерий [87]:

Глюкоза или сахароза, 5–10 г; KH_2PO_4 — 0,5 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,2 г;

(NH₄)₂SO₄, 1,0 г; дрожжевой автолизат, 5 мл; H₂O дист. — 1 л; тонкоизмельченная марганцевая руда или другой продукт. CaCO₃ в среду можно не вносить, поскольку выделяемые микроорганизмами кислоты будут нейтрализоваться MnO₂ и расходоваться на выщелачивание марганца. Для приготовления твердой среды добавляют агар 20 г/л. Значение pH среды устанавливают 7,0. Руда измельчается, стерилизуется отдельно и добавляется в среду из расчета 50–100 г/л. Поскольку другие элементы содержатся в рудах и переходят в раствор в результате выщелачивания, можно иногда добавлять к среде только источники углерода. При укрупнении масштабов экспериментов в качестве питательной среды можно использовать растворы мелассы, содержащие в аналогичной среде Бромфильда концентрации глюкозы.

Перед использованием сред из мелассы или других продуктов, содержащих углеводы, в них необходимо проанализировать содержание различных форм азота (аммонийного и органического) для определения необходимости дополнительного внесения азота в среду.

При разливке агаризованной среды с марганцевой рудой в чашки Петри среду необходимо все время перемешивать плавными круговыми движениями, чтобы избежать осаждения марганцевой руды на дно колбы. Образующиеся в чашках пузырьки воздуха легко удаляются при осторожном поворачивании чашки с застывшей средой вокруг оси в плоскости стола.

№ 21. Среда для *R.sphaeroides*, восстанавливающего Mn⁴⁺ (модифицированная среда Бромфильда) [101]:

KH₂PO₄, 0,5 г; MgSO₄·7H₂O, 0,2 г; (NH₄)₂SO₄, 1,0 г; глюкоза, 20,0 г; CaCO₃, 5,0 г; Fe₂O₃/MnO₂, 1,0 г; дрожжевой экстракт Дифко, 150,0 мг; H₂O дист. — 1 л; pH 7,2.

№ 22. Среда для *P.arsenitoxidans* [17]:

(NH₄)₂SO₄, 1,0 г; KH₂PO₄, 0,5 г; KCl, 0,05 г; Ca(NO₃)₂, 0,1 г; NaHCO₃, 0,5 г; NaAsO₂, 2,0 г; H₂O дист. — 1 л; pH 7,5–8,0.

Растворы NaHCO₃ и NaAsO₂ стерилизуют отдельно.

№ 23. Среда для *P.dechromaticans* [47, 48]:

NH₄Cl, 0,3 г; K₂HPO₄, 0,3 г; KH₂PO₄, 0,5 г; MgSO₄·7H₂O, 0,1 г; NaCl, 0,1 г; CaCO₃, 0,05 г; FeCl₃·6H₂O, 0,05 г; K₂CrO₄, 0,1 г; ацетат натрия, 0,2 г; микроэлементы по Хогланду, 0,5 мл (№ 34), витамин B₁₂ 10 мкг; МПБ, 25–100 мл; H₂O водопр. — 1 л; pH 7,0.

Среду стерилизуют при 0,5 атм. Растворы ацетата, микроэлементов, витамин B₁₂ и МПБ стерилизуют отдельно и вносят в среду перед посевом.

№ 24. Среда для *P.chromatophila* [31]:

NH₄Cl, 0,3 г; KH₂PO₄, 0,3 г; MgSO₄·7H₂O, 0,1 г; NaCl, 0,1 г; (NH₄)₂CrO₄, 0,2 г; лактат натрия, 2 г; агар-агар, 15 г. H₂O дист. — 1 л. После стерилизации pH среды доводят 5%-ным раствором NaHCO₃ до 7,0.

№ 25. Среда для *A.dechromatica* [26]:

NH₄Cl, 0,3 г; K₂HPO₄, 0,3 г; KH₂PO₄, 0,5 г; MgSO₄·7H₂O, 0,1 г; NaCl, 0,1 г; CaCO₃, 0,05 г; FeCl₃·7H₂O, 0,05 г; K₂CrO₄, 0,2 г; ацетат Na, 0,2 г; H₂O водопр. — 100 мл. Среду стерилизуют при 0,5 атм. 30 мин, раствор ацетата стерилизуют отдельно и вносят в среду перед посевом.

№ 26. Картофельный агар [48]:

Картофель, 200 г, H₂O водопр. — 1 л.

Клубни картофеля моют, чистят, режут мелкими дольками, помещают в холодную воду и варят 30 мин. Жидкость фильтруют через вату с марлей, добавляют агар-агар (15 г/л) и нагревают до тех пор, пока агар растворится. pH среды доводят до 7,0 по индикатору бромфенолсинему и стерилизуют 1 час при 120°C. Используется для культивирования *B.mucilaginosus*.

№ 27. Среда Эшби [48] для *B.mucilaginosus*:

Маннит, 20 г; K₂HPO₄, 0,2 г; MgSO₄·7H₂O, 0,2 г; NaCl, 0,2 г; K₂SO₄, 0,1 г; CaCO₃, 5,0 г; Na₂MoO₄, 0,005 г; H₂O дист. — 1 л; pH 7,5–8,0.

Среду стерилизуют при 0,5 атм. в течение 30 мин. Для получения твердой среды добавляют 15 г/л агар-агара.

№ 28–33. Среды для культивирования мицелиальных грибов, применяющих при выщелачивании алюминия и железа.

№ 34. Раствор Хоагланда, pH 7,0; дист. H₂O — 3,6 л. AlCl₃; 1 г; KJ, 0,5 г; KBr, 0,5 г; LiCl, 0,5 г; MnCl₂·4H₂O, 7 г; H₃BO₃, 11 г; ZnCl₂, 1 г; CuCl₂, 1 г; NiCl₂, 1 г; CoCl₂, 5 г; SnCl₂·2H₂O, 0,5 г; BaCl₂, 0,5 г; Na₂MoO₄, 0,5 г; NaVO₃·H₂O, 0,1 г; соль цезия, 0,5 г.

Компоненты	Среда №					
	28	29	30	31	32	33
Компоненты сред в г/л водопроводной воды						
Углеводы	100–150	100–150	100–150	100–150	100–150	50–100
NH ₄ NO ₃	3	—	—	—	—	—
NH ₄ H ₂ PO ₄	—	0,05	—	—	—	—
NH ₄ Cl	—	3,5	—	—	3,5	—
NH ₄ NO ₃	—	—	—	2,3	—	—
NaNO ₃	—	—	—	—	—	5,5
K ₂ HPO ₄	—	—	—	—	—	1
KH ₂ PO ₄	1	—	0,5	1	0,5	—
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	—	0,5	0,25	0,5	0,5
K ₄ [Fe(CH ₃) ₆]	—	0,2	—	—	—	—
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	—	0,01	0,05	—	0,05	0,05
FeSO ₄ ·7H ₂ O	—	—	0,025	—	0,025	0,025

pH сред 6,5–7,8

2.3. МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО УЧЕТА

2.3.1. Метод серийных разведений

Метод серийных разведений наиболее старый и трудоемкий. Однако он широко используется для учета жизнеспособных клеток как автотрофных, так и гетеротрофных микроорганизмов. Эти методы хорошо известны и приводятся в руководствах по микробиологии [30, 36]. Для получения предельных десятикратных разведений для учета хемолитоавтотрофных бактерий лучше использовать соответствующие питательные среды (глава

2), а не воду, как это часто принято делать. На практике для расчета количества бактерий в 1 мл раствора или в 1 г руды пользуются таблицами, составленными на основе методов вариационной статистики [30]. Точность подсчета наиболее вероятного числа клеток будет тем выше, чем больше пробирок каждого разведения засеяно (например, от 5 до 10). Однако, при массовых анализах проб, особенно в полевых условиях, обычно засевают по две пробирки из каждого разведения. Это позволяет определить число клеток бактерий с точностью до порядка, например, 10^5 , 10^6 и т.д. Посевы инкубируют при оптимальной температуре. Время инкубации для каждой группы бактерий находят экспериментально. При количественном учете отдельных видов бактерий возникают определенные трудности, так как на одних и тех же средах могут расти различные виды бактерий, близкие по физиологическим признакам. Например, на одних и тех же средах растут *T. ferrooxidans* и *L. ferrooxidans* или *T. ferrooxidans*, *T. thiooxidans* и *T. acidophilus* и т.д. Поэтому при оценке числа клеток того или иного вида бактерий необходимо их идентифицировать. Для этого просматривают в микроскопе пробы среды из последних разведений и инокулируют ими элективные среды, как это описано в главе 2.

Определение численности сульфатвосстанавливающих бактерий методом посева на элективные среды дает несколько заниженные результаты. Одной из причин является способность ряда сульфатвосстанавливающих бактерий образовывать агрегаты, не распадающиеся на отдельные клетки (нити *Desulfonema*, пакеты *Desulfosarcina* и т.д.).

Более надежным способом выявления наличия в природных средах сульфатвосстанавливающих бактерий является оценка интенсивности самого процесса сульфатредукции с использованием меченого $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ [48].

2.3.2. Подсчет колоний

Колонии получают обычно при высеве бактерий на поверхность твердой среды или помещая на них мембранные фильтры после фильтрования растворов.

Существует правило, согласно которому оптимальное для подсчета число колоний на чашку лежит в пределах от 30 до 300.

Нижний предел устанавливается из соображений статистической достоверности, а верхний — из-за опасности слияния отдельных колоний.

При приготовлении твердых сред для культивирования хемолитоавтотрофных ацидофильных бактерий к жидким средам добавляют отмытый агар, агарозу. Используют также гелевые пластинки или пластинки из полиакриламидного геля.

Поскольку число клеток бактерий в пробах руды или воды, как правило, перед анализом неизвестно, то делают несколько разведений, например, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} и т.д.

Затем 0,1 мл разведенной культуры наносят на поверхность твердой среды в чашке Петри. Для этого 2-3 капли капают на поверхность, а остав-

шуюся в пипетке жидкость выдувают. Культуру равномерно распределяют по поверхности твердой среды шпателем. Затем чашку Петри опрокидывают дном вверх и помещают в термостат при оптимальной для роста бактерий температуре. После инкубации и появления колоний проводят их подсчет. Интерпретация полученных данных будет зависеть от того, насколько число выросших колоний соответствует исходному числу клеток в инокуле. Чтобы оценить эту зависимость для изучаемых бактерий, необходимо использовать, по крайней мере, в первое время ряд методов количественного учета бактерий в инокуле.

Твердую среду [225] для учета *T. ferrooxidans* готовят путем смешения 0,06 н раствора H_2SO_4 , содержащего в г/л: K_2HPO_4 , 0,8; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,8; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,8; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 66,6 с равным объемом агара или агарозы в воде. Обе части среды автоклавируют отдельно при давлении 5 фунтов/кв.дюйм ($0,35 \text{ кг/см}^2$) в течение 10 мин. Среду разливают по 40 мл в стерильные чашки Петри [225].

Исходное значение pH твердой среды соответствует 1,5. Серию разведений *T. ferrooxidans* готовят, используя 0,01 н H_2SO_4 . От 5 до 100 мл суспензии фильтруют через мембранные фильтры диаметром 47 или 50 мм с размерами пор 0,45 мкм.

Фильтры предварительно кипятят в стерильной дистиллированной воде в течение 10 мин. и оставляют в воде на 24 часа.

После фильтрования мембранные фильтры с бактериями помещают на твердую среду и чашки инкубируют при 30°C в течение 15 дней или более.

Благоприятные условия для роста колоний создают при концентрации агара не более 0,3% (вес/об.). Образование колоний *T. ferrooxidans* на твердых средах имело место при содержании в посевном материале примерно 10^4 клеток на чашку.

После инкубации мембранные фильтры помещают на фильтровальную бумагу (ватман № 17) и смачивают 1% (об/об) раствором кислого фуксина для окрашивания колоний. Затем фильтры высушивают при комнатной температуре и подсчитывают с помощью стереомикроскопа ($\times 20$).

Метод реплик на бумаге с сульфидом таллия предложен Галлизи и Феррари для идентификации ряда тиобацилл [116]. Тест основан на способности *T. thioararus* и *T. thiooxidans* окислять тиосульфат до сульфата с образованием серы, которая откладывается в колониях. Этот факт был использован для определения наличия бактерий, образующих серу. Пластинки с колониями бактерий реплицируются на бумагу с сульфидом таллия, которая затем помещается в разбавленную (0,12 н) азотистую кислоту. Предварительно бумага увлажняется пиридином, чтобы быстро растворить кристаллическую серу. Черная бумага с сульфидом таллия обесцвечивается за исключением тех мест, где присутствует свободная сера. Обесцвечивание связано с образованием полисульфидов таллия, который является нерастворимым в разбавленных минеральных кислотах. Если сера присутствует, коричневые пятна проявляются на бумаге на стороне, реплицированной к колониям. Коричневые пятна позволяют оценить присутствие тиобацилл в исходном образце. Этот метод оказался более чувствителен и дал более точные результаты учета *T. thioararus* и *T. thiooxidans* в почве, чем метод предельных десятикратных разведений.

2.3.3. Подсчет в микроскопе

Прямой подсчет клеток бактерий проводят на предметных стеклах или в различного типа камерах, например, в камере Тома, Петрова, Хаузера и т.д. [30, 36]. Эти методы хорошо известны микробиологам, но мало применяются для учета хемолитоавтотрофных бактерий. Ниже приводится ряд новых методов учета *T. ferrooxidans*. Особенностью этих методов является то, что они позволяют не только определить количество бактерий, но и дифференцировать представителей различных видов тиобацилл. Это очень важно, поскольку на одних и тех же средах часто растут бактерии разных таксонов и их быстрая идентификация затруднительна.

Метод косвенного окрашивания флюоресцентными антителами [117]. Этот метод позволяет в течение нескольких часов определить число клеток *T. ferrooxidans* в смешанной культуре. Для этого необходимо иметь: а) поликарбонатный тип фильтров; б) продажную козью антикроличью сыворотку, меченную флюоресцирующим изотиоцианатом (FITC); в) неочищенную анти-*T. ferrooxidans* кроличью сыворотку. Ниже приводится описание данного метода.

Для получения специфической сыворотки *T. ferrooxidans* выращивают на среде 9К (№ 2) в течение 7 дней при 25°C на качалке. Суспензию клеток получают путем центрифугирования при 40 000 x g в течение 30 мин при 4°C. Клетки дважды промывают в 0,1 н H₂SO₄ для удаления железа, суспендируют в 0,01 н H₂SO₄ и хранят при 4°C.

Перед инъекцией клетки промывают 3 раза фосфатно-солевым буфером (ФСБ) (0,85% NaCl в 0,1 М Na-К-фосфатном буфере, pH 7,4) и суспендируют в солевом растворе до концентрации 10⁹ кл/мл. Солевой раствор содержит: NaCl, 8,0 г; KCl, 0,4 г; MgSO₄·7H₂O, 0,1 г; CaCl₂, 0,1 г; Na₂HPO₄, 0,04 г; KH₂PO₄, 0,06 г; декстрозу, 0,8 г; галактозу, 0,8 г и 2,5 мл 0,4% раствора фенолового красного на 1 л дистиллированной воды. Этот раствор стерилизуют фильтрованием и хранят при 4°C. Клетки в количестве 1,0; 1,5 или 2·10⁹ вводят молодым кроликам в ушную вену с интервалами в 4 суток и затем через неделю берут кровь из сердца. Сыворотку готовят центрифугированием собранной крови при 1 000 x g в течение 30 мин при 4°C, чтобы удалить клетки бактерий. Титр агглютинации иммуноглобулинов, полученных на культуру *T. ferrooxidans* согласно методу Байлера и Скотта был более, чем 1:2 500 [67]. Он поддерживается в кроликах путем периодического подкожного введения 2х10⁹ клеток.

Иммуноглобулины не специфичные к *T. ferrooxidans* удаляют из сыворотки адсорбцией на смеси клеток *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и на неизвестных видах *Thiobacillus*, выделенных из этих же рудничных вод. Сыворотку смешивают с этими клетками и оставляют на ночь при 4°C. Затем смесь центрифугируют при 20 000 x g в течение 15 мин при 4°C. Очищенную сыворотку разбавляют в 10 раз 0,1 М Na-К-фосфатным буфером (pH 7,4), стерилизуют фильтрованием, разливают по 0,5 мл и хранят при -10°C. Сыворотку до и после адсорбции проверяют на специфичность к *T. ferrooxidans* путем окрашивания различных бактерий, описанных выше, на предметном стекле, используя метод флюоресцентных антител.

Метод количественного определения *T. ferrooxidans* заключается в следующем. Образцы по 50 мл кислой рудничной воды фильтруют через поликарбонатные фильтры (Nucleopore D=25 мм, размер пор 0,4 мкм), которые предварительно вымачивают в Индийских чернилах несколько минут. Затем фильтры нейтрализуют 25 мл ФСБ. Для ингибирования неспецифической флюоресценции на фильтры добавляют 0,2 мл бычьего сывороточного альбумина (БСА) (20 мг/мл в 0,01 М Na-К-фосфатного буфера при pH 7,4). После 30 мин непрореагировавший бычий сывороточный альбумин удаляют отсасыванием и фильтры покрывают 0,2 мл кроличьей сыворотки, полученной на культуру *T. ferrooxidans*. Спустя 30 мин непрореагировавшую сыворотку удаляют промыванием по крайней мере 50 мл ФСБ. После этого 0,2 мл флюоресцирующего изотиоцианата (FITC), связанного с козьей антикроличьей сывороткой (Cappel, Labor; концентрация антител - 2,8 мг/л; общий белок - 2,3 мг/л), наносят на фильтры и оставляют для протекания реакции на 30 мин. Избыток FITC-связанной сыворотки удаляют отсасыванием, и фильтры промывают минимум 100 мл ФСБ, чтобы удалить всю непрореагировавшую FITC-связанную сыворотку.

Окрашенные фильтры помещают на предметные стекла в несколько капель ФСБ-глицериновой смеси (1:9 об/об) и покрывают покровным стеклом.

Фильтры на предметном стекле просматривают в люминесцентном микроскопе. Число флюоресцирующих клеток на площади фильтра 0,01 мм² определяют при подсчете 50 таких площадей для каждого образца с помощью окулярной сетки. Число клеток в 1 мл образца рассчитывают как значение числа клеток на площади 0,01 мм², умноженное на 10³.

Известны и другие новые методы учета и дифференциации *T. ferrooxidans*, например, метод иммунологической и электрофоретической идентификации различных штаммов *T. ferrooxidans* в культуре, содержащей другие железоокисляющие или гетеротрофные бактерии [151].

Джейтс и Холмс [150] предложили для этих целей метод использования молекулярных проб, состоящих из клонированных последовательностей ДНК. При наличии соответствующей базы эти методы могут быть использованы в лабораторной практике.

При чановом выщелачивании металлов приходится иметь дело с большой биомассой бактерий, причем оценивать ее необходимо в пульте, т.е. в жидкой и твердой фазах, в короткие периоды времени. Вышеперечисленные методы малопригодны для этих целей. Ниже предлагается ряд методов, разработанных для учета биомассы *T. ferrooxidans* в технологических процессах.

2.3.4. Экспресс-метод определения биомассы *T. ferrooxidans*

Концентрацию сырой биомассы в культуре можно определить по Коврову и др. [28] центрифужным методом. Для этого в специальную пробирку, изготовленную из оргстекла (рис. 2.1), наливают некоторый объем культуры, например, 5 мл и центрифугируют при 6000 об/мин в течение часа.

После этого по отградуированному узкому цилиндру пробирки определяют объем упакованных клеток. Объем пробирки должен быть около 5 мл, но при работе с разбавленными культурами порядка 0,1 г/л биомассы объем может быть увеличен до 25–50 мл. Внешние размеры пробирки определяются посадочным гнездом применяющейся центрифуги, которая должна иметь ротор с поворотными стаканами. Измерительная часть пробирки — цилиндрическое сверление диаметром 1,5–3 мм (чем тоньше сверление и длиннее измерительный цилиндр, тем точнее измерение). Объем всего измерительного канала пробирки должен быть примерно вдвое больше, чем среднее ожидаемое количество биомассы клеток в объеме культуры, помещаемом в пробирку для измерения концентрации. Градуировка пробирки проводится следующим образом. В пробирку вводится вода в количестве, которое по расчету должно заполнить ее измерительный канал (количество воды определяется взвешиванием пробирки). Кратковременным центрифугированием вода осаживается в измерительный канал пробирки и по верхнему уровню воды наносится метка. После этого расчетным путем определяются и наносятся все промежуточные метки. Например, в пробирке, рассчитанной на 5 мл культуры, удобно наносить метки через 5 мг воды в канале. Тогда каждое деление измерительного цилиндра пробирки соответствует концентрации сырой биомассы в г/л.

Предполагается, что удельный вес сырой биомассы бактерий мало отличается от единицы. Снятие отсчета по шкале проводят с точностью 1/4 деления, т.е. 0,25 г/л, что соответствует при концентрации сырой биомассы 10 г/л ошибке $\pm 2,5\%$ измеряемой величины.

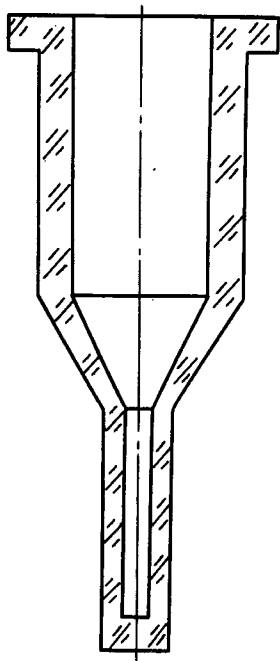


Рис. 2.1. Центрифужная пробирка для определения концентрации сырой биомассы *T. ferrooxidans*

При измерении концентрации в более плотных пробах в пробирку может быть внесено меньшее количество культуры, например, 2,5 мл вместо 5 мл., тогда цена деления шкалы пробирки увеличится соответственно вдвое. При измерении концентрации биомассы в жидких культурах для повышения точности измерения можно накапливать осадок клеток из нескольких порций культуры последовательно центрифугируемых в одной и той же пробирке.

Для определения концентрации сухой биомассы клеток пользовались пересчетным коэффициентом 0,26 — отношение массы сухих клеток к сырым, которое периодически в ходе экспериментов проверялось весовым методом.

При определении концентрации бактерий в пульпе твердую часть отделяют путем центрифугирования при 300 x g в течение 10 мин [51]. Для определения концентрации биомассы используются центрифужные пробирки из полированного оргстекла объемом 50 см³ с капиллярами диаметром 0,8, 1,13, 3,0 мм (рис. 2.1). Аликвотную часть раствора (1–5 мл и более) помещают в центрифужную пробирку и бактерии осаждают в капилляр пробирки в центрифуге при 6,5 тыс. x g в течение 45 мин. Тонкие взвеси ярозита, гидратов железа и т.п. растворяют добавлением к пробе до центрифугирования HCl до pH 0,8–1,1. Другие авторы капилляр пробирки калибруют в миллиграммах биомассы, приходящейся на 1 мм его высоты (плотность сырой биомассы принята равной 1,01). При высоте столба осевших в капилляре клеток определяют их массу в аликвотной части (в мг) и, зная объем раствора, рассчитывают концентрацию бактерий в жидкой фазе пульпы — m (г/л). В качестве контроля в отдельных случаях следует использовать и другие методы оценки биомассы клеток бактерий, как, например, метод 10-кратных предельных разведений на среде 9К с расчетом наиболее вероятного числа клеток [36] или модифицированный метод Петерсона для определения белка [191], приведенный ниже.

Для пересчета биомассы (г/л) в количество клеток (кл/мл) используется уравнение:

$$X = m \cdot 3,8 \cdot 10^9, \quad (2.1)$$

где X — количество бактерий в 1 мл жидкой фазы пульпы, кл/мл;
 m — масса бактерий, г/л;

2.3.5. Определение биомассы *T. ferrooxidans* по белку

Пульпа. Используется метод Петерсона [191], который несколько модифицируется в зависимости от химического состава выщелачиваемых минералов. Анализ складывается из следующих этапов:

1. Получение гидролизата клеток из пульпы.
2. Осаждение белка из гидролизата трихлоруксусной кислотой (ТХУ) в присутствии дезоксихолата натрия.
3. Количественное определение белка в полученном гидролизате.

Для этого отбирают 5 мл пульпы после ее тщательного перемешивания и гидролизуют в течение 15 минут в 25 мл 0,5 М раствора NaOH на кипя-

щей водяной бане с периодическим перемешиванием. При этом гидролизу подвергаются как клетки, находящиеся в растворе, так и адсорбированные на частицах концентрата. Полнота гидролиза клеток проверяется путем повторной аналогичной процедуры с последующим определением белка.

Гидролизат отделяют от твердой фазы центрифугированием при 5000 об/мин в течение 5 минут. После центрифугирования гидролизат должен быть прозрачным и бесцветным. Если это условие нарушается, то возможно завышение показаний по белку. Появление окраски может быть связано с выходом в гидролизат ионов металлов и сульфидной серы из перешедших в него продуктов деструктирования сульфидных минералов.

Поэтому, в тех случаях, когда получаемые гидролизаты имеют окраску, проводят обработку их перекисью водорода (1 капля H_2O_2 на 1 мл гидролизата) и выдерживают 3 минуты при комнатной температуре.

В результате такой обработки сульфид переходит в сульфат. Избыток перекиси водорода удаляют прогреванием на кипящей водяной бане. Полноту удаления перекиси водорода контролируют по роданиду аммония или иодистому калию.

Следующий этап заключается в осаждении белка из гидролизата. Для этого к 1 мл гидролизата добавляют 0,3 мл 0,15% дезоксихолата натрия, выдерживают при комнатной температуре 10 минут, затем добавляют 0,3 мл 72% ТХУ, центрифугируют, а осадок подсушивают путем опрокидывания центрифужных пробирок на фильтровальную бумагу. Если содержание белка в пробе низкое, осаждение его можно проводить из 2–3 мл гидролизата. При этом пропорционально увеличивают количество добавляемых дезоксихолата и ТХУ.

С полученным осадком белка проводят колориметрическую реакцию по модифицированному методу Лоури [164]. Для этого к осадку добавляют 1 мл воды и 1 мл раствора А*. Реакционную смесь тщательно перемешивают и выдерживают 10 минут при комнатной температуре. После этого к ней добавляют 0,5 мл раствора Фолина**, разведенного в 10 раз, перемешивают, выдерживают 30 минут при комнатной температуре и измеряют оптическую плотность при длине волны 750 нм. Установка прибора на нулевое положение осуществляется по контрольному раствору, состоящему из 1 мл щелочного гидролизата, полученного из исходного концентрата с добавлением всех компонентов реакции.

* Состав раствора А: раствор А состоит из смеси равных объемов растворов 0,8 М NaOH, 10% додецилсульфата натрия, воды и смеси растворов 10% карбоната натрия, 0,2% виннокислого калия и 0,1 сульфата меди.

** Реактив Фолина готовят следующим образом: 100 г вольфрамвоокислого натрия, 25 г молибденовоокислого натрия, 750 мл H_2O , 8 мл 85% фосфорной кислоты (орто) и 100 мл H_2O нагревают 10 часов при умеренном кипячении с обратным холодильником. Затем добавляют 150 г сернокислого лития, 50 мл H_2O и несколько капель брома. Избыток брома удаляют кипячением без холодильника, охлаждают, фильтруют, доводят объем до 1 л.

Калибровочную кривую строят по стандартному раствору бычьего альбумина. К 1 мл пробы с определенными концентрациями белка добавляют 5 мл 0,5 Н NaOH, отбирают по 1 мл смеси и проводят осаждение белка и его определение, как это описано выше. Построение кривой данным методом позволяет учесть все разведения и некоторые погрешности метода.

На точность анализа влияют также ионы некоторых металлов, в частности, меди. Для выяснения ошибки анализа к пробам со стандартными растворами альбумина объемом в 1 мл следует добавлять по 1 мл жидкой фазы пульпы, где бактерии предварительно удалены центрифугированием. К образцам добавляют по 4 мл 0,5 Н NaOH и отбирают по 1 мл на анализ. Осаждение белка и его колориметрическое определение проводят методом описанным выше. Полученные данные сопоставляют с показаниями стандартных растворов белка. Прямая пропорциональная зависимость между концентрацией белка и оптической плотностью конечного раствора соблюдается в пределах от 0,3 до 2,0 мг/мл белка в пульпе.

Данный метод проверен и используется при выщелачивании сульфидных концентратов, не содержащих меди.

Жидкая фаза пульпы. Для определения белка биомассы в жидкой фазе пульпы твердую часть отделяют центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1 мин, а клетки концентрируют при 6000 об/мин в течение 20 мин. Осадок подсушивают опрокидыванием центрифужных стаканчиков на фильтровальную бумагу. Благодаря этой процедуре исключается влияние ионов тяжелых металлов из выщелачивающих растворов на количественное определение белка. Следовые количества их, сорбированные клетками, не вносят искажений в результаты анализов. Гидролизуют клетки в том же режиме, как и при определении белка биомассы в пульпе. Выпавший осадок окисного железа отделяют центрифугированием при 6000 об/мин. Белок в супернатанте определяют по методу Лоури. Для этого к 1 мл гидролизата добавляют 5 мл раствора С*, выдерживают 10 минут при комнатной температуре, после чего добавляют 0,5 мл раствора Фолина, разбавленного в 2 раза. Оптическую плотность измеряют через 30 мин при длине волны 750 нм.

По разности содержания белка в пульпе и надосадочной жидкости вычисляют содержание белка клеток, сорбированных на частичках концентрата. Для расчета количества сухой биомассы определяют содержание белка в определенной навеске лиофильновысушенных клеток.

2.3.6. Электроинно-микроскопические методы исследования

Морфо-цитологические исследования бактерий, участвующих в выщелачивании металлов, позволяют дать оценку их состояния в технологи-

* Раствор С (готовят перед применением): 25 мл реактива А + 0,5 мл реактива Б

Реактив А: 1,45 г NaOH + 500 мл H_2O + 10 г Na_2CO_3

Реактив Б: 0,5 г $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ + 100 мл H_2O + 1 г лимоннокислого натрия.

ческом процессе и выявить многообразие форм в рудах и концентратах при их выщелачивании.

Например, исследование тонкого строения бактерий в динамике позволяет изучить влияние физико-химических условий на ультраструктурную организацию клеток и в конечном счете обнаруживать связь между структурой и функцией организма в целом. Основные приемы электронно-микроскопических методов исследования хорошо отработаны. При работе с растворами биомассу клеток обычно получают путем центрифугирования или в полевых условиях путем фильтрования через мембранные фильтры (размер пор 0,2–0,3 мкм). Однако работа с рудой или пульпой имеет свою специфику, поскольку большая часть клеток связана с твердой фазой, мешающей получению качественных препаратов. Задача здесь сводится к отделению клеток от твердых частиц и получению суспензии клеток, находящихся на поверхности минералов. Для этого проводят центрифугирование пульпы при 1000 об/мин в течение 1 мин для отделения грубых частиц минералов. Затем пульпу центрифугируют при 6000 об/мин в течение 20 мин. При этом клетки отделяются от твердых частичек и собираются в виде пленки на поверхности твердого осадка. Налет клеток осторожно смывают с поверхности минерального осадка средой 9К без железа, после чего осадок трехкратно промывают средой с последующим центрифугированием, каждый раз собирая при этом клетки с поверхности осадка. Из объединенной суспензии клеток минеральные частицы удаляют центрифугированием при 1000 об/мин в течение 3 минут, а клетки концентрируют центрифугированием при 6000 об/мин в течение 20 минут.

Тотальные препараты готовят следующим образом. Равные по объему капли бактериальной суспензии наносят на сеточку с пленкой-подложкой и добавляют 1%-ый раствор фосфорновольфрамовой кислоты (рН 2,0). Время экспозиции – 30 сек. В случае выпадения осадка, гидрата железа, сеточки необходимо промыть подкисленной водой (рН 2).

Для получения ультратонких срезов суспензию клеток тщательно отмывают от окисного железа путем многократного центрифугирования со средой 9К без железа (рН 2) при 1000 об/мин в течение 3 мин. Фиксацию с хорошей сохранностью структур дает метод Ритер-Келленберга, основанный на фиксации объектов 2%-ной осмиевой кислотой, разбавленной в соотношении 1:1 буфером следующего состава: буфер Михазлиса (мединал – 1,47 г, ацетат натрия – 0,97 г, NaCl – 1,70 г на 50 мл дистиллированной воды) – 5 мл; 0,1 Н HCl – 7 мл; H₂O – 13 мл; 1 М CaCl₂ – 1 мл. Фиксация осуществляется в течение 18–24 ч. при 5–6°C с добавлением 1% по объему мясо-пептонного бульона. По истечении времени фиксации клетки собирают центрифугированием при 5000 об/мин в течение 15 мин, заключают в 2%-ный агар, обезвоживают этиловым спиртом и абсолютным ацетоном и заключают в Эпон 812. Предполимеризацию проводят при 37°C в течение двух суток, полимеризацию – при 63°C также двое суток. Срезы получают на ультрамикротоме LKB, контрастируют 3%-ным раствором уранилацетата на ацетатном буфере (рН 4,5) в течение 12 мин при 50°C и докрашивают раствором цитрата свинца 10 мин при той же температуре. Срезы просматривают под электронным микроскопом.

2.4. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ

2.4.1. Определение интенсивности фиксации ¹⁴CO₂ [22, 48]

Об активности роста хемолитоавтотрофных бактерий при кучном, подземном и чановом выщелачивании металлов можно судить по интенсивности фиксации клетками ¹⁴CO₂. Ниже приводится ряд примеров использования данного метода. Свежеотобранная кислая вода, содержащая бактерии и Fe²⁺, по 10 мл наливается в склянки объемом 12–15 мл, которые закрываются резиновой пробкой так, чтобы под ней остался воздух. Затем шприцем, прокалывая пробку, вносят точно по 0,1 мл раствора Na₂ ¹⁴CO₃ удельной активности 1·10⁷ имп/мин в 1 мл. Эту операцию нужно проводить обязательно в закрытой склянке, т.к. испытуемые растворы имеют низкое значение рН, и радиоактивный карбонат находится в виде ¹⁴CO₂. Каждый вариант опыта ставится в трех повторностях. Раствор меченой соды предварительно фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,25–0,3 мкм, разливают в ампулы, которые запаивают и кипятят три раза на водяной бане. В таком виде раствор радиоактивной соды может храниться продолжительное время. Часть опытных склянок помещают в рудничную воду при естественной температуре, а часть – при комнатной температуре. Время экспозиции зависит от ряда факторов (температуры, количества бактерий, Fe²⁺ и др.) и может длиться от нескольких часов до нескольких суток.

По окончании опыта в каждую склянку вносят по 0,5 мл 40% формалина и содержимое перемешивают. Дальнейшие операции проводят в лаборатории. Раствор профильтровывается через мембранные фильтры с размерами пор 0,25–0,3 мкм, фильтры обрабатывают 2%-ной соляной кислотой для удаления осадка (гидраты окиси железа). Радиоактивность бактерий определяют на сцинтилляционном счетчике.

Количество бактерий определяют до и после опыта либо методом предельных десятикратных разведений, либо по белку.

При работе с кислыми водами о фиксации ¹⁴CO₂ обычно судят либо по радиоактивности биомассы, либо делают пересчет на количество фиксированного углерода. В последнем случае определяют общее содержание углерода в среде аналитическим либо расчетным путем. Величину фиксации CO₂ рассчитывают по формуле:

$$C_x = \frac{C_{\text{карб.}} \cdot \tau}{R \cdot t}, \quad (2.2)$$

- где C_x — величина фиксации CO₂ в мг углерода на 1 л;
 $C_{\text{карб.}}$ — содержание углерода в воде;
 R — общая радиоактивность воды в склянках после добавления в них раствора Na₂ ¹⁴CO₃, выраженная в имп./мин на 1 л;
 τ — радиоактивность бактерий на фильтре в имп./мин на 1 л профильтрованной воды;
 t — срок инкубации склянок

В пульпе бактерии на 50–80% адсорбированы на твердых частицах. Следовательно, радиоактивность целых клеток, адсорбированных на минералах, не может быть достоверно определена, так как твердые частицы дают искажение результатов. Поэтому вначале пульпу гидролизуют, удаляют минеральные компоненты центрифугированием и осаждают органические компоненты трихлоруксусной кислотой в присутствии дезоксихолата натрия. При этом основные высокомолекулярные соединения (белки и нуклеиновые кислоты) выпадают в осадок. Их собирают на мембранном фильтре и определяют радиоактивность.

Таким образом, данный метод позволяет учитывать как адсорбированные на твердых частицах клетки, так и клетки в жидкой фазе.

Схема опыта приводится ниже. Во флаконы объемом 10 мл вносят по 5 мл тщательно перемешанной пульпы, герметично закрывают их и шприцем вводят 1 мл раствора $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ с радиоактивностью 1 мк Кю мл. Пробу ставят при температуре 20°C на качалку на 4–6 часов, после чего в каждый флакон вводят по 1 мл формалина для фиксации процесса. Затем отбирают по 2 мл пульпы из флаконов и гидролизуют в 10 мл 0,5 М NaOH на кипящей водяной бане в течение 20 мин. Твердую минеральную часть отделяют от гидролизата центрифугированием. Из супернатанта отбирают по 1 мл гидролизата на определение белка по методу Петерсона, как описано выше. Для определения активности 2–3 мл гидролизата отбирают в центрифужные пробирки, добавляют 1,5% раствор дезоксихолата натрия из расчета 0,3 мл на 1 мл гидролизата, перемешивают и через 15 мин добавляют 73% ТХУ из такого же расчета. Образующийся осадок собирают на мембранном фильтре (размер пор 0,2–0,3 мкм) и промывают 2% раствором HCl. Фильтры просчитывают под жидкостным сцинтилляционным счетчиком. Каждый образец исследуют на радиоактивность в 2-х повторностях. Полученные данные выражают в имп./мин и рассчитывают на 1 мг белка за единицу времени. Например, если радиоактивность органических компонентов из 5-ти мл равняется 1476 имп./мин, а содержание белка — 0,212 мг/мл, то величина относительной скорости фиксации CO_2 бактериями составит:

$$\frac{1476}{5 \cdot 0,256} = 1153 \text{ имп./мин/мг белка}$$

2.4.2. Другие методы определения активности бактерий

При кучном и подземном выщелачивании металлов практически удается определить только скорость бактериального окисления Fe^{2+} в растворах. Показано, что условия жизнедеятельности бактерий, окисляющих Fe^{2+} в растворах, не одинаково благоприятны, а число клеток бактерий зачастую низкое и колеблется от $2,5 \cdot 10^4$ до $2,5 \cdot 10^6$ кл/мл. В различных пробах воды, бактерии отличаются и по активности. Поэтому активность

окисления Fe^{2+} бактериями необходимо определять в различных точках установки. Пробу рудничной воды (по 30 мл) вносят в колбы Эрленмейера объемом 100 мл, покрывают фольгой и помещают при той же температуре в ручейки. При отсутствии Fe^{2+} в растворах вносят соль $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в различных количествах и определяют потенциальную активность бактерий в окислении Fe^{2+} при реальных условиях. Аналогичные варианты ставят также при комнатной температуре с целью определения влияния температуры на активность бактериального окисления Fe^{2+} , поскольку для рудничных вод характерна пониженная температура. В каждом случае ставят по две колбочки, в которых бактерии убиты формалином. Этот контроль позволяет оценить идет ли химическое окисление Fe^{2+} в данных конкретных условиях. Периодически в растворах определяют Fe^{2+} , Fe^{3+} и биомассу бактерий.

Для оценки скорости поглощения газов (кислорода) в процессах бактериального выщелачивания в большинстве случаев используют аппарат Варбурга.

В сосудики Варбурга вносят 1,5–2,5 мл пульпы, а во внутренний цилиндр вносится для поглощения двуокиси углерода 0,5 мл 20% раствора КОН. Затем сосудики подсоединяют к манометрам, устанавливают их в термостатированную ванну и включают агитационный механизм при сообщении сосудиков с атмосферой.

В экспериментах с пульпой частота качаний сосудиков должна быть не менее 250–270 в минуту. После выравнивания температуры (10–20 минут) сосудики разобщают с атмосферой и по разности уровней жидкости в коленах U-образного манометра определяют объем поглощенных газов за период времени Δt . Для кинетических расчетов можно использовать значения скорости потребления кислорода, выраженные в мкл $\text{O}_2 \cdot \text{мин}^{-1}$, мкл $\text{O}_2 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{г}^{-1}$ биомассы, г $\text{O}_2 \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{час}^{-1}$.

Получаемые в ходе эксперимента значения скорости поглощения кислорода являются кажущимися. Для получения истинных значений следует определить зависимость его поглощения от влияющих факторов.

2.4.3. Определение температурного коэффициента

Зависимость скорости химической реакции от температуры характеризуют температурным коэффициентом Q_{10} , показывающим во сколько раз изменяется скорость реакции при увеличении температуры на каждые 10°C.

Величину Q_{10} определяют из уравнения:

$$Q_{10} = \frac{V_2}{V_1} \cdot \frac{10}{T_2 - T_1}$$

где T — температура, °K;
V — максимальная скорость окисления.

2.5. МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ

2.5.1. Общие положения

Получение и использование высокоактивных штаммов бактерий, окисляющих Fe^{2+} , S^0 и сульфидные минералы или осуществляющих другие процессы, является одним из важнейших факторов интенсификации выщелачивания металлов из руд и концентратов, биосорбции металлов и т.д.

Так например, при получении высокоактивных штаммов *T.ferrooxidans* важны следующие характеристики:

1. Скорость накопления биомассы (удельная скорость роста).
2. Скорость фиксации CO_2 .
3. Активность окисления сульфидов (по накоплению в растворе ионов металлов и по потреблению O_2).
4. Устойчивость бактерий к ионам тяжелых металлов.
5. Скорость адгезии бактерий на твердых частичках и распределение их между твердой и жидкой фазами в пачуках.
6. Сохранение свойств бактериями при их хранении.

В качестве примера можно привести характеристики исходного и полученного из него высокоактивного штамма *T.ferrooxidans* при выщелачивании цинка из медно-цинкового концентрата (табл. 2.1).

Ниже описывается ряд подходов при получении высокоактивных штаммов бактерий.

2.5.2. Селекция и индуцированный мутагенез *T.ferrooxidans*

„Дикие” штаммы *T.ferrooxidans* проявляют неодинаковую активность в окислении сульфидных минералов и устойчивость в экстремальных условиях. Очевидно, что уже в природных условиях имеется множество популяций генетически устойчивых мутантов, адаптированных к конкретным условиям среды (тип сульфидной минерализации, pH, концентрация металлов). Именно этот уровень изменчивости и определяет скорость окислительных процессов, происходящих в рудных месторождениях.

Более активные штаммы *T.ferrooxidans* можно выделить при кучном, подземном и чановом выщелачивании металлов, когда окислительные процессы активизируются. В этой новой экологической нише, для которой характерны более высокие концентрации металлов и более низкие значения pH, создаются условия для появления более активных и устойчивых к металлам штаммов *T.ferrooxidans* и других бактерий (табл. 2.1).

Т а б л и ц а 2.1

Характеристика штаммов *T.ferrooxidans* [43]

Параметры	Исходный штамм ВКМВ-458	Высокоактивный штамм
Число клеток бактерий в 1 мл раствора или пульпы	10^6	10^9
Активность окисления Fe^{2+} , %	100	300
Коэффициент активности микроорганизмов по отношению к окислению сульфидов концентрата, мкл O_2 в мин	0,1	2,0–3,5
Концентрация меди, подавляющая активность клеток на 30–40%, г/л	1,5	15,0
Концентрация цинка, подавляющая активность клеток на 30–40%, г/л	8,0	100,0
Время установления равновесия между клетками в растворе и адсорбированными на минералах, час	120–300	1–5

Классические генетические методы получения высокоактивных штаммов *T.ferrooxidans* и других ацидофильных бактерий разработаны слабо, хотя интерес к ним в настоящее время большой [123–131]. В качестве исходного материала используют штаммы, характеризующиеся следующими основными признаками:

- а) высокий железо- и/или сероокисляющей активностью (сульфид-окисляющей);
- б) сравнительно хорошим ростом на твердых питательных средах или на мембранных фильтрах;
- в) выраженной естественной изменчивостью.

Естественная изменчивость определяется после посева 0,1 мл разбавленной клеточной суспензии на твердые среды с Fe^{2+} или S^0 в качестве источника энергии. Окислительная активность каждого отдельного варианта, т.е. каждой единичной колонии, выросшей на твердых средах, определяется после высева на жидкую питательную среду с тем же энергетическим субстратом и сравнения с активностью соответствующего исходного штамма, которая принимается за 100%. Распределение вариантов в классах происходит через интервалы, равные 20%. Только штаммы, обладающие сравнительно более высокими вариационными коэффициентами, отбирают для воздействия мутагенами.

Для этого готовят суспензию клеток бактерий, находящихся в конце экспоненциальной фазы роста культуры. До сих пор в качестве мутагенов для получения мутантов *T.ferrooxidans* были использованы УФ лучи, этиленмин и N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин. Эффективными были следующие дозы мутагенов: 100–160 J/m² для ультрафиолетовых лучей, 0,04–0,06% при экспозициях 1–3 часа для этиленмина и 100 мкг/мл при экспозициях 10–30 минут для нитрозогуанидина.

Суспензию бактерий после воздействия мутагенами по 0,1 мл высевает на твердые питательные среды с Fe^{2+} или S^0 с целью определения степени выживаемости клеток и идентификации мутантов. Выживаемость бактерий в целом в суспензии определяют при сравнении с выживаемостью клеток, не обработанных мутагенами. Мутанты, обладающие высокой железомедью- и/или сероокисляющей активностью, идентифицируются методом тотального отбора или методом, основанным на различной скорости образования колоний отдельными вариантами на твердых питательных средах. Во втором случае отбирают только те колонии, которые раньше других выросли на средах, так как было установлено, что активность клеток, образующих эти же колонии, самая высокая. После выделения самых активных вариантов их пересевают не менее, чем 3—4 раза на жидкую среду 9К с Fe^{2+} или S^0 . При этом их активность определяют перед каждым последующим переосевом. В качестве селекционного материала на последующих стадиях ступенчатой селекции используются только стабильные мутанты. Путем селекции, основанной на комбинированном применении вышеуказанных мутагенов и на естественной изменчивости бактерий, можно получить мутантные штаммы, окислительная активность которых намного выше, чем активность соответствующих исходных штаммов.

2.5.3. Методы генной инженерии

Получение высокоустойчивых и активных штаммов тиаобацилл, в частности, *T. ferrooxidans* методами генной инженерии изучается в ряде лабораторий. Открыты плазмиды, несущие гены устойчивости *T. ferrooxidans* к серебру, ртути, урану, изучается биология плазмид и разрабатываются методы получения генетически модифицированных тиаобацилл [150, 169, 199, 228].

Возможно, что в будущем эти штаммы бактерий найдут применение в гидрометаллургии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрашитова С.А., Илялетдинов А.Н., Мынбаева Б.Н., Абдуллина Г.Г., Микробиология, 1982, 51, № 1, 34.
2. Абдрашитова С.А., Мынбаева Б.Н., Илялетдинов А.Н., Микробиология, 1981, 50, № 1, 41.
3. Авакян З.А., В сб.: Биотехнология металлов. Г.И. Каравайко и С.Н. Грудев (ред.) Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 181.
4. Авакян А.А., Каравайко Г.И., Микробиология, 1970, 39, № 5, 855.
5. Авакян З.А., Пивоварова Т.А., Каравайко Г.И., Микробиология, 1986, 55, № 3, 477.
6. Александров В.Г., Зак Г.А., Микробиология, 1950, 19, № 2, 97.
7. Бертелен Ж., В сб.: Биотехнология металлов. Г.И. Каравайко и С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 162.
8. Бирюзова В.И., Коробушкина Е.Д., Позмогова И.Н., Каравайко Г.И., Микробиология, 1987, 56, № 2, 209.
9. Головачева Р.С., Каравайко Г.И., Микробиология, 1978, 47, № 5, 815.
10. Головачева Р.С., Каравайко Г.И., Микробиология, 1981, 50, № 6, 1113.
11. Гришин С.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Каравайко Г.И., Микробиология, 1983, 52, № 2, 322.
12. Громова Л.А., Каравайко Г.И., Севцов А.В., Переверзев И.А., Микробиология, 1983, 52, № 3, 455.
13. Дубинина Г.А., Балашова В.В. В сб.: Биотехнология металлов. Г.И. Каравайко и С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 145.
14. Заварзин Г.А., Литотрофные микроорганизмы, Наука, М., 1972, 327 с.
15. Заварзин Г.А., Микробиология, 1972, 41, № 2, 369.
16. Ильина К.А., Касенова А.А., Фролова Л.Ф., 1979, Авт. св. СССР № 859439, БИ № 32 от 30.08.81.
17. Илялетдинов А.Н., Абдрашитова С.А., Микробиология, 1982, 50, № 2, 197.
18. Каравайко Г.И., Микробиологические процессы выщелачивания металлов из руд (Обзор проблемы), Центр международных проектов, ГКНТ, М., 1984, 88 с.
19. Каравайко Г.И., Головачева Р.С., В сб.: Биология термофильных микроорганизмов, 1986, 35.
20. Каравайко Г.И., Громова Л.А., Микробиология, 1983, 52, № 4, 559.
21. Каравайко Г.И., Грудев С.Н., В сб.: Биотехнология металлов. Г.И. Каравайко и С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 7.
22. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И., Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. Наука, 1972, 248 с.
23. Каравайко Г.И., Миллер Ю.М., Капустин О.А., Пивоварова Т.А., Микробиология, 1980, 49, № 6, 849.
24. Каравайко Г.И., Юрченко В.А., Ремизов В.И., Ключникова Т.М., Микробиологический журнал, 1986, 48, № 5, 41.
25. Каравайко Г.И., Юрченко В.А., Ремизов В.И., Ключникова Т.М. Микробиология, 1986, 55, № 5, 709.
26. Квасников Е.И., Степанюк В.В., Ключникова Т.М., Серпокрылов Н.С., Симонова Г.А., Касаткина Т.П., Панченко Л.П., Микробиология, 1985, 54, № 1, 83.
27. Коваленко Э.В., Малахова Т.П., Микробиология, 1983, 52, № 6, 962.
28. Ковров В.Г., Денисов Г.В., Седелников С.М., Культура железобактерий на электрической энергии. Наука, Новосибирск, 1984, 80 с.
29. Коробушкина Е.Д., Каравайко Г.И., Коробушкин И.М., В сб.: Биотехнология металлов. Каравайко Г.И. и С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 130.
30. Кох А., В кн.: Методы общей бактериологии, Ф. Герхард и др. (ред.), Мир, М., 1983, 1, 442 с.
31. Лебедева Е.В., Ляликова Н.Н., Микробиология, 1979, 48, № 3, 517.
32. Лысенко А.М., Цапина И.А., Головачева Р.С., Пивоварова Т.А., Вартанян Н.С., Каравайко Г.И., ДАН СССР, 1984, № 4, 970.
33. Маркосян Г.Е., Биологический журнал Армении, 1972, 25, № 2, 26.
34. Маркосян Г.Е., ДАН СССР, 1973, 211, № 5, 1205.
35. Матвеева Л.А., В сб.: Кора выветривания, Наука, М., 1974, № 14, 227.
36. Мейнел Дж., Мейнел Э., Экспериментальная микробиология (теория и практика), Мир, М., 1967, 347 с.
37. Минеев Г.Г., Геохимия, 1976, № 4, 577.
38. Назина Т.Н., Пивоварова Т.А., Микробиология, 1979, 48, № 2, 302.
39. Парс И., В сб.: Труды VIII Международного конгресса по обогащению полезных ископаемых, Ленинград, 1968, Е-5, 1.
40. Пивоварова Т.А., Маркосян Г.Е., Каравайко Г.И., Микробиология, 1981, 50, № 3, 482.
41. Пивоварова Т.А., Миллер Ю.М., Крашенинникова С.А., Капустин О.А., Каравайко Г.И., Микробиология, 1982, 51, № 4, 552.
42. Пивоварова Т.А., Коробушкина Е.Д., Крашенинникова С.А., Рубцов А.Е., Каравайко Г.И., Микробиология, 1986, 55, № 6, 966.
43. Полькин С.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Технология бактериального выщелачивания цветных и редких металлов, Недра, М., 1982, 288 с.

44. Розанова Е.П., Назина Т.Н., Микробиология, 1976, 45, № 5, 825.
45. Розанова Е.Н., Назина Т.Н., Успехи микробиологии, 1988.
46. Розанова Е.П., Худякова А.И., Микробиология, 1974, 43, № 6, 1069.
47. Романенко В.И., Кореньков В.Н., Микробиология, 1977, 46, № 3, 414.
48. Романенко В.И., Кузнецов С.И., Экология микроорганизмов пресных водоемов, Наука, ЛГУ, 1974, 191 с.
49. Саввичев А.С., Никитин Д.И., Минеев Г.Г., Оранская М.С., Геохимия, 1986, № 1, 117.
50. Сахадзе Л.И., Гвилава М.М., Микроорганизмы окружающей среды. „Наука“ Каз. ССР, Алма-Ата, 1980, 140 с.
51. Скакун Т.О., Полькин С.И., Панин В.В., Адамов Э.В., Каравайко Г.И., Корешков Н.Г., Микробиология, 1985, 54, № 3, 429.
52. Сорокин Ю.И., Микробиология, 1966, 35, № 5, 761.
53. Сорокин Ю.И., Микробиология, 1966, 35, № 5, 967.
54. Трошанов Э.П., В сб.: Роль микроорганизмов в образовании железомарганцевых озерных руд, Наука, М.-Л., 1964, 95.
55. Трошанов Э.П., Микробиология, 1968, 37, № 5, 934.
56. Трошанов Э.П., Микробиология, 1969, 38, № 4, 634.
57. Тырыгина Г.И., Проскурина Р.Д., Прикладная биохимия и микробиология, 1978, 14, № 4, 643.
58. Чеботарев Е.Н., В сб.: Итоги науки и техники, серия микробиологии, 1978, 7, 5.
59. Юрченко В.А., Каравайко Г.И., Ремизов В.И., Ключникова Т.М., Прикладная биохимия и микробиология, 1987, 23, № 3, 404.
60. Яхонтова Л.К., Грудев А.П., Зона гипергенеза рудных месторождений, МГУ, 1978, 229 с.
61. Agate, A.D., In: Biogeochemistry of Metals, G.I. Karavaiko and S.N. Groudev (Eds.), Centre for International Projects GCNT, Moscow, 1985, 377.
62. Agate, A.D., and Deschamps, H.A., In: Conference Bacterial Leaching, W. Schwartz (Ed.), Verlag Chemie, Weinheim-New York, 1977, 243.
63. Aiking, H., Govers, H., and Van Triet, J., Heavy metals Environ. International Conference, Edinburgh, 1985, 1, 54.
64. Arcuri, E.J., Identification of the Cytochrome Complements of Several Strains of Marine Manganese Oxidizing Bacteria and Their Involvement in Manganese Oxidation. Ph. D. thesis. Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York, 1978.
65. Arkesteyn, G.J.M.W., and De Bont, J.A.M., Can. J. Microbiol., 1980, 26, 1057.
66. Badziong, W., Thauer, R.K., and Zeikus, J.G., Arch. Microbiol., 1978, 116, 41.
67. Bailer, W.R., and Scott, E.G., Diagnostic Microbiology, C.V. Mosby Co, St. Louis, 1966, 280.
68. Balch, W.E., Fox, G.E., Magrum, L.T., Woese, R.C., and Wolfe, R.S., Microbiol. Rev., 1979, 43, 2, 260.
69. Barros, M.E.C., Rawlings, D.E., and Woods, D.R., Appl. Environ. Microbiol., 1984, 47, 3, 593.
70. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., R.E. Buchanan, and N.E. Gibbons (Eds.), Baltimore, 1974.
71. Bergey's Manual of Systematic Bacteriol., N.R. Krieg (Ed.), G. Holt (Ed.-in-chief), Williams a. Wilkins, Baltimore-London, 1984, 1, 370.
72. Bergey's Manual of Systematic Bacteriol., P. H.A. Sneath (Ed.), Williams a. Wilkins, Baltimore-London-Los Angeles-Sydney, 1984, 2, 1599.
73. Berry, V.K., Murr, L.E., and Hiskey, L.B., Hydrometallurgy, 1978, 3, 309.
74. Berthelin, J., and Belgv, G., Geoderma, 1979, 21, 297.
75. Beveridge, T.J., Biotechnol. Bioeng. Symp., 1986, No. 16, 127.
76. Bierhaus, E.M., Perez, J., Torma, A.E., and Rossi, G., In: Recent Progress in Biohydrometallurgy, G. Rossi, and A.E. Torma (Eds.), Cagliari, Italy, 1983, 127.
77. Brandis-Heep, A., Gebhardt, N.A., Thauer, R.K., Widdel, F., and Pfennig, N., Arch. Microbiol., 1983, 136, 222.
78. Brierley, C.L., J. Less-Common Met., 1974, 36, 237.
79. Brierley, C.L., In: Biotech. 84; World Biotech. Rept. Europe, Pinner, 1984, 1, 599.
80. Brierley, C.L., and Brierley, J.A., Can. J. Microbiol., 1973, 19, 183.
81. Brierley, C.L., and Brierley, J.A., Zentralbl. Bacteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1 Orig. Reihe, 1982, 3, 289.
82. Brierley, J.A., and Brierley, C.L., In: Biomineralization and Biological Metal Accumulation Biological and Geological Perspectives, P. Westbrook and E.W. DeJong (Eds.), D. Reidel Publishing Co., Dordrecht, 1983, 499.
83. Brierley, J.A., and Le Roux, N.W., In: Conference Bacterial Leaching, W. Schwartz (Ed.), Verlag Chemie, Weinheim-New York, 1977, 55.
84. Brierley, C.L., and Murr, L.E., Science, 1973, 179, No. 4072, 488.
85. Brierley, J.A., Norris, P.R., Kelly, D.P., and Le Roux, N.W., Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1978, 5, 291.
86. Brock, T.D., Brock, K.M., Belly, R.T., and Weiss, R.L., Arch. Microbiol., 1972, 84, 54.
87. Bromfield, S.M., J. Gen. Microbiol., 1954, 11, 1.
88. Bromfield, S.M., Austr. J. Soil Res., 1978, 16, 91.
89. Bromfield, S.M., Soil Biol. Biochem., 1979, 11, 115.
90. Bromfield, S.M., and David, D.J., Soil Biol. Biochem., 1976, 8, 37.
91. Brown, M.J., and Lester, J.N., J. App. Environ. Microbiol., 1980, 40, 179.
92. Bryant M.P., Campbell L.L., Reddy C.A., Crabill M.R. J. App. Environ. Microbiol., 1977, 33, No. 5, 1162.
93. Campbell, L.L., In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. R.E. Buchanan, and N.E. Gibbons (Eds.), 1974, 572.
94. Cassity, T.R., and Kolodziej, B.J., Microbios, 1984, 41, No. 117, 125.
95. Charley, R.C., and Bull, A.T., Arch. Microbiol., 1979, 123, 239.
96. Colmer, A.R., and Hinkle, M.E., Science, 1949, 106, 253.
97. Cowen, J.P., Silver, M.W., Science, 1984, 224, 1340.
98. De Rosa, M., Gambacorta, A., and Bu'Lock, J.D., J. Gen. Microbiol., 1975, 86, 156.
99. Di Spirito, A.A., and Tuovinen, O.H., Arch. Microbiol., 1982, 133, 28.
100. Di Spirito, A., Talnagi, J.W., and Tuovinen, O.H., Arch. Microbiol., 1983, 135, 250.
101. D'Souza, N.Z., and D'Souza, J., In: Recent Progress in Biohydrometallurgy, G. Rossi, and A.E. Torma (Eds.), Cagliari, Italy, 1983, 581.
102. Douka, C.E., Soil Biol. Biochem., 1977, 9, 89.
103. Douka, C.E., Appl. Environ. Microbiol., 1980, 39, 74.
104. Doyle, J.J., Marshall, R.J., and Pflander, W.H., Appl. Microbiol., 1975, 29, 562.
105. Doyle, R.J., Matthews, T.H., and Streips, U.N., J. Bacteriol., 1980, 143, No. 1, 471.
106. Dugan, P.R., Removal of Mine Water Ions by Microbial Polymers. Symposium of Coal Mine Drainage Res., Mallon Inst., Pittsburgh, USA, 1970, 279.
107. Ehrlich, H.L., Dev. Ind. Microbiol., 1966, 7, 279.
108. Ehrlich, H.L., Geomicrobiol. J., 1978, 1, 65.
109. Ehrlich, H.L., In: Biogeochemistry Ancient and Modern Environments, P.A. Trudinger, M.R. Walter, and B.J. Ralph (Eds.), Australian Academy of Sciences and Springer Verlag, Canberra-New York, 1980, 609.
110. Ehrlich, H.L., Geomicrobiology, Marcel Dekker, N.Y., 1981.
111. Ehrlich, H.L., Ghiorse, W.C., Johnson, G.L., 11., Dev. Ind. Microbiol., 1972, 13, 57.
112. Ehrlich, H.L., Yang, S.A., and Mainwaring, J.D., Z. Allg. Microbiol., 1973, 13, No. 1, 39.
113. Friis, M., and Myers-Kelth, P., Biotechnol. Bioeng., 1986, 28, No. 1, 21.
114. Gale, N.L., Biotechnol. Bioeng. Symp., 1986, No. 16, 171.
115. Gale, N.L., and Wixson, B.C., Dev. Ind. Microbiol., 1979, 20, 259.
116. Galizzi, A., and Ferrary, E., Appl. Environ. Microbiol., 1976, 32, 3, 433.
117. Gates, J.E., and Pham, K.D., Microbiol. Ecology, 1979, 5, No. 2, 121.
118. Ghiorse, W.C., Biotechnol. Bioeng. Symp., 1986, No. 16, 141.
119. Grishin, S.I., Skakun T.O., Adamov E.V., Polkin S.I. In: Biogeochemistry of Metals, G.I. Karavaiko and S.N. Groudev (Eds.), Centre for International Projects GKNT, M., 1985, 259.
120. Gordon, R.E., In: Handbook of Microbiology, A.J. Laskin and H.A. Lechevalier (Eds.), CRC Press, 1974, 1, 71.
121. Goroll, D., Z. Allg. Microbiol., 1975, 15, Heft 5, 377.

122. Groshowsky, B., In: Biomining and Biological Metal Accumulation, Biological and Geological Perspectives, P. Westbrook and E.W. DeJong (Eds.), D.Reidel Publishing Co., Dordrecht, 1983, 495.
123. Groudev, S.N., In: Biogeochemistry of Ancient & Modern Environments. P.A. Tru-dinger, M.P. Walter, and B.J. Ralph, (Eds.), Australian Acad. of Sci., Canberra, 1980, 485.
124. Groudeva, V.I., Mutation Selection of *Thiobacillus ferrooxidans* for the Purpose of Bacterial Leaching, M. Sc. Thesis, Univ. of Sofia, Sofia, 1978.
125. Groudeva, V.I., and Groudev, S.N., In: Proc. 12th Meeting of Miners & Metallurgists, Technical Faculty - Bor & Inst. for Copper - Bor, Bor, 1980, 11, 354.
126. Groudeva, V.I., Groudev, S.N., *Microbiologiya* (Belgrade), 1980, 17, 1, 33.
127. Groudeva, V.I., Groudev, S.N., and Markov, K., *Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci.*, 1980, 33, 1401.
128. Groudeva, V.I., Groudev, S.N., and Markov, K., *Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci.*, 1981, 34, 1549.
129. Groudeva, V.I., Groudev, S.N., and Markov, K., *Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci.*, 1982, 35, 371.
130. Groudeva, V.I., Markov, K., and Genchev, F.N., *Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci.*, 1978, 31, 1197.
131. Groudeva, V.I., Markov, K., and Genchev, F.N., *Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci.*, 1978, 31, 1477.
132. Guay, R., and Silver, M., *Can.J. Microbiol.*, 1975, 21, No. 3, 281.
133. Gupta, S.G., and Agate, A.D., *Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol.*, 1986, 52, 121.
134. Harrison, A.P., Jr., *Int.J. Syst. Bacteriol.*, 1981, 31, No. 3, 327.
135. Harrison, A.P., Jr., *Int.J. Syst. Bacteriol.*, 1983, 33, No. 2, 211.
136. Harrison, A.P., Jr., Jarvis, B.W., and Johnson, J.L., *J. Bacteriol.*, 1980, 143, 448.
137. Hart, B.A., and Shafia, B.D., *Environ. Res.*, 1977, 14, 401.
138. Hatch, R.T., and Menawat, A., *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 1978, No. 8, 191.
139. Huising, J., McVeil, J.J., and Matrone, G., *Appl. Microbiol.*, 1974, 28, No. 3, 489.
140. Hutchinson, M., Johnston, K.T., and White, D., *J. Gen. Microbiol.*, 1969, 57, No. 3, 397.
141. Horikoshi, T., Nakajama, A., and Sakaguchi, T., *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1981, 12, 90.
142. Imai, K., Sakaguchi, H., Sugio, T., and Tano, T., *J. Fermentation Technol.*, 1973, 51, No. 12, 865.
143. Imai, K., and Sugio, T., In: Recent Progress in Biohydrometallurgy. G. Rossi and A.E. Torma (Eds.), Cagliari, Italy, 1983, 43.
144. Imai, K., Tano, T., and Noro, H., *Patent U.S. No. 3433629*, 1970.
145. Imhoff, J.F., Truper, H.G., and Pfennig, N., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1984, 34, No. 3, 340.
146. Imhoff-Stuckle, D., and Pfennig, N., *Arch. Microbiol.*, 1983, 136, No. 1, 194.
147. Ingledew, W.J., *Biochem. Biophys. Acta*, 1982, 89, 683.
148. Ingledew, W.J., Cox, I.C., and Halling, P.I., *FEBS Lett.*, 1977, 2, 193.
149. Ivanov, M.V., and Karavaiko, G.I., *Z. Allg. Microbiol.*, 1966, 6, H. 1, 10.
150. Jates, J.K., and Holmes, D.S., In: Fundamental and Applied Biohydrometallurgy. R.W. Lawrence, R.M.R. Branion, H.G. Ebner (Eds.), Elsevier, Amsterdam-Oxford-N.Y.-Tokyo, 1986, 409.
151. Jerez, C.A., Peirano, J., Chamorro, D., and Campos, G., In: Fundamental and Applied Biohydrometallurgy R.W. Lawrence, R.M.R. Branion and H.G. Ebner (Eds.), Elsevier, Amsterdam-Oxford-N.Y.-Tokyo, 1986, 443.
152. Johnson, D.B., and Kelso, W.I., *J. Gen. Microbiol.*, 1983, 129, 2969.
153. Jung, W.K., and Schweisfurth, R., *Z. Allg. Microbiol.*, 1979, 19, 107.
154. Kägi, J.H.R., and Norberg, M., In: Proceedings First, Int. Meeting on Metallothionein and other Low Molecular Weight Metal-Binding Protein, Birkhäuser, Basel-Boston-Stutt-gart, 1979.
155. Karavaiko, G.I., *Impact of Sci. on Society*, 1982, 32, No. 2, 189.
156. Katayama-Fujimura, Y., Enokizoto Y., Kaneko, T., and Kuraishi, H., *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 1983, No. 29, 4, 287.

157. Katayama-Fujimura, Y., Tsuzaki, N., and Kuraishi, H., *J. Gen. Microbiol.*, 1982, 128, No. 7, 1599.
158. Kelly, D.P., and Jones, C.A., In: Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena, L.E. Murr, A.E. Torma and J.A. Brierley (Eds.), Academic Press, New York-San Francisco-London, 1978, 19.
159. Khazaeli, M.B., and Mitra, R.S., *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 1981, 41, 46.
160. Korobushkina, E.D., Karavaiko, G.I., and Korobushkin, I.M., In: Environmental Bio-geochemistry, R. Hallberg (Ed.), Stockholm, 1983, 325.
161. Leathen, W.W., McIntyre, S.A., and Braley, S.A., *Science*, 1951, 114, 280.
162. Le Roux, N.W., and Marshall, V., In: Conference Bacterial Leaching, W. Schwartz, (Ed.), Verlag Chemie, Weinheim-New York, 1977, 21.
163. Le Roux, N.W., Wakerley, D.S., and Hunt, S.D., *J. Gen. Microbiol.*, 1977, 100, 1, 197.
164. Lowry, O.H., Rosenbrough, H.J., Farr, A.L., and Randell, R., *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265.
165. Macaskie, L.E., and Dean, A.C.R., *Environmental Technol. Lett.*, 1982, 3, 49.
166. Macpherson, R., and Miller, J.D.A., *J. Gen. Microbiol.*, 1963, 31, No. 3, 365.
167. Manchee, R.J., *J. Appl. Bacteriol.*, 1975, 38, No. 2, 191.
168. Manning, H.L., *J. Appl. Microbiol.*, 1975, 30, No. 6, 1010.
169. Mao, M.W.H., Dugan, P.R., Martin, P.A.W., and Tuovinen, O.H., *FEMS Microbiol. Letters*, 1980, 8, 121.
170. Marques, R.E., Mayzel, K. and Carstensen, E.L., *Can. J. Microbiol.*, 1976, 22, 975.
171. Marques, A.M., Espuny, T.M.J., Congregado, F., and Simon-Pujol, M.D., *Microbios Letters*, 1982, 21, 143.
172. Martin, P.A.W., Dugan, P.R., and Tuovinen, O.H., *Can. J. Microbiol.*, 1981, 27, No. 8, 850.
173. Martin, P.A.W., Dugan, P.R., and Tuovinen, O.H., *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1983, 18, No. 6, 392.
174. Marsh, R.M., and Norris, P.R., *FEMS Microbiol. Letters.*, 1983, 17, No. 1-3, 311.
175. Millong, G., De Rosa, M., Gambacorta, A., and Bu'Lock, J.D., *J. Gen. Microbiol.*, 1975, 86, 1, 165.
176. Mishra, A.K., and Roy, P.L., *Appl. Bacteriol.*, 1979, 47, 289.
177. Moore W.E.C., Johnson, J.L., and Holdeman, L.V., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1976, 26, No. 2, 238.
178. Munch, J.C. and Ottow, J.C.G., *Pflanzenernähr. Bodenkd.*, 1977, 140, 549.
179. Murrata, T. Patent, French., 1966, No. 1454727.
180. Nakajama, A., Horikoshi, T., and Sakaguchi, T., *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1982, 16, 88.
181. Nakajama, A., and Sakaguchi, T., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1986, 24, 59.
182. Norberg, A.B., and Enfors, S.O., *Appl. Environ. Microbiol.*, 1982, 44, 1231.
183. Norberg, A.B., and Persson, H., *Biotechnol. Bioeng.*, 1984, 26, No. 3, 239.
184. Norberg, A.B., Rydin, S., Failla, M.L., Benedict, C.D., and Weinberg, E.D., *J. Gen. Micro-biol.*, 1976, 94, 23.
185. Norris, P.R., and Kelly, D.P., *J. Gen. Microbiol.*, 1977, 99, 317.
186. Norris, P.R., and Kelly, D.P., In: Metallurgical Application of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena, L.E. Murr, A.E. Torma, and J.A. Brierley (Eds.) Academic Press, New York - San Francisco-London, 1978, 83.
187. Norris, J.R., and Kelly, D.P., *FEMS Microbiol. Lett.*, 1978, 4, No. 1, 143.
188. Olafson, R.W., Abel, K., and Sim, R.G., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1979, 89, 36.
189. Perkins, E.C., and Novelli, F., Bacterial Leaching of Manganese Ores. Report of Inves-tigations 6102 1-II Bureau of Mines. U.S. Dept. of the Interior, 1962.
190. Pfennig, N., Widdel, F., and Truper, H.G., In: The Prokaryotes, P. Starr et al. (Eds.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1981, 2, 941.
191. Peterson, J.L., *Analyt. Biochem.*, 1977, 83, No. 2, 941.
192. Polkin, S.J., Panin, V.V., Adamov, E.V., Karavaiko, G.I., and Chernyak, A.S., Theory and Practice of Utilizing Microorganisms in Processing Difficult-to-Dress Ores and Concentrates. XI Intern. Mineral. Proc. Congr., Cagliari, 1975, Paper 33.

193. Ponnamperna, F.N., and Castro, R.U., In: Proc. 8th Intern. Congr. Soil Sci., Bucharest, 1964, 2.
194. Ponnamperna, F.N., Juan, W.L., and Nhung, M.T.M., *Nature*, 1965, 207, No. 1103, 1104.
195. Postgate, J.R., *Laboratory Practice*, 1966, 15, No. 11, 239.
196. Postgate, J.R., In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., R.E. Buchanan, and N.E. Gibbons (Eds.), Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974, 418.
197. Postgate, J.R., *The Sulfate-Reducing Bacteria*. Cambridge, Cambridge Univ. Press, 1984, 208 pp.
198. Raper, K.B., and Thom, C., *Manual of Penicillia*. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Maryland, 1949.
199. Rawlings, D.E., Sewcharan, R., and Woods, D.R., In: *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*. R.W. Lawrence, R.M.R. Branion, and H.G. Ebner (Eds.), Elsevier, Amsterdam - Oxford - New York - Tokyo, 1986, 419.
200. Sakaguchi, T., Nakajima, A., and Horikoshi, T., *J. Appl. Microbiol., Biotechnol.*, 1981, 12, 84.
201. Samain, E., Dubourguier, H.C., and Albagnac, G., *Syst. Appl. Microbiol.*, 1984, 5/3, 391.
202. Satake, K., *Jap. J. Limnol.*, 1977, 38, No. 1, 33.
203. Schultz-Baldes, A., and Lewin, R.A., *Science*, 1975, 188, 119.
204. Segerer, A., Neuner, A., Kristjansson, T.K., and Stetter, K.O., *Int. J. System. Bacteriol.*, 1986, 36, No. 4, 559.
205. Silverman, M.P., In: *Biogeochemistry of Ancient and Modern Environments*, P.A. Trudinger, M.R. Walter, and B.J. Ralph (Eds.), Australian Academy of Sciences and Springer Verlag, Canberra - New York, 1980, 445.
206. Silverman, M.P., and Lundgren, D.C., *J. Bacteriol.*, 1959, 77, 642.
207. Simon, C., Remacle, J., and Mergley, M., In: *Heavy Metals Environ. International Conference*, Edinburg, 1985, 1, 57.
208. Shumate 11, S.E., Strandberg, G.W., and Parrott, J.R., *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 1978, No. 8, 13.
209. Shumate 11, S.E., Strandberg, G.W., Mc Whirter, D.A., Parrott J.R., Bogacki, G.M., and Locke, B.R., *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 1980, No. 10, 27.
210. Shumate 11, S.E., Hancher, C.W., Strandberg, G.W., and Scott, C.D., In: *Waste Management and Fuel Cycles '78*. R.G. Post, and M.E. Wacks (Eds.) Univ. of Arizona Press, Tucson, 1978, 347.
211. Soljanto, P., and Tuovinen, O.N., In: *Biogeochemistry of Ancient and Modern Environments*, P.A. Trudinger, M.R. Walter, and B.J. Ralph (Eds.), Australian Academy of Sciences and Springer Verlag, Canberra-New York, 1980, 469.
212. Sugio, T., Mizunashi, W., Inagaki, K., and Tano, T., *J. Bacteriol.*, 1987, 169, No. 11, 4916.
213. Thauer, R.K., Jungermann, K., and Decker, K., *Bacteriol. Rev.*, 1977, 41, 100.
214. Thom, C., and Raper, K.B., *A Manual of the Aspergilli*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1945.
215. Torma, A.E., *Can. J. Microbiol.*, 1978, 24, 7, 888.
216. Torma, A.E., and Habashi, F., *Can. J. Microbiol.*, 1972, 18, No. 11, 178.
217. Tortorello, R.C., *Manganic Oxide Reduction by Microorganisms in Fresh Water Environments*. Ph.D. Thesis Tensselaer, Polytechnic Institute, Troy, New York, 1971.
218. Trimble, R.B., and Ehrlich, H.D., *Appl. Microbiol.*, 1968, 16, 695.
219. Trimble, R.B., and Ehrlich, H.L., *Appl. Microbiol.*, 1970, 19, 969.
220. Tsezos, M., *Biotechnol. Bioeng.*, 1983, 25, 2025.
221. Tsezos, M., *Biotechnol. Bioeng.*, 1984, 26, 973.
222. Tsezos, M., Volesky, B., *Biotechnol. Bioeng.*, 1981, 23, 583.
223. Tsezos, M., Volesky, B., *Biotechnol. Bioeng.*, 1982, 24, 385.
224. Tsuchia, H.M., In: *Conference Bacterial Leaching*, W. Schwartz (Ed.), Verlag Chemie, Weinheim-New York, 1977, 101.
225. Tuovinen, O.H., and Kelly, D.P., *Z. Allg. Microbiol.*, 1972, 12, 311.
226. Van Veen, W.L., Antonie van Leeuwenhoek, *J. Microbiol. Serol.*, 1973, 39, 657.
227. Vavra, J.P., and Frederick, L.R., *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 1952, 16, 141.
228. Visca, P., Valenti, P., and Orsi, N., In: *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*, R.W. Lawrence, R.M.R. Branion, and H.G. Ebner (Eds.), Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo, 1986, 429.
229. Volesky, B., and Tsezos, M., *Biotechnol. Bioeng.*, 1981, 23, 583.
230. Waksman, S.A., and Joffe, I.S., *J. Bacteriol.*, 1922, 7, No. 2, 239.
231. Widdel, F., *Anaerobier Abbau von Fettsäuren und Benzoensäuren durch neu isolierte Arten Sulfat-Reduzierender Bacterien*, Dissertation, Göttingen, 1980, 443 ..p
232. Widdel, F., *Arch. Microbiol.*, 1983, 134, 282.
233. Widdel, F., Kohring, G.W., and Mayer, F., *Arch. Microbiol.*, 1983, 134, 286.
234. Widdel, F., and Pfennig, N., *Arch. Microbiol.*, 1977, 112, No. 1, 119.
235. Widdel, F., and Pfennig, N., *Arch. Microbiol.*, 1981, 129, No. 5, 395.
236. Wood, A.P., and Kelly, D.P., *FEMS Microbiol. Letters*, 1983, 20, 107.
237. Zeikus, J.G., Dawson, M.A., Thompson, T.E., Ingvorsen, K., and Hatchikian, C.E., *J. Gen. Microbiol.*, 1983, 129, No. 4, 1159.
238. Zillig, W., Stetter, K.O., Wunderl, S., Schulz, W., Preiss, H., and Scholz, J., *Arch. Microbiol.*, 1980, 125, 259.
239. Zosim, Z., Gutnick, D., and Rosenberg, E., *Biotechnol. Bioeng.*, 1982, 24, 281.
240. Zosim, Z., Gutnick, D., and Rosenberg, E., *Biotechnol. Bioeng.*, 1983, 25, 1725.
241. Zuckerberg, A., Diver, A., Peeri, Z., Gutnick, D.L., and Rosenberg, E., *Appl. Environ. Microbiol.*, 1979, 37, 414.

Глава 3

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ

В настоящей главе рассматриваются методы, использующиеся при разработке и практическом применении бактериального выщелачивания металлов.

Технология бактериального выщелачивания первоначально предусматривает оценку пригодности руды для переработки ее этим способом. Знание свойств минералов позволяет решить эту задачу.

Одной из важных технологических задач является интенсификация процессов бактериального выщелачивания, что достигается использованием концентрированной или иммобилизованной биомассы *T. ferrooxidans*. Поэтому рассматриваются методы ее получения.

Важно также иметь методы статистической обработки результатов и экономической оценки процессов микробиологического выщелачивания.

3.1. МЕТОДЫ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ

3.1.1. Определение пригодности руд для выщелачивания

Пригодность руд для микробиологического выщелачивания определяется их минералогическим и химическим составом. Многие химические элементы токсичны для *T. ferrooxidans* [79] и других бактерий. Поэтому определение химического состава руд является необходимым предварительным этапом работ. Например, некоторые разновидности сфалерита содержат высокие концентрации ртути, которая может вызвать повышение уровня токсичности выщелачивающих растворов.

Изучение минералогического состава руды позволяет получить информацию о видах минералов, которые в ней присутствуют. На основе данных о минералогическом и химическом составе руды определяют процентное содержание в ней отдельных минералов. В этом отношении сульфиды железа, карбонаты, глинистые минералы и их сростки являются наиболее важными. Если известно содержание сульфидов металлов, то определяют максимальную концентрацию металла, которая может быть переведена в раствор при бактериальном выщелачивании. Знание содержания оксидов металлов и карбонатов позволяет предсказать уровень дополнительного извлечения металлов при выщелачивании под действием серной кислоты, обработанной бактериями.

Суммарное содержание оксидов металлов и карбонатов позволяет получить информацию о возможном влиянии серной кислоты — на процесс в целом. И, наконец, присутствие глини также подлежит оценке, хотя только качественной, в связи с возможными изменениями в проницаемости горной массы, что важно при организации промышленных установок.

Благодаря электрохимическим воздействиям, присутствие различных сульфидов металлов в руде также может оказать влияние на кинетику выщелачивания нужного металла. Помимо гальванического эффекта, возникающего на контакте двух сульфидных минералов, растворимость и окисляемость сульфидов металлов зависит от их электродного потенциала. Имеется электрохимический ряд окисляемости металлов [50, 70, 71, 74, 75, 80].

Однако необходимо отметить, что естественное обогащение сульфидов металлов сопутствующими элементами, состав которых обычно изменяется от одного рудного тела к другому, может привести к значительным отклонениям от этого порядка.

Помимо определения химического и минерального состава руд, укрупненно-лабораторные исследования являются наиболее удобным методом определения их пригодности для выщелачивания. Эти методы просты, относительно недороги и, в большинстве случаев дают надежную информацию.

3.1.2. Испытания в колбах на качалках

В этих исследованиях используют колбы Эрленмейера из стекла пирекс и качалку, состоящую из платформы с зажимами для колб, которая совершает возвратно-поступательные или круговые движения. Встряхивание суспензии необходимо для ее перемешивания и гомогенизации, что способствует растворению атмосферного кислорода и других газов (напр., CO_2), которые используются микроорганизмами при росте и окислении неорганических субстратов. Предпочтительнее использовать круговую качалку, особенно, если она имеет достаточные скорость и амплитуду колебаний, в результате чего суспензия перемешивается более равномерно, чем на качалках с возвратно-поступательным движением. Единственный недостаток круговой качалки — это возникновение кругового движения жидкости внутри сосуда — в результате чего уровень гомогенизации суспензии недостаточен. Чтобы избежать этого, используют колбы, на дне которых, под углом друг к другу, расположены два выступа, препятствующие возникновению кругового движения суспензии.

Для определения реальных кинетических параметров микробиологического выщелачивания опыты на качалке проводят при контролируемых условиях. Качалку помещают в термостат, в который с определенной скоростью подается газовая смесь (в случае *T. ferrooxidans* это воздух + CO_2).

Эксперименты проводят в колбах Эрленмейера на 250 мл, в которые вносят 100 г. пульпы, содержащей питательную среду, 10 г руды, измельченной до необходимой крупности, 1–15 мл посевного материала. Скорость перемешивания составляет обычно 250–300 об/мин.

Если в состав руды входят карбонаты, рН пульпы может быстро возрастать, изменяясь от обычного значения рН 2,2–2,5 до значений, при которых активность *T. ferrooxidans* резко снижается. В подобных случаях необходимо провести предварительное определение количества серной кислоты, необходимой для стабилизации рН на нужном уровне. Определения можно проводить в лабораторном стакане на 250 мл, установленном на магнитной мешалке. Раствор серной кислоты по каплям добавляют из бюретки к определенному объему пульпы (руда + питательная среда), рН измеряется потенциометрически с помощью электродов, помещенных в пульпу. Если рН пульпы остается на уровне 2,2–2,5 в течение нескольких часов после добавления последней порции кислоты, система рассматривается как наиболее вероятное, которое необходимо добавлять к руде.

Для получения минимально статистически достоверных результатов, определения необходимо проводить в 3-х повторностях.

В начале опыта, после определения рН пульпы и отбора проб для анализа, колбы взвешивают и значения веса заносят в соответствующую графу таблицы 3.1.

Затем колбы помещают на качалку и по ходу опыта через определенные промежутки времени их снимают с качалки и взвешивают. Первоначальный вес восстанавливают добавлением необходимого количества дистиллированной воды, чтобы компенсировать испарившуюся из пульпы воду. Затем пульпу тщательно перемешивают, и колбы оставляют на вы-

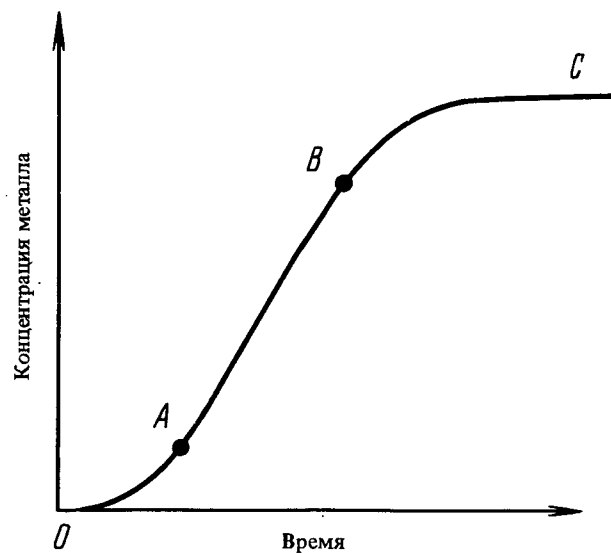


Рис. 3.1. Изменение концентрации металла при выщелачивании сульфидов и колбах на качалках

ключенной качалке до оседания твердых частиц. Измерения рН производят, опуская электроды в пульпу. Затем отбирают аликвотную часть надосадочной жидкости и проводят химические и микробиологические анализы. Результаты наносят либо в табл. 3.1, либо используют для построения графика, на котором результаты определения металлов или рН откладывают на одной оси, а на другой – время. Кривая на подобном графике имеет, обычно, S-образную форму (рис. 3.1). Отрезки АО, АВ и ВС на этой кривой отражают лаг-фазу, экспоненциальную фазу и стационарную фазу выщелачивания соответственно. Наклон касательной, проведенной к экспоненциальной части кривой, отражает скорость выщелачивания металлов. Аналогично строят кривую роста бактерий.

Следует отметить, что, если бактерии не адаптированы к изучаемой руде, одного вышеописанного теста недостаточно для определения пригодности руды к выщелачиванию бактериально-химическим методом. Бактерии адаптируют к руде путем последовательных пересевов. В результате серии таких пересевов продолжительность лаг-фазы существенно сокращается, и возрастает скорость роста и выщелачивания металла (рис. 3.2).

Для сокращения продолжительности опыта руда измельчается обычно до размера 40 мкм. При кучном и подземном выщелачивании, как правило, руда не бывает так тонко измельчена. Поэтому проводя опыты в колбах на качалках нельзя получить информацию о кинетике кучного и подземного выщелачивания и о возможном окончательном уровне выноса металлов, т.к. эти процессы сильно зависят от степени измельчения руды. Поэтому часто предпочитают работать с концентратами, полученными в лаборатории методами гравитационного разделения или флотации.

В последнем случае концентрат тщательно промывают для удаления флотореагентов, чтобы исключить их влияние на активность бактерий [78]. Время испытаний на качалках продолжается не более нескольких дней или недель.

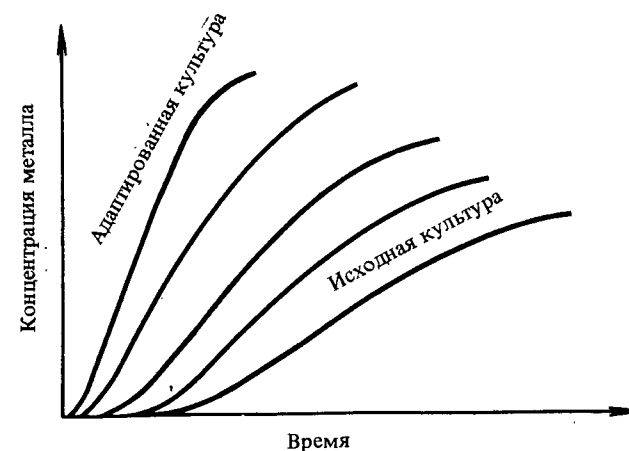


Рис. 3.2. Выщелачивание металла из сульфидов в зависимости от адаптации к ним *T. ferrooxidans*

3.1.3. Испытания в эрлифтных перколяторах

При кучном и подземном выщелачивании металлов из руд выщелачивающий раствор фильтруется через неподвижную измельченную горную массу. В лабораторных условиях при моделировании этих процессов должны быть воспроизведены эти условия.

Эрлифтные перколяторы, изображенные на рис. 3.3, можно рассматривать как самое простое оборудование для воспроизведения вышеуказанных процессов. Перколятор состоит из колонки 6 высотой 30—50 см и диаметром 50 мм, с открытым верхним концом и разделенной на 2 секции сужением 8, расположенным ближе к нижнему концу колонки и служащим для поддержки перегородки пористого стекла 7. Образцы пульпы периодически отбираются через трубку 12 на дне колонки. Стеклянная трубка 13 связывает трубку 12 с трубкой 10, расположенной параллельно колонке. Верхний конец трубки 10 входит в колонку 6 на несколько сантиметров ниже верхнего края, тогда как нижний конец трубки 10 сообщается с системой подачи воздуха. Инжектор 9 вводится в место соединения трубок 10 и 13. При подаче воздуха через трубку 10 выщелачивающий раствор перемешивается и насыщается воздухом или газовой смесью заданного состава, поднимается по трубке 10 и попадает в колонку 6. Пространство между стеклянным фильтром и дном колонки заполняют стеклянной ватой. Руда может быть дифференцирована в колонке в соответствии с расположением частиц в разрушенной горной массе. Такие параметры как

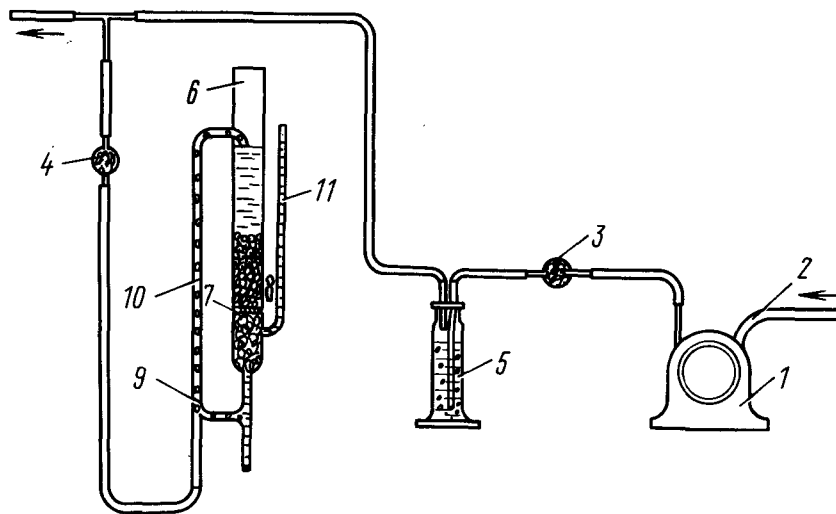


Рис. 3.3. Устройство эрлифтного перколятора:

1 – воздушный компрессор; 2 – внутренняя трубка воздушного компрессора;
3 и 4 – фильтры из стеклянной ваты для очистки воздуха; 5 – сосуд для увлажнения
воздуха; 6 – колонка перколятора; 7 – стеклянная перегородка; 8 – сужение;
9 – инжектор; 10 – эрлифт; 11 – боковая трубка

соотношение твердого (руда) к жидкому (раствор) (Т:Ж), оптимальная продолжительность фаз орошения и просушки, скорость перколяции, температура, тип газовой смеси и скорость ее подачи, кислотность, Eh и состав выщелачивающего раствора могут быть проконтролированы и подобраны при использовании перколяторов. Можно применять систему из нескольких эрлифтных перколяторов, в которой переход выщелачивающего раствора из одного перколятора в другой обеспечивается насосом.

В перколятор, изображенный на рис. 3.3, можно загружать от 150 до 300 г руды с размером частиц в среднем от нескольких десятых миллиметра до 10 мм. Руду с более крупными частицами использовать не рекомендуется, т.к. в этом случае орошение руды в перколяторе может быть неравномерным, что приведет к получению недостоверных результатов. Колонка имеет отверстия для ввода термометра, электродов и т.д.

Т а б л и ц а 3.1

Испытания в колбах на качалках

Руда _____ распределение частиц по крупности (графа № _____)
используемый микроорганизм _____ вес образца _____ питательная среда _____ количество питательной среды _____ концентрация посевного материала _____

[illegible]

* – Вес сосуда с пульпой – в графе „Примечание” регистрируется навеска образца в опыте

Следует отметить, что объем выщелачивающего раствора необходимо поддерживать на заданном уровне добавлением дистиллированной воды. Предложенное устройство стерилизуют перед опытом в автоклаве.

С помощью эрлифтных перколяторов определяют следующие параметры: расход серной кислоты, растворение металлов, взаимодействие между различными минералами, изменение ОВП и pH, температуру, влияние состава газовой смеси и ту трансформацию, которую претерпевают руды в процессе выщелачивания. Однако, следует отметить, что полученные этим методом результаты еще не могут быть перенесены на промышленные процессы, т.к. они протекают при различных условиях. Эрлифтные перколяторы не могут служить моделью промышленных установок по ряду причин и основная из них — размеры частиц руды. Средний размер частиц руды на промышленных установках часто превышает 50 см, тогда как диаметр эрлифтных перколяторов обычно 50–100 мм. Соответственно, средний размер частиц руды, использующихся для загрузки перколятора, должен быть несколько миллиметров, а, как известно, размеры частиц руды — один из основных факторов, регулирующих кинетику бактериального выщелачивания. Поэтому на следующих этапах работы проводят испытания в колоннах.

3.1.4. Испытания в колоннах

Этот способ в своей основе существенно не отличается от описанного выше в эрлифтных перколяторах. Аппаратура (рис. 3.4) чрезвычайно проста, и размеры ее могут значительно варьировать. Устройство состоит из вертикальной колонны 1, выполненной обычно из полихлорвинила, закрепленной в стальной опоре. Перфорированная перегородка 3 поддерживается подпорками, закрепленными в стенках колонны и расположена ближе ко дну колонны. Руда удерживается этой перегородкой. Выщелачивающий раствор содержится в емкости под колонной, которая служит также и для слива раствора. Циркуляцию выщелачивающего раствора с заданной скоростью обеспечивают с помощью насоса 2: всасывающая трубка помещается в емкость с раствором, а трубка для слива соединяется с разбрызгивателем для равномерного его распределения при орошении руды. Мешалка 4 позволяет достичь получения желаемой однородности раствора в емкости для выщелачивающей жидкости. Значение pH раствора измеряют соединенными с потенциометром 7 электродами 6, введенными в емкость 5. С помощью компьютерного устройства 8 осуществляют автоматическую регулировку pH раствора на заданном уровне. Насос 10 используется для подачи растворов кислоты или щелочи из сосуда 9 для регуляции pH. Пробоотборники могут быть расположены по всей колонне на различной высоте. Их можно использовать для отбора образцов руды или выщелачивающего раствора, а также для введения электродов и термопар.

Метод испытания в колоннах больше соответствует промышленным установкам, чем метод испытания в эрлифтных перколяторах, в частности вследствие того, что крупность частиц руды может быть сопоставима.

Однако, опыты показали, что максимальная крупность частиц не должна превышать 20% диаметра колонны. Кроме того, высота слоя руды в промышленных установках может достигать нескольких десятков метров, тогда как в лабораторных условиях она не превышает 2–4 м. Устройство из серии отдельных колонн позволяет моделировать кучное выщелачивание и выщелачивание в отвалах с большой степенью достоверности и приближения к реальным масштабам. Для постановки опытов по бактериальному выщелачиванию могут быть использованы колонны из стекловолна и нержавеющей стали. Для химического выщелачивания щелочными растворами используются стальные гуммированные колонны.

Хотя геометрия колонн несомненно влияет в значительной степени на их рабочие свойства, стандартизация колонн и методов работы с ними не проводилась. Можно заключить, что они имеют соотношение высоты к диаметру в пределах от 3 до 40, высоту от 1 500 до 6 000 мм, вес загруженной руды от 3 до 1 400 кг и отношение диаметра колонны к среднему

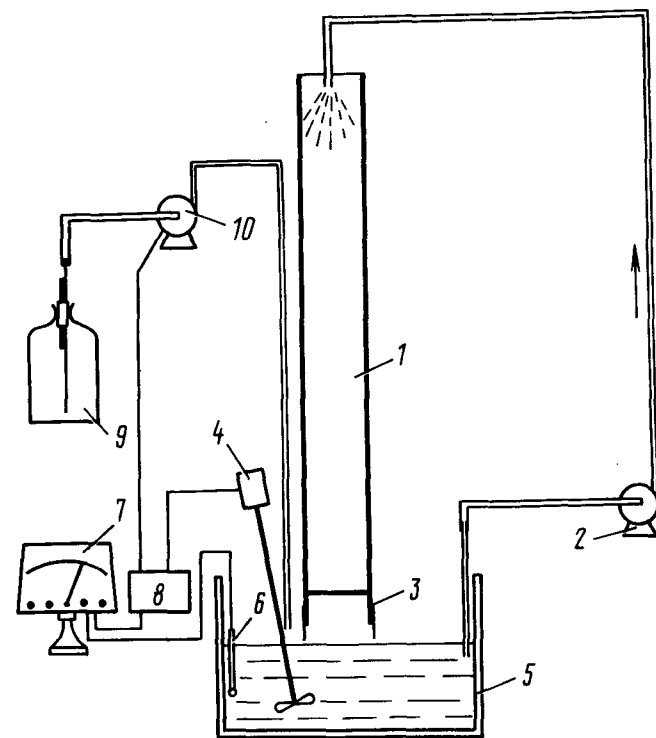


Рис. 3.4. Колонна для выщелачивания металлов из руды:
1 — колонка; 2 — перистальтический насос; 3 — перфорированная перегородка;
4 — мешалка; 5 — емкость для сбора выщелачивающего раствора; 6 — электрод;
7 — pH-метр; 8 — система контроля или компьютер; 9 — емкость для установления pH раствора; 10 — перистальтический насос для раствора после установления pH

размеру частиц руды от 3 до 40. Более скудны данные о скорости фильтрации и интенсивности орошения руды, которые зависят, в некоторых случаях, от специфических условий. Колонны могут подогреваться или их можно держать в помещении с контролируемой температурой. Последнее предпочтительней, особенно, когда испытания проводят в нескольких колоннах. В этом случае при постоянной температуре легче контролировать процесс и постоянство состава воздуха. Испытания в колоннах могут продолжаться до 4 лет. Эти сроки типичны для действующих промышленных установок и позволяют получить удовлетворительные результаты. Кроме того, затраты на проведение испытаний данным методом относительно низки, и можно избежать необходимости проведения большого количества более дорогих испытаний на полупромышленных установках кучного выщелачивания, когда переработке подвергается несколько сотен или тысяч тонн руды.

3.1.5. Испытания методом кучного выщелачивания

Информация, полученная при испытаниях в колоннах, часто бывает достаточной для организации выщелачивания в промышленных условиях. Однако, при кучном выщелачивании могут быть получены данные о других аспектах процесса, таких как изменения проницаемости массы породы, об изменении в ней состава микроорганизмов и температуры. Проведение таких испытаний может быть желательно, особенно, когда имеют дело с запасами добытой руды пригодной для бактериального выщелачивания и составляющими несколько миллионов тонн. Эти кучки используются для проведения полупромышленных испытаний до организации процесса выщелачивания в промышленных условиях.

Испытания в промышленных условиях включают следующие подготовительные этапы: создание установки, организация отсыпки кучи руды для выщелачивания, создание двух прудков, один из которых используется для приготовления выщелачивающего раствора, а второй — для сбора продуктивного раствора, а также организация участка для выделения металла из продуктивного раствора. Последний может быть либо цементационной установкой, либо установкой для экстракции.

Куча руды отсыпается в форме пирамиды, размеры ее определяются высотой, которая может варьировать от 2–3 м с размерами частиц руды как в случае смеси гравия и песка, до 7–8 м, когда большая часть руды представлена кусками руды 100 мм и более. Вес кучи колеблется от нескольких тысяч тонн до 15 000 тонн.

Площадка под кучей требует тщательной подготовки. Прежде всего она должна быть ровной и уплотнена до 80–120 проктор (Proctor) и иметь слабый наклон в одну сторону (откос от 4 до 6%). Уплотнение почвы осуществляют виброуплотнителем. Поверхность площадки под кучей должна быть ровной. Это позволяет обеспечить равномерный отток продуктивного раствора и предотвратить его застаивание на дне кучи. При подготовке площадки на уплотненную почву отсыпают слой песка толщиной 15–30 см

(подходящими для этого являются хвосты флотационных фабрик). Песок покрывают пластиковой пленкой толщиной 1–2 мм, армированной стекловолокном. Чтобы избежать в дальнейшем повреждения пленки, ее покрывают слоем мелкозернистого песка. Проницаемость основания кучи для растворов обеспечивается через слой породы, состоящей из кусков размером 50–150 мм, в котором с определенными интервалами проложены пластиковые дренажные трубы. По дренажным трубам продуктивный раствор поступает в коллектор. Методов оценки объема регенерационного и коллекторного прудков не существует.

На примере ряда промышленных объектов доказано, что объем прудка для приготовления растворов должен быть, по крайней мере, в два раза больше ежедневного расхода растворов для орошения, в то время как объем прудка, собирающего растворы, должен быть в 3–5 раз больше объема прудка для приготовления растворов. Оба прудка должны быть выстланы полиэтиленовой пленкой. Орошение кучи осуществляется через определенные интервалы с помощью разбрызгивающих насадок, укрепленных на пластиковых трубах, расположенных на поверхности кучи. Выбор типа разбрызгивающих насадок, расстояния между насадками и расстояния между трубами зависят от доступности оборудования и условий эксперимента. Но при этом нужно соблюдать условия, чтобы вся поверхность кучи орошалась равномерно.

Для успешного выщелачивания важны также равномерное распределение в куче кусков руды по размерам и ее рыхлость. Чтобы избежать уплотнения руды при отсыпке кучи, измельченную породу следует подавать на вершину кучи при помощи мостового ленточного транспортера и ковша мостового крана. Температура внутри кучи, pH и ОВП выщелачивающего раствора по мере прохождения его к основанию кучи могут быть измерены посредством небольших скважин диаметром не более 100 мм. В совокупности с результатами периодических анализов состава микроорганизмов по размеру кучи, эти измерения позволяют получить прямую информацию об уровне аэрации руды в куче. Через необходимые интервалы времени могут быть прорыты траншеи с двух концов кучи так, чтобы не нарушить ход испытаний. Эти траншеи позволяют визуально оценить протекание процесса выщелачивания внутри кучи, в особенности, наличие осаждения солей и образования глинистого слоя, который изменяет и, часто очень существенно, проницаемость и направление движения раствора. Траншеи позволяют также определить наиболее подходящий режим орошения руды в куче.

Химический и минералогический анализы образцов пород, отобранных через нужные интервалы времени, являются важными для определения параметров, необходимых для создания промышленных установок кучного выщелачивания.

3.1.6. Чайовое выщелачивание

Когда свежедобытую руду дробят до размеров частиц менее 1 мм, эффективность выщелачивания быстро снижается, т.к. раствор фильтруется через толщу руды неравномерно и образуются зоны, не смачивающиеся

раствором. Чтобы улучшить контакт между жидкой фазой и всей минеральной фракцией (выщелачивающий раствор + руда), пульпу перемешивают.

Хотя в литературе отсутствуют сведения об использовании метода бактериально-химического чанового выщелачивания для переработки руд с высоким содержанием сульфидов, можно полагать, что он успешно может применяться для этих целей. Исследования в этой области проводились только с сульфидными концентратами. Процесс осуществляется в чанах с перемешиванием или в реакторах, представляющих емкость с пульпой, содержащей сульфидные руды или концентраты, культуральную среду и микроорганизмы. Пульпа перемешивается механически продуванием воздуха или обоими способами.

Выщелачивание обычно осуществляют в непрерывном режиме в системе из последовательно соединенных реакторов. Очень важной особенностью чанового выщелачивания является то, что размеры установки мало влияют на кинетику и вынос металла. Поэтому пригодность высоко-сортных руд или концентратов к переработке методом чанового бактериально-химического выщелачивания определяют, используя малогабаритное лабораторное оборудование. Подробно этот вопрос рассматривается в главе 4. Необходимо, однако, отметить, что метод выщелачивания в колбах на качалках (см. раздел 3.1.2) очень важен как предварительный тест для этого типа выщелачивания. Он дает ценную информацию об оптимальных условиях бактериального выщелачивания (плотность пульпы, состав питательной среды, необходимость подачи газа) и о результатах выщелачивания (скорость растворения металлов и количество извлеченных металлов) даже тогда, когда используются небольшие количества выщелачиваемого твердого порядка десятков грамм.

3.1.7. Испытания в укрупненных установках

Задача испытаний включает:

- получение количественных данных о процессе выщелачивания, оперируя сведениями полученными при использовании лабораторных или пилотных установок;

- разработку математической модели для создания промышленных установок.

Все методы испытаний, описанные в этом разделе, позволяют получить данные, характеризующие процесс выщелачивания при разработке математической модели. Однако, приходится сталкиваться с рядом технических проблем в связи с тем, что при бактериальном выщелачивании необходимо учитывать многие существенные параметры. Кинетика бактериально-химического выщелачивания является сложной и определяется главным образом кинетикой микробного роста и кинетикой растворения и окисления минералов.

Испытания в эрлифтных перколяторах, колоннах и на пилотных установках кучного выщелачивания являются необходимыми последовательными этапами при создании промышленных установок кучного и подземного

выщелачивания. С помощью этих испытаний получают следующие необходимые данные: оптимальное соотношение крупности частиц руды, метод орошения, частота периодов орошения, состав выщелачивающего раствора, его pH и скорость подачи, высота кучи руды и т.д. До настоящего времени не предложено методов определения состава микроорганизмов и изменений температуры руды внутри кучи при проведении укрупненных испытаний. Об этом обычно судят по данным анализов, поступающих из подотвалов растворов.

Математическое описание укрупненных испытаний при чановом выщелачивании также выполнить непросто. Исчерпывающая информация по этому вопросу приведена в главе 4.

3.1.8. Выделение металлов из растворов

Для выделения металлов из продуктивных растворов при кучном, подземном и чановом выщелачивании могут применяться методы осаждения (электролиз, цементация, кристаллизация и образование нерастворимых осадков), а также сорбция и экстракция. Эти методы общеизвестны и здесь не рассматриваются. В последнее время разрабатываются биосорбционные методы извлечения металлов из растворов (см. гл. 7).

3.1.9. Определение крупности, измельчение руды, концентратов и продуктов выщелачивания

При лабораторных исследованиях для характеристики степени измельчения руды и концентратов используют распределение зерен по заданным классам крупности и называют это распределение гранулометрическим составом. Обычно применяют ситовой анализ-просеивание навески определенной массы через набор сит с различными размерами отверстий (от 25 до 0,020 мм), для более мелких частиц используют седиментационный (шламовый) анализ или просеивание на прецизионных ситах (100—5 мкм), микроскопический анализ [23]. Из специальных приборов используются, например, выпускаемые фирмой FRITSCH (ФРГ) сканирующий фотоседиментограф Analysette-20 для определения гранулометрического состава от 1 до 200 мкм, пипеточная центрифуга Analysette-21 — для гранулометрического анализа в диапазоне от 0,05 до 5 мкм, лазерный измеритель частиц Analysette-22 от 1 до 900 мкм. Зернистые материалы можно подвергать сухому и мокрому просеиванию. Сухое просеивание применяют к относительно крупным частицам 2,5—0,5 мм. При сухом просеивании мелких классов для ускорения процесса и для разрушения агрегированных частиц на тонкие сита, например 0,038—0,020 мм, помещают специальные утяжелители. Однако для точных определений гранулометрического состава желательно использовать мокрое просеивание. В этом случае через специальные спринклерные устройства, например Analysette-3, в колеблющийся на вибростол набор сит подают воду, которая вызывает разрушение агре-

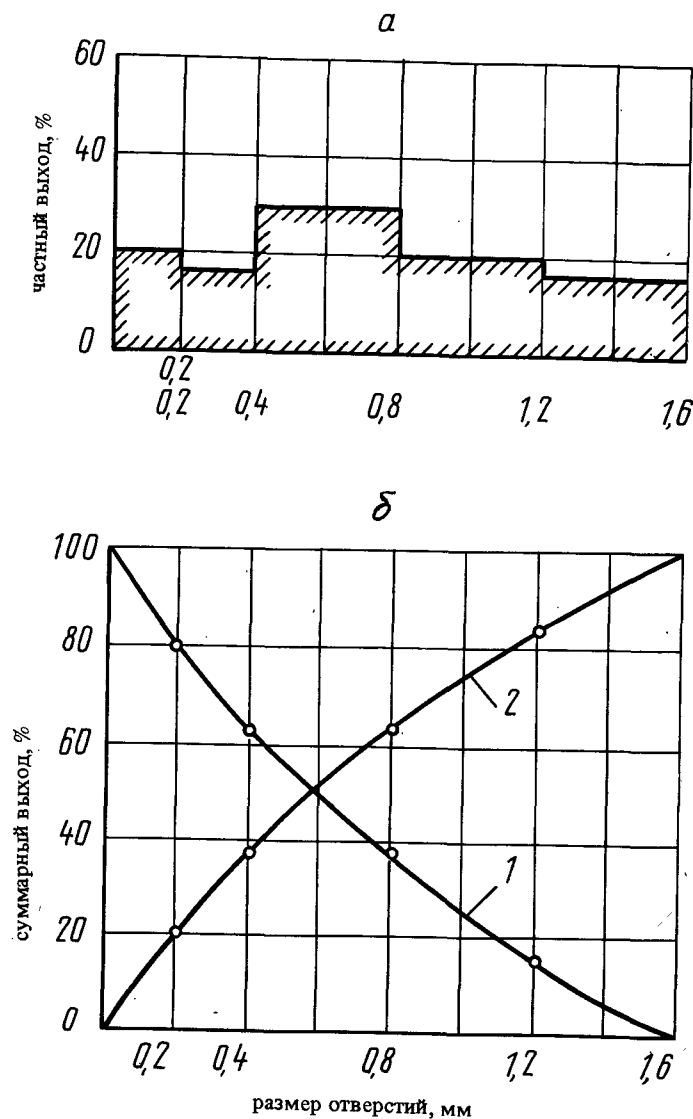


Рис. 3.5. Гранулометрическая характеристика материала:
а — частная; б — суммарная; 1 — по „минусу”; 2 — по „плюсу”

гированных мелких частиц. Результаты, полученные после просеивания, представляют в виде зависимости частного/кумулятивного выхода от крупности размера ячеек просеивающих сит. Пример рассева пробы концентрата приведен в табл. 3.2, а полученная гранулометрическая характеристика — на рис. 3.5.

Таблица 3.2

Рассев пробы концентрата					
Размер отверстий сита, мм	Класс крупности, мм	Частный выход,		Суммарный выход,	
		г	%	остаток %	просев %
1,6	+1,6	0,2	0,0	0,0	0,0
1,2	-1,6 + 1,2	45	15	15	100
0,8	-1,2 + 0,8	60	20	35	85
0,4	-0,8 + 0,4	90	30	65	65
0,2	-0,4 + 0,2	45	15	80	35
—	-0,2	60	20	100	20
Итого:		300	100	—	—

Анализ проводят следующим образом. Пробу концентрата массой 300 г помещают на набор сит, состоящий (сверху вниз) из сит с размером отверстий: 1,6; 1,2; 0,8; 0,4; 0,2 мм и поддона, укрепленного на вибровстряхивателе. Включив вибровстряхиватель, рассев проводят в течение 30 минут. Затем из поддона удаляют материал класса $-0,2 + 0,0$ мм и проводят дополнительный рассев в течение 10 минут. Убедившись, что за время контрольного рассева, материала в поддоне не обнаружено, проводят взвешивание продукта, накопившегося на каждом сите. Вычислив частный выход, в % каждого класса крупности, определяют суммарный выход и строят гранулометрическую характеристику исследуемого продукта (рис. 3.5).

Необходимо отметить, что крупность измельчения рассматриваемого продукта можно характеризовать процентным содержанием какого-нибудь контрольного класса, например, 65% класса $-0,8$ мм или 85% класса $-1,2$ мм.

При определении гранулометрического состава продуктов, подвергавшихся бактериальному выщелачиванию, вышеописанной традиционной для зернистых материалов методикой пользоваться нельзя. В процессе бактериального выщелачивания происходит адсорбция бактерий и продуктов их метаболизма на поверхности минералов, вследствие этого после сушки пробы пульпы происходит образование прочных агрегатов, что приводит к искажению результатов гранулометрического анализа. Для предотвращения этого необходимо удалить поверхностноактивные вещества с поверхности минеральных частиц. При этом используют промывку пробы соляной кислотой для удаления кислоторастворимых осадков, затем проводят отмывку водой и щелочную обработку, например КОН. Отмытую таким образом пробу промывают до нейтрального состояния водой и сушат на воздухе. Гранулометрический анализ проводят вышеуказанными способами.

В том случае, если гранулометрический состав исследуемого продукта не соответствует заданному для проведения экспериментов, то проводят доизмельчение пробы продукта.

В практике лабораторных работ используют: для предварительного дробления крупнукосового материала щековые и валковые дробилки; для тонкого измельчения — шаровые и планетарные мельницы, выпускаемые фирмой FRITSCH Pulverisette.

Измельчение проводят следующим образом: в барабан мельницы помещают необходимое количество шаров и измельчаемого материала. Это соотношение подбирается опытным путем для каждого конкретного случая. Включают мельницу и проводят измельчение в течение 10 минут. После этого определяют полученную крупность продукта и корректируют время измельчения. При необходимости измельчение можно проводить мокрым способом, при 50–70% твердого в пульпе.

В полупромышленных и промышленных масштабах, за редким исключением, измельчение материалов осуществляют мокрым способом в шаровых мельницах, работающих в замкнутом цикле с классифицирующим аппаратом — спиральным классификатором или гидроциклоном. В том случае, если за один прием в сливе классифицирующего аппарата не удастся получить заданную крупность, то доизмельченный продукт подвергают, если это необходимо, сгущению и повторному доизмельчению.

Необходимо отметить, что, например, для чанового бактериального выщелачивания применяют весьма тонкоизмельченные продукты 90% класса —0,030 мм и даже 90% класса —0,015 мм. Указанную крупность измельчения получить в обычных шаровых мельницах крайне сложно, поэтому в последнее время для тонкого и сверхтонкого измельчения находят применение механоактивирующие устройства, газовые струйные мельницы и различные истиратели с твердосплавными гарнитурами [11].

3.1.10. Аналитические методы определения химического состава руд, концентратов и продуктов выщелачивания

Для анализа элементов в настоящее время широко используют инструментальные методы анализа: методы молекулярной спектроскопии, электрографического и рентгеноструктурного анализов. В каталогах фирм-изготовителей, например Перкин-Е (Швеция), широко представлены различные анализаторы химического состава—атомно-абсорбционные, масс-спектрометрические, рентгеновские, плазменные и другие.

3.2. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ СОСТАВА РУД И МИНЕРАЛОВ

Как уже отмечалось в разделе 3.1.1, знание минерального состава руд позволяет решить ряд важных технологических задач. Не менее важным является знание механизмов окисления сульфидных минералов, в том

числе их ассоциаций. Это достигается изучением физико-химических свойств этих минералов.

Ниже приводится краткая характеристика сульфидных минералов и методы их изучения.

3.2.1. Характеристика сульфидных продуктов

Минеральный состав рудных месторождений представлен обычно рудными и нерудными минералами. В само понятие „рудные месторождения” чаще вкладывается представление о месторождениях цветных металлов, в которых рудную часть составляют главным образом сульфиды, арсениды и сульфоарсениды. Особенности тонкой конституции сульфидов (тип химической связи, валентное состояние анионов и катионов, дефекты и т.д.), полупроводниковые свойства и электрохимические характеристики существенным образом влияют на жизнедеятельность и активность микроорганизмов, контактирующих с этими сульфидами. Нерудные минералы (обычно кварц, карбонаты, сульфаты), подвергаясь растворению, оказывают влияние на химизм (ОВП, pH) водных растворов, которые являются средой обитания бактерий. Особенно большое значение имеет содержание в составе сульфидных руд карбонатов — кальцита, доломита, магнезита. Их сравнительно легкое растворение при низких значениях pH ($\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow [\text{CaHCO}_3]^+ + \text{OH}^-$) приводит к повышению pH выщелачивающих растворов и к гибели микроорганизмов [53].

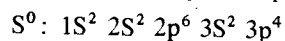
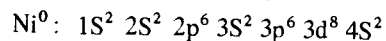
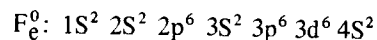
Большое значение для развития бактерий имеют текстурноструктурные особенности руд. Активизации бактериальной деятельности способствуют текстуры руд, возникшие в результате дробления и истирания минералов. Образование взвесей, которое важно для бактериального окисления сульфидных минералов, связано не только с процессом тектонического или механического измельчения руды, но и с физико-механическими свойствами минералов, в частности, с их хрупкостью. Хрупкие минералы легче образуют природные взвеси, обладающие огромной поверхностью частиц и, следовательно, большой химической активностью. В этом отношении показателен ряд минералов, расположенных в порядке возрастания удельной поверхности ($\text{м}^2/\text{г}$) тонкой фракции, полученной за одно и то же время при мокром помоле проб на планетарной мельнице [24]: халькозин (2,0)—висмутин (2,4)—пирротин (2,7—3,0)—кубанит (3,4)—антимонит (3,6)—борнит (3,7)—пентландин (3,7)—галенит (4,3)—пирит (4,4—4,9)—арсенопирит (5,0)—халькопирит (5,6)—киноварь (7,3)—сфалерит (7,6—9,7)—молибденит (9,0).

Большую роль играют химическая (распределение примесей) и физическая (двойники и др.) неоднородность поверхности зерен сульфидов, а также характер их сростаний друг с другом. Все это приводит к образованию локальных микрогальванических пар, существенно влияющих на протекание процессов электрохимического и бактериального окисления сульфидных минералов.

Подробное описание структур сульфидных минералов приведено в монографии Белова [6]. Здесь мы кратко остановимся на тех особенностях

строения сульфидов, которые имеют непосредственное значение в процессе их биогенного и абиогенного окисления. В качестве примеров рассмотрим закономерности образования определенных типов связей в структурах пирита FeS_2 , пирротина Fe_{1-x}S и пентландита $(\text{Ni, Fe})_8^{\text{IV}}\text{Fe}^{\text{VI}}\text{S}_8$.

Известно, что сульфиды относятся к полупроводниковым соединениям с преобладанием ковалентного, а точнее — донорно-акцепторного типа связи. Распределение электронов по энергетическим уровням атомов Fe, Ni и S имеет следующий вид:



Атомы Fe и Ni имеют недостроенные (до 18 электронов) подвалентные электронные оболочки, атом Fe вместо 10 имеет 6 d-электронов, а атом Ni — 8.

Пирит FeS_2 . В пирите катиону Fe^{2+} недостает до 18-электронной оболочки 12 электронов, т.е. шести пар. Сера в виде S_2^{2-} -иона может передать иону металла только четыре пары электронов $[\ddot{\text{S}}:\ddot{\text{S}}]^{2-}$. Но два аниона S_2^{2-} , объединяясь друг с другом, образуют „гантельную” серу $\text{S}_2^{2-} = \text{I}:\ddot{\text{S}}:\ddot{\text{S}}:\text{I}^{2-}$, которая и поставляет иону металла шесть пар электронов. Подобное спаривание атомов серы приводит к образованию достаточно прочных связей в структуре пирита. Очевидно, этим можно объяснить высокую устойчивость пирита в процессе окисления.

Несколько по-иному осуществляется связь между атомами в тех сульфидов, где иону металла требуется больше или меньше электронов, чем может ему предоставить сера.

Пирротин Fe_{1-x}S . В структуре пирротина катион Fe^{2+} нуждается в шести парах добавочных (акцепторных) электронов и размещается в шестивершиннике — октаэдре, но каждый анион S_2^{2-} может предоставить только четыре пары электронов. Тогда Fe-октаэдры выстраиваются в колонки, ложась один на другой общей гранью (рис. 3.6). Атомы металла благодаря этому сближаются и, обмениваясь собственными электронами, покрывают дефицит электронов серы. В структуре возрастает роль металлической связи, что существенно влияет на физические свойства пирротина и делает этот сульфид достаточно уязвимым для окисления.

Пентландит $(\text{Ni, Fe})_8^{\text{IV}}\text{Fe}^{\text{VI}}\text{S}_8$. В структуре пентландита никель и часть железа окружены четырьмя анионами S_2^{2-} , т.е. занимают тетраэдрическую позицию. Никелю требуется пять пар электронов (у него 8 d-электронов), а железу — шесть (см. электронную конфигурацию атомов). Недостаток электронов в каждом отдельном атоме восполняется тем, что (Ni, Fe) -тетраэдры объединяются в восьмиленные группы („звезды”) с кластерным (сближенным) положением атомов металла по отношению друг к другу и с усилением тем самым обмена собственными электронами (рис. 3.7). В структуре пентландита эти восьмиленные „звезды” череду-

Рис. 3.6. Структура пирротина: колонии из октаэдров с общими основаниями через которые Fe осуществляет непосредственную металлическую связь

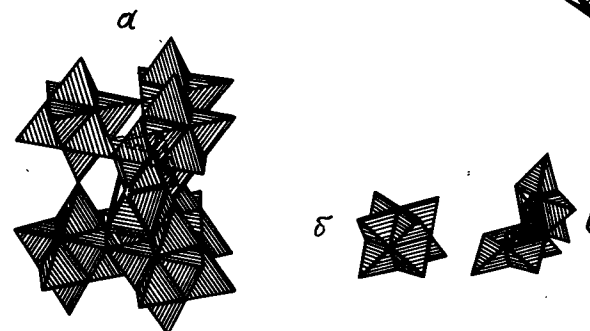
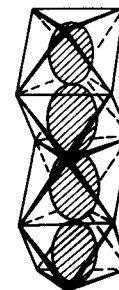


Рис. 3.7. Структура пентландита: а — NaCl-подобная укладка восьмиленных групп из Ni-тетраэдров; б, в, — кубический кластер из восьми атомов Ni внутри восьмиленной группы

ются с Fe-октаэдрами. Таким образом, в электронном строении пентландита имеются узлы с усиленными металлическими связями, с увеличенным числом свободных нелокализованных электронов. В результате, как и в случае с пирротинном, у пентландита облегчается выход электронов, и тем самым понижается его устойчивость.

3.2.2. Электрохимические свойства минералов и методы их изучения

Интенсивность и направленность окислительных процессов, в том числе и биогенных, определяется, главным образом, электродным потенциалом (ЭП) минерала и окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП) электролита (раствора). Электродный потенциал минерала (скачок потенциала на границе минерал-электролит) прямо пропорционален работе по выходу электрона из кристаллической структуры минерала и является мерой степени его окисляемости. Изучение ЭП минералов позволяет получить так называемые электрохимические ряды, в которых минералы располагаются в соответствии с величиной ЭП. Эти ряды в общем соответствуют рядам устойчивости минералов при их окислении и, следовательно, могут служить критерием поведения в природном процессе.

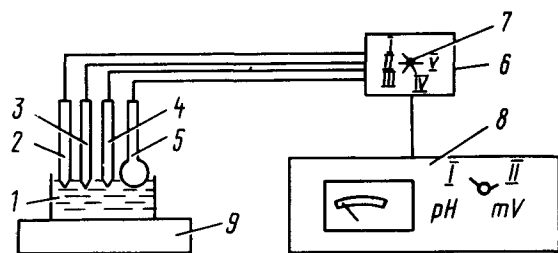


Рис. 3.8. Общая схема установки для измерения электродных потенциалов минералов:

1 - гальваническая ячейка; 2 - стеклянный электрод; 3 - хлор-серебряный электрод; 4 - платиновый электрод; 5 - минеральный электрод; 6 - соединительная коробка; 7 - многопозиционный переключатель; 8 - рН-метр; 9 - магнитная мешалка

В таком ряду в одних и тех же условиях минерал с высоким ЭП подвержен окислению в меньшей мере, чем с низким ЭП, и последний при их контактировании занимает место анода. Экспериментально установлен следующий ряд окисляемости чистых сульфидов химическим путем: галенит (0,30) - халькозин (0,35) - сфалерит (0,35) - халькопирит (0,40) - висмутин (0,40) - станнин (0,45) - пирротин (0,45) - тетраэдрин (0,45) - арсениопирит (0,50) - пентландит (0,55) - пирит (0,55-0,6) [51, 54]. Кроме того, изучение ЭП минералов для конкретной физико-химической обстановки позволяет вполне реально прогнозировать характер начальных продуктов окисления - раствора и ранних гипергенных образований.

Измерение ЭП полупроводниковых минералов производится с помощью специальной установки (рис. 3.8), в состав которой входят:

1) гальваническая ячейка с выбранным электролитом и введенными в него электродами (платиновым, стеклянным, хлор-серебряным и минеральным). Снабжен магнитной мешалкой.

2) рН-метр марки рН-340 или др;

3) многопозиционный переключатель, позволяющий производить подключение к рН-метру различных электродов и осуществлять контактирование минеральных электродов друг с другом;

4) минеральный электрод, представляющий собой аншлиф, запрессованный в цементную цилиндрическую оболочку диаметром 10-15 мм и высотой 5-8 мм, в котором запарафинированы нежелательные для измерений участки полированной поверхности и который с помощью платиновой проволоки подключается к системе рН-метра. Данная установка позволяет одновременно измерять рН раствора, ЭП минерала и ОВП раствора.

Измерение ЭП минералов производят в дистиллированной воде с регистрацией величины ЭП, изменения рН среды и времени установления потенциала. Эти величины, полученные для нескольких минералов, могут быть сопоставлены друг с другом. Опыт подобных исследований описан в работах [48, 50, 52].

Более распространенным видом электрохимических исследований является измерение ЭП индивидуального минерала-электрода при измерении рН электролита в широком интервале. Изменение рН осуществляется добавлением к кислому раствору (сернокислому) раствора щелочи (NaOH). Интервалы измерения ЭП - каждые 5-10 мин, точность замеров - ± 10 мВ. Измерение проводят относительно водородного полуэлемента.

Проведение таких исследований позволяет построить графики ЭП-рН, которые обычно накладываются на диаграмму состояния соответственных элементов в H_2O при $25^\circ C$ [9, 48, 73].

Для каждого участка графика составляют вероятные реакции окисления сульфида, в которых отношение протонов к электронам должно соответствовать экспериментальным данным (углу наклона). В основу расчетов принято известное уравнение Нернста

$$Eh(ЭП) = Eh_0 + \frac{0,059}{n} \lg \frac{A_0}{A_y},$$

где n - число электронов реакции;

A_0 и A_y - соответственно произведения активностей, образующихся и участвующих в реакции ионов.

При написании реакций окисления минералов учитываются современные представления о формах существования элементов в разбавленных сернокислых электролитах и данные минералогических наблюдений. Такой методический подход позволяет значительно сузить произвол в выборе реакций окисления минералов, вполне реально прогнозировать характер продуктов окисления на начальном этапе этого процесса и создает хорошую основу для понимания химизма бактериального окисления минералов, руд и концентратов. Более подробно с электрохимической методикой

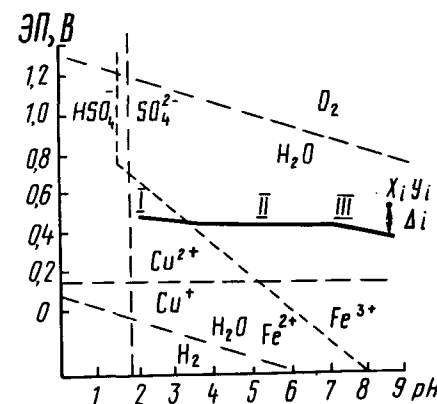


Рис. 3.9. График ЭП-рН халькопирита, наложенный на диаграмму состояния Cu, Fe, и S в H_2O при $+25^\circ C$

составления уравнений окисления минералов можно ознакомиться в работах Р.М. Гаррелса [9], Р.М. Гаррелса и Ч.Л. Крайста [10], М.Н. Пурбе [73], Л.К. Яхонтовой и А.П. Грудева [48–50].

В качестве примера рассмотрим методику составления уравнений окисления для халькопирита (CuFeS_2).

Полученные экспериментальным путем графики ЭП-рН для халькопирита наносят на диаграмму состояния Cu-Fe-S в H_2O при 25°C , как показано на рис. 3.9. На кривой ЭП-рН можно выделить три участка (рН 1–3, рН 3–7 и рН 7–9) с разными наклонами. Окисление сульфида на каждом из этих трех участков имеет свою специфику. Используя метод математической статистики (метод наименьших квадратов) следует рассчитать наклон каждого из трех выделенных участков, т.е. определить величину тангенса угла наклона участка прямой $y = ax + b$. Для этого нужно решить систему двух уравнений с двумя неизвестными a и b (см. раздел 3.4).

Определив, таким образом, наклон графика для халькопирита на участке I (рН 1–3), получим значение близкое к минус 0,020, на участке II (рН 3–7) — близкое к 0 и на участке III (рН 7–9) — близкое к –0,017. В уравне-

нии Нернста, которое в нашем случае запишется как $\text{ЭП} = E^0 - \frac{0,059m}{n} \cdot \text{рН}$

(для единичных активностей, вступающих в реакцию и образующихся ионов),

где E^0 — стандартный электродный потенциал;

m — количество ионов H^+ ;

n — количество электронов

Величина $\frac{0,059m}{n} \cdot \text{рН}$ и будет описывать наклон графика $a = \text{tg} \alpha = \frac{0,059m}{n} \cdot \text{рН}$.

3.2.3. Полупроводниковые свойства сульфидов.

Зонная модель строения кристаллов

Большинство сульфидов по своим электрическим свойствам относится к полупроводниковым соединениям. Общий подход к рассмотрению их энергетического строения дает зонная теория кристаллов. На рис. 3.10 представлена зонная схема полупроводникового кристалла. Нижняя зона, полностью заполненная электронами, называется валентной. Зона, расположенная энергетически выше валентной и не полностью заполненная электронами, носит название зоны проводимости. Между двумя зонами имеется энергетический разрыв — запрещенная зона.

В реальных кристаллах наблюдаются дефекты кристаллической решетки в виде посторонних атомов, пустых узлов и другие, так называемые, примесные центры. Энергетические уровни электронов примесных центров располагаются в полосе запрещенных энергий [20, 25, 39]. Они могут поставлять электроны в зону проводимости (донорные уровни) или захватывать возбужденные электроны из валентной зоны (акцепторные уровни).

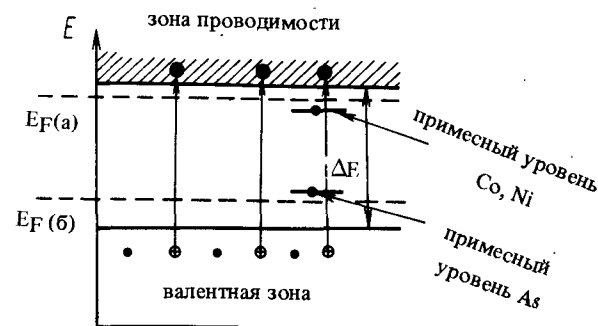


Рис. 3.10. Зонная схема полупроводникового кристалла: $E_F(a)$ — уровень Ферми электронного полупроводника; $E_F(b)$ — уровень Ферми дырочного полупроводника; ΔE — запрещенная зона

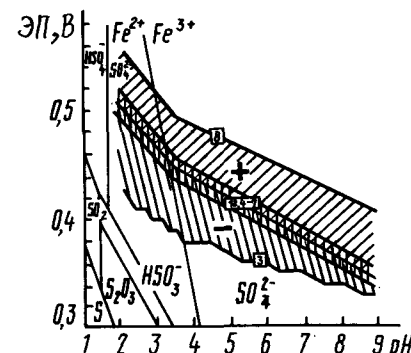


Рис. 3.11. Графики ЭП-рН пирита, наложенные на диаграмму состояния Fe, S и H_2O при $+25^\circ\text{C}$. Вертикальной штриховкой выделена зона размещения большинства графиков ЭП-рН. Косой штриховкой показаны поля возможного наложения графиков ЭП-рН дырочного (+) и электронного (–) пирита

В первом случае возникает электронная (n-типа) проводимость, во втором — дырочная (p-типа) проводимость. В качестве примера рассмотрим зонную модель пирита — FeS_2 . Электронный тип проводимости (n-тип) этого сульфида обычно связывают с примесями кобальта и никеля, изоморфно замещающими железо [39, 40]. Как известно, железо имеет 6 d-электронов, кобальт — 7d-электронов и никель — 8d-электронов. Таким образом, кобальт и никель поставляют в зону проводимости соответственно один или два свободных электрона, участвующих в проводимости. Примесные уровни этих металлов расположены вблизи зоны проводимости пирита (рис. 3.10). Дырочный тип проводимости (p-тип) сульфида обусловлен входением в его кристаллическую решетку примеси мышьяка, изоморфно замещающего серу ($\text{S}^{6+} \rightarrow \text{As}^{5+}$), что приводит к образованию в

зонной структуре пирита акцепторного уровня, расположенного близ потолка валентной зоны.

Тип проводимости полупроводниковых кристаллов определяет положение уровня Ферми или электрохимического потенциала — важнейшей характеристики сульфидов-полупроводников. В минералах с электронной проводимостью уровень Ферми расположен вблизи зоны проводимости или внутри нее, а в минералах с дырочной проводимостью — около или внутри их валентной зоны (рис. 3.10). Уровень Ферми определяет термодинамическую работу выхода электрона из вещества. Известно, что работа выхода электрона из дырочного полупроводника превосходит работы выхода электрона из электронного почти на ширину запрещенной зоны [20]. Отсюда ясно, что в окислительных процессах более интенсивно должны разрушаться сульфиды электронного типа проводимости. В бактериальных процессах окисления сульфидов разница в работе выхода электрона из сульфидов разного типа проводимости играет существенную роль. Проиллюстрируем эти положения на конкретных примерах.

На рис. 3.11 показаны результаты эксперимента по изучению электрохимического окисления образцов пирита n- и p-типов проводимости. Графики ЭП-рН пирита электронной проводимости (образцы 1–6) образовали нижнее поле на диаграмме ЭП-рН, а графики ЭП-рН дырочного пирита (образцы 7–8) — верхнее. Таким образом, общая тенденция такова, что пирит n-типа проводимости может окисляться при заметно меньшей величине ОВП раствора по сравнению с пиритом p-типа, т.к. характеризуется более низкими значениями ЭП.

Эксперименты по изучению окисления пирита с помощью *T. ferrooxidans* также показали различную интенсивность окисления минерала n- и p-типа проводимости. Пирит n-типа проводимости, обладающий меньшей энергией

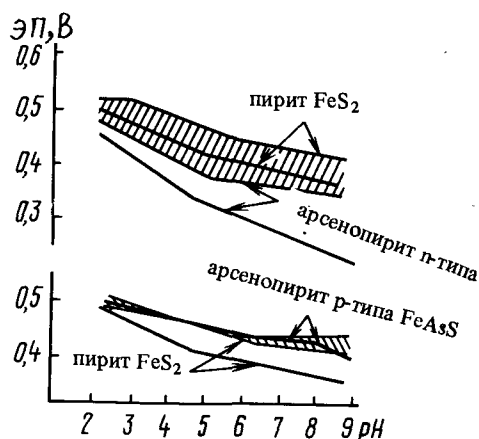


Рис. 3.12. Графики ЭП-рН для арсенопирита электронной (n-типа) и дырочной (p-типа) проводимости, контактирующего с пиритом. Разница потенциалов в парах заштрихована

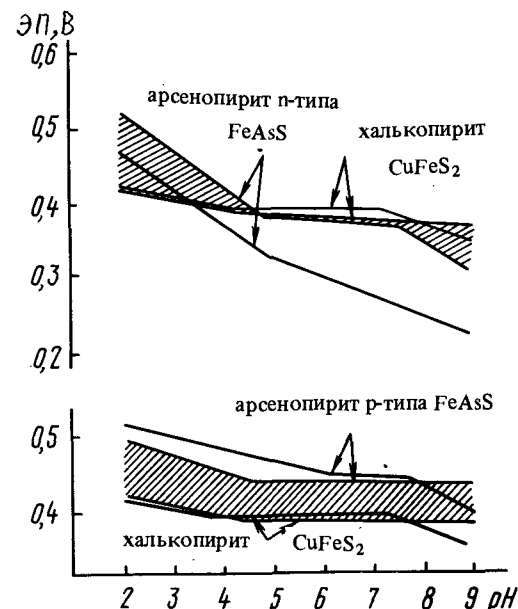


Рис. 3.13. Графики ЭП-рН для арсенопирита электронной (n-тип) и дырочной (p-тип) проводимости контактирующего с халькопиритом. Разница потенциалов в парах заштрихована

выхода электрона, характеризуется интенсивным начальным окислением при быстром торможении процесса (при исчерпании электронов зоны проводимости); сульфид p-типа проводимости начинает бактериальное окисление медленнее, но развивается этот процесс длительнее и стабильнее.

Особенно следует учитывать тип проводимости сульфидов при окислении полиминеральных ассоциаций — руд. Это даст возможность прогнозировать направленность процесса окисления, в том числе и бактериального, его интенсивность и возможные продукты реакции. Так, например, изучение диаграммы ЭП-рН при совместном окислении пирита n-типа проводимости с арсенопиритом n-типа проводимости в условиях благоприятных для жизнедеятельности микроорганизмов ($pH < 3$) показало, что деструктиванию будет подвергаться в первую очередь арсенопирит, обладающий более низким ЭП (0,45 В) по сравнению с пиритом (0,55 В). Для арсенопирита p-типа проводимости присутствие пирита имеет преимущественно стабилизирующее значение — потенциалы обоих минералов при $pH < 3$ довольно близки (рис. 3.12). В паре с халькопиритом ($pH < 3$) арсенопирит n- и p-типов проводимости выполняет роль катодного партнера, стимулируя деструкцию халькопирита (рис. 3.13). Однако, в оловянно-медно-мышьяковых концентратах, содержащих халькопирит и арсенопирит, *T. ferrooxidans* окисляет в первую очередь FeAsS. Очевидно, возможны и более сложные тройные соотношения (арсенопирит—пирит—халькопирит),

приводящие к несколько иным результатам особенно в присутствии бактерий. Вопрос этот должен решаться в каждом конкретном случае отдельно, что необходимо учитывать при создании технологических схем бактериального выщелачивания руд и концентратов.

3.2.4. Способы изучения процесса бактериального окисления сульфидных минералов

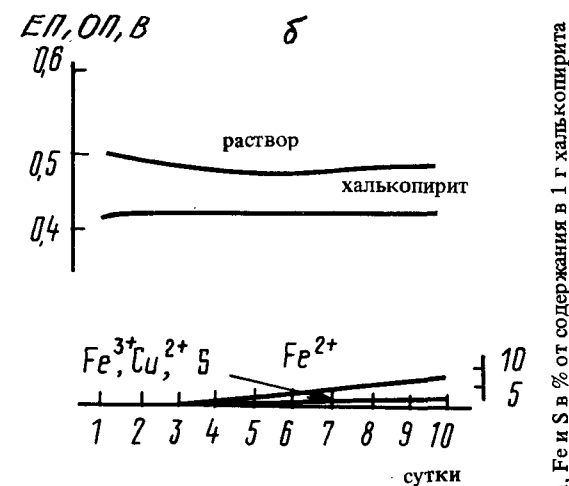
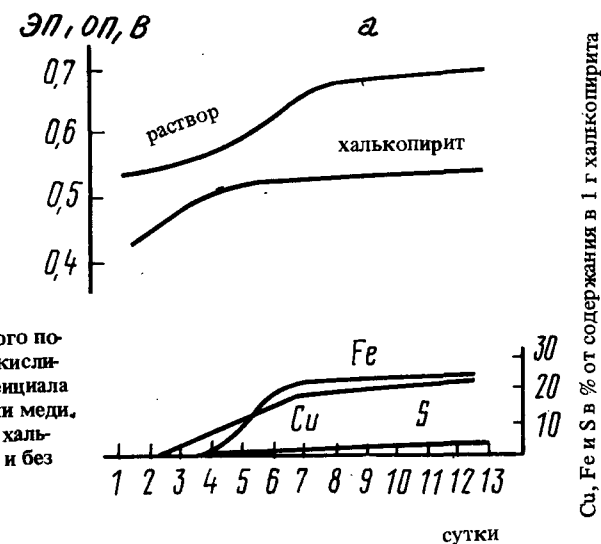
Окисление сульфидных минералов с помощью микроорганизмов совершается как электрохимический (коррозийный) процесс. Сульфид-проводник при этом занимает позицию анода. Этот процесс может контролироваться электродным и окислительно-восстановительным потенциалом и pH.

Методика изучения бактериального окисления сульфидов с построением электрохимических характеристик, являясь стандартной, имеет ряд особенностей.

Исходный сульфидный минерал растирают до состояния пудры и в количестве 0,5–1 г засыпают в стеклянную ячейку. Затем в ячейку приливают 50 мл питательного раствора и вводят 4 мл культуральной жидкости с концентрацией бактериальных клеток 10^6 – 10^8 кл/мл. Исходная величина pH раствора должна составлять 2,5 и ниже в зависимости от типа минералов. В рабочую ячейку помещают также минеральный электрод, подключенный к системе pH-метра. Ячейку устанавливают на качалку, которая круглосуточно находится в термостате при температуре около 28°C. Ежедневно производят измерения ЭП минерала, ОВП и pH раствора. С интервалом в сутки в растворе определяют количественное содержание элементов, входящих в состав минерала. Продолжительность эксперимента, как правило, составляет 7–12 суток. В конце эксперимента производят количественный подсчет бактериальных клеток. Для оценки интенсивности бактериального окислительного процесса параллельно ставят опыты без бактерий — „холостые”, в которых контролируют те же параметры, что и в опытах с микроорганизмами.

Результаты экспериментов оформляют в виде таблицы или графика с координатами ЭП (ОВП)-сутки. На эти же графики наносят данные по извлечению в раствор элементов, входящих в состав минерала. На рисунке представлены результаты опыта по изучению окисления халькопирита с помощью *T. ferrooxidans* (рис. 3.14). Халькопирит интенсивно окислялся под воздействием бактерий. Основной вынос Cu и Fe из минерала в отношении 1:1 произошел за первые 6 суток и составил около 25% каждого элемента от содержания его в сульфиде. Процесс сопровождался соответственным изменением ЭП и ОВП от 0,4 до 0,5 В и от 0,5 до 0,7 В. Окончание выщелачивания меди и железа фиксировалось выходом графика ЭП и ОВП на стабильный уровень (0,5 и 0,7 В). Изменение ОВП среды происходит синхронно с изменением ЭП сульфида, свидетельствуя об органической связи электрохимических характеристик среды и минерала с состоянием раствора, а следовательно, и с ходом выщелачивания металлов.

В контроле халькопирит практически не изменился. В соответствии с этим ЭП сульфида, не меняясь оставался на одном уровне (около 0,4 В)



в равновесии с окислительным потенциалом среды, который составил 0,5 В. Таким образом, вполне закономерное изменение электрохимических характеристик — ОВП раствора и ЭП минерала — позволяет использовать их для контроля за процессом бактериального выщелачивания.

3.2.5. Окисление смесей сульфидных минералов

На сульфидных месторождениях, подвергаемых бактериальному выщелачиванию, обычно приходится иметь дело не с отдельными минералами, а с полиминеральными ассоциациями — рудами. Процесс окисления отдельного сульфидного минерала в этом случае значительно усложняется. Он направляется и контролируется особенностями электрохимических реакций, протекающих между контактирующими минералами. Минерал, обладающий более высоким ЭП выполняет роль катода, усиливающего окисление минерала с более низким ЭП-анода. Чем больше разница в ЭП смесей минералов, тем интенсивнее происходит окисление минерала-анода. Для правильной оценки направленности и интенсивности хода бактериального выщелачивания руд, а также состава формирующихся растворов, целесообразно перед его проведением изучить характер сочетания минералов в руде, выделить типы руд и провести эксперимент по окислению тех пар сульфидных минералов, которые имитируют главные типы рудных ассоциаций. К примеру, на медноколчеданных месторождениях такими парами будут: пирит-халькопирит, пирит-халькозин, пирит-борнит, халькопирит-халькозин.

В процессе эксперимента два минеральных электрода помещают в гальваническую ячейку с раствором электролита. С помощью прибора (рис. 3. 8) осуществляют контактирование электродов, образующих гальваническую пару. Измерение pH, ОВП раствора и ЭП минералов, как всегда, проводят с интервалом 5 мин. Графики зависимости ЭП-pH наносят на диаграмму состояния элементов в водных растворах.

Проведение эксперимента по совместному окислению пирита (FeS_2) с халькопиритом (CuFeS_2), халькозином (Cu_2S) и борнитом (Cu_5FeS_4) показали, что ЭП пирита был постоянно выше, чем у любого контактирующего с ним минерала-партнера. По этой причине в изученных гальванических парах минералов пирит, занимая устойчивое место катода, был защищен от разрушающего его коррозионного процесса. Деструктиванию подвергался контактирующий с пиритом медный сульфид, расположенный на аноде гальванической пары. Результаты данного эксперимента позволяют полагать, что и при проведении бактериального окисления этого типа руд пирит, являясь катодом, наряду с бактериальной клеткой

будет стимулировать окисление более низкопотенциальных (анодных) медных сульфидов. В опытах по бактериальному выщелачиванию сульфидных пар, содержащих в качестве одного минерала-партнера пирит, наблюдалось более, чем вдвое интенсивное извлечение меди из медных сульфидов — халькопирита, халькозина и борнита, по сравнению с опытами с использованием только мономинеральных проб (табл. 3.3).

3.2.6. Методы исследований межфазовых переходов на поверхности сульфидных минералов

В процессах бактериального выщелачивания происходит метаморфизация поверхности сульфидных минералов, например, образуются оксидные соединения, элементарная сера и т.п. Кроме того, в зависимости от значения электродного потенциала, кристаллохимического строения, как это видно из вышеприведенных данных, происходит селективное выщелачивание того или иного минерала из рассматриваемой полиминеральной смеси. Таким образом, природа и состояние поверхности сульфидных минералов определяют характер их взаимодействия с бактериями и продуктами их метаболизма, что определяет выщелачиваемость исследуемого полиминерального продукта. Надежная информация о состоянии минеральной поверхности также необходима для проведения достоверного термодинамического анализа возможных реакций и механизма бактериального выщелачивания. Известно, что предварительную оценку свойств поверхности минералов можно провести на основании анализа его кристаллической структуры и характера обнажающихся связей при деструктировании кристалла [43]. Для оценки состояния поверхности сульфидных минералов, состав которых существенно меняется в процессе бактериального выщелачивания и зависит от pH и ОВП, широко применяется термодинамический метод анализа. Кристаллохимические особенности строения минералов при этом используются в основном для объяснения различий в структуре и прочности образующихся на поверхности соединений [43]. При рассмотрении равновесных отношений в процессе термодинамического анализа возможных реакций на поверхности минералов используются выражения для константы равновесия, зависимости между стандартной свободной энергией образования и константой равновесия или стандартным электродным потенциалом, зависимость между изменением электродного потенциала и константой реакции.

Константа равновесия K характеризует, в соответствии с законом действия масс, зависимость между концентрациями реагирующих веществ и продуктов реакции. Например, для реакции:



$$K = \frac{[D]^d \cdot [E]^e}{[B]^b \cdot [C]^c}$$

где $[B]$, $[C]$, $[D]$, $[E]$ — активности компонентов.

Таблица 3.3

Выход меди в раствор в опытах с мономинеральными и смешанными пробами
(Время 8 суток)

Мономинеральные пробы	Выход меди в % от содержания в 1 г пробы минералов	Смешанные пробы	Выход меди в % от содержания в 1 г пробы минералов
Халькопирит	25	Халькопирит — пирит	60
Халькозин	12	Халькозин-пирит	50
Борнит	30	Борнит-пирит	50

Активность твердых веществ и чистых жидкостей принимается равной единице. Значение K может быть рассчитано, если известна величина стандартной свободной энергии реакции $\Delta F^0_{\text{реакции}}$, поскольку они связаны соотношением:

$$\Delta F^0_{\text{реакции}} = -RT \ln K, \quad (3.2)$$

где R — универсальная газовая постоянная;

T — абсолютная температура.

При 25°C

$$\Delta F^0_{\text{реакции}} = -1,364 \lg K \quad (3.3)$$

Стандартная свободная энергия реакции есть сумма свободных энергий образования продуктов реакции в их стандартном состоянии за вычетом суммы свободных энергий образования исходных веществ в их стандартном состоянии:

$$\Delta F^0_{\text{реакции}} = \sum \Delta F^0_{\text{образования продуктов}} - \sum \Delta F^0_{\text{образования реагентов}}. \quad (3.4)$$

Учитывая, что стандартная свободная энергия водородного полуэлемента принимается равной нулю, любую окислительно-восстановительную реакцию можно выразить в виде двух полуреакций — окисления и восстановления. Между стандартной свободной энергией и стандартным электродным потенциалом реакции при активности всех веществ равной единице ($E^0_{\text{реакции}}$), существует взаимосвязь:

$$\Delta F^0_{\text{реакции}} = E^0_{\text{реакции}} \cdot n \cdot F, \quad (3.5)$$

где: n — число участвующих в реакции электронов, F — число Фарадея $23,06 \text{ ккал/В} \cdot \text{г} - \text{экв.}$

Если активность веществ не равна единице, то справедливо:

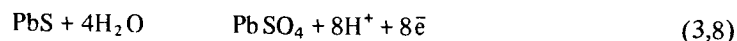
$$\Delta F_{\text{реакции}} = \Delta F^0_{\text{реакции}} + RT \ln K \quad (3.6)$$

$$E = E^0_{\text{реакции}} + \frac{RT}{nF} \ln K \quad (3.7)$$

Чтобы определить равновесные концентрации ионных или молекулярных компонентов в граничных условиях перехода одного соединения в другое, необходимо провести полный химический расчет системы [1,41]. Для этого составляется и решается система уравнений из выражений констант равновесия соответствующих реакций диссоциации соединений, воды и возможного гидролиза ионов, уравнений баланса и электронейтральности.

Рассмотрим на примере применимость термодинамического анализа для определения граничных условий межфазового перехода на примере окисления сульфида свинца.

При окислении до англезита — сульфата свинца — имеем:



$$\Delta F^0_{\text{реакции}} = +55,02, \text{ ккал}$$

$$E^0_{\text{реакции}} = +0,299, \text{ В}$$

$$E = +0,299 + 0,059 \text{ pH.}$$

При окислении до тиосульфата свинца имеем:



$$\Delta F^0_{\text{реакции}} = +93,15, \text{ ккал}$$

$$E^0_{\text{реакции}} = +0,504, \text{ В}$$

$$E = +0,504 - 0,059 \text{ pH.}$$

Полученные уравнения межфазового перехода имеют в координатах Пурбе /ОВП-рН/ одинаковый угол наклона $0,059 \text{ pH}$, причем при всех значениях pH реакция окисления до англезита начинается раньше. Казалось бы, что реакцию окисления до тиосульфата можно исключить как метастабильную, но необходимо учитывать, что термодинамический подход определяет только принципиальную возможность протекания той или иной химической реакции. В реальных химических системах протекание термодинамически предопределенной реакции может и не происходить вследствие кинетических особенностей рассматриваемой системы. Поэтому полученные теоретические термодинамические зависимости необходимо подвергать экспериментальному тестированию. Наиболее часто для проверки результатов термодинамических расчетов используются электрохимические методы исследований, позволяющие провести необходимые измерения в условиях, близких к промышленным. Обычно, используемая для электрохимических исследований установка представляет собой следящую электронную систему, поддерживающую ток поляризации в цепи электрохимической ячейки на таком уровне, чтобы падение потенциала у поверхности исследуемого минерала соответствовало бы заданному. Для этого используются потенциалостаты, в качестве следящих систем используют потенциометры самопишущие, осциллографы, для наложения переменного напряжения высокой частоты — звуковые генераторы. Конструкции электрохимических установок, способы изготовления электродов описаны во многих руководствах [1, 44, 45].

Значения потенциалов межфазовых переходов сульфидов в соответствующие окисленные соединения можно определить, например, по зависимости увеличения плотности заряда от тока поляризации на минеральных электродах.

Если минерал, покрытый оксидной пленкой, погрузить в раствор, химически инертный относительно пленки, и включить катодную поляризацию при постоянной силе тока, то электрод приобретет значение потенциала, при котором становится возможным восстановление окисленного соединения. Пока будет протекать восстановление, потенциал электрода будет практически неизменным, так как электрические заряды расходуются на восстановление окисленного соединения. Проведя подобные исследо-

вания при различных значениях pH, можно верифицировать зависимость, полученную термодинамическим методом. При использовании метода спада потенциала наоборот исследуется процесс окисления чистых поверхностей минералов. Для этого минеральный электрод зачищают под водой и выдерживают при потенциалах на 0,3–0,2 В отрицательнее их расчетных значений для предполагаемой реакции окисления в течение 30 мин. Затем цепь поляризации прерывают и записывают кривые спада потенциала. Продукты окисления сульфидных минералов обычно не обладают достаточной ионной или электронной проводимостью. Это является причиной совпадения значений потенциалов в начале окисления сульфидной поверхности при электрохимической пассивации ее, и их можно определить методом снятия поляризационных кривых в потенциодинамическом режиме. Для этого на минеральном электроде создают нарастание потенциала с определенной скоростью и фиксируют при этом величину тока в цепи ячейки. При этом, применяя потенциалостаты, можно проводить развертку потенциала как в катодную, так и в анодную области на зачищенном или окисленном электроде. По наличию пиков максимумов и минимумов судят о протекании химической реакции при том или ином значении потенциала. При помещении минерального электрода в исследуемые растворы возникает обмен электрода и раствора ионами. Однако скорость этого процесса в прямом и обратном направлениях неодинакова. Вследствие этого возникает распределение потенциала у электрода и образуется двойной электрический слой из противоположно заряженных ионов. Причем при наличии сорбции молекул, окисления поверхности минерального электрода емкость двойного электрического слоя изменяется. Следовательно, наличие межфазовых переходов можно установить по измерению дифференциальной емкости двойного электрического слоя. Процессы бактериального выщелачивания, как правило, производятся в пульпе из смеси полиминеральных частиц. Поэтому необходимо учитывать эффект взаимного влияния минералов на их окисление. При этом суммарный процесс имеет электрохимический характер и по сути дела является коррозионным. Для оценки взаимного влияния сульфидных минералов на их окисление можно воспользоваться методом изображения самопроизвольных процессов при помощи поляризационных кривых [1,41]. Для каждой рассматриваемой пары минералов при их совместном окислении один из минералов (анод) начинает окисляться быстрее другого (катода). При наличии бактерий в пульпе этот процесс еще более усиливается. Причем, в зависимости от крутизны поляризационных кривых и значения электродного потенциала степень гальванической защиты минерала катода может быть различной, а именно, — частичной или полной [1,41].

3.3. ПОЛУЧЕНИЕ БИОМАССЫ T.FERROOXIDANS

Концентрированную биомассу для интенсификации окислительных процессов можно получить различными путями. Однако получение большой биомассы ацидофильных хемолитоавтотрофных бактерий в промыш-

ленных целях классическими способами крайне затруднительно. Покажем это на примере железоокисляющих бактерий *T.ferrooxidans*.

Для образования 1 г сухой биомассы даже при 100% КПД биосинтеза эта бактерия должна окислить около 26 г двухвалентного железа в трехвалентное. Реально КПД для этой бактерии в лучшем случае составляет 25–30% [18]. Это значит, что для синтеза 1 г биомассы нужно окислить около 100 г восстановленного железа. Количество биомассы, которое может быть выращено в единице объема питательной среды, составляет согласно модели Моно-Иерусалимского для непрерывной культуры:

$$X = \frac{S_0 - S}{\alpha} \quad (3.10)$$

где S_0 и S — концентрации субстрата в потоке среды на входе и выходе из культиватора;

α — коэффициент затрат, т.е. количество субстрата, затрачиваемое культурой для прироста единицы биомассы.

Максимально возможное значение S_0 для иона железа в среде — около 50 г/л, так как при более высоких концентрациях железа рост бактерий полностью прекращается. Считая, что S может быть близко к нулю, а $\alpha = 100$ г/г, получим, что максимальная концентрация бактериальной биомассы при таком способе непрерывного культивирования не может превышать согласно уравнению (3.10) величины 0,5 г/л, что эквивалентно примерно 10^{10} кл/мл. Реально этой величины достичь не удастся, так как при столь высоком содержании в среде общего железа КПД биосинтеза в несколько раз ниже принятого в расчете, и получаемая концентрация клеток достигает только порядка 10^9 кл/мл.

Известные и применяемые в настоящее время для выращивания железоокисляющих бактерий среды Летена (глава 2, № 1), Сильвермана и Лундгрена (глава 2, № 2) содержат меньшее количество железа, и предельная концентрация бактерий, которая может быть получена на этих средах, лежит между 10^9 и 10^{10} кл/мл.

Таким образом, использование классической технологии для выращивания хемолитоавтотрофов, например, *T.ferrooxidans* не позволяет получать достаточно концентрированную биомассу бактерий, а следовательно, и высокую активность процесса. Кроме того при выращивании одного грамма клеток бактерий образуется не менее 100 г окисленного железа или около 400 г соли $Fe_2(SO_4)_3$ в виде кислого (pH 2) раствора объемом более 10 л. При таких условиях культивирования при переходе к получению биомассы в масштабах килограммов, расходы железа и серной кислоты, а также отходы производства увеличиваются тысячекратно.

Ниже приводятся наиболее технологически приемлемые способы получения активной биомассы бактерий.

3.3.1. Метод получения биомассы с использованием электрического тока

Повысить концентрацию клеток в культуре и одновременно снять практически все упомянутые выше слабые места технологии можно с

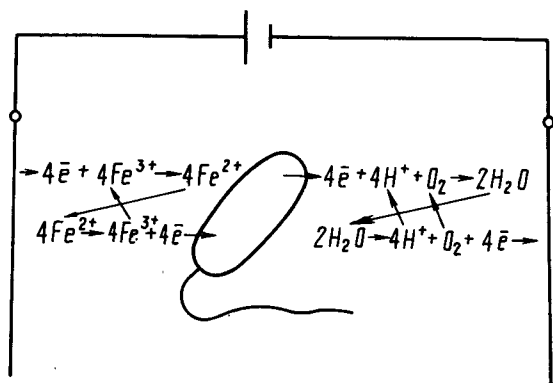


Рис. 3.15. Схема реакций на электродах электролитической ячейки и в клетке

помощью метода выращивания, предложенного Кинзел и Умбрейтом [66]. Идея этого метода заключается в совмещении в одном аппарате двух процессов — микробиологического окисления Fe^{2+} и электрохимического восстановления Fe^{3+} до Fe^{2+} .

Таким образом, для культивирования некоторых хемолитоавтотрофных микроорганизмов появился новый, только для них применимый способ введения энергии в процесс — путем электрохимического восстановления энергетического субстрата непосредственно в культуре.

На рис. 3.15 приведена схема реакций в электрохимической ячейке, обеспечивающих энергопитание клетки *T. ferrooxidans*.

При этом источником энергии для роста клеток становится электрическая энергия, а энергетический субстрат, в данном случае — ион железа, становится просто переносчиком энергии с катода реактора на клетку бактерии. Причем Fe^{2+} не вносится извне с потоком среды, а образуется здесь же, непосредственно в культуре на поверхности катода.

3.3.2. Управление процессом непрерывного культивирования *T. ferrooxidans*

Суть управления процессом непрерывного культивирования *T. ferrooxidans* сводится к автоматическому согласованию двух противоположно направленных процессов — бактериального окисления Fe^{2+} и электрохимического восстановления Fe^{3+} . Наиболее удобным для практического использования является способ поддержания постоянного потенциала катода [14].

Для получения максимальных скоростей электровосстановления и соответственно максимальной продуктивности культиватора значение потенциала катода выбирается в области плато экспериментальной кривой

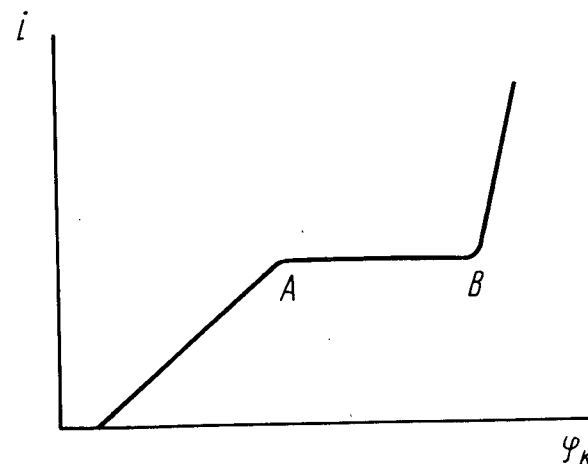


Рис. 3.16. Зависимость тока от напряжения на электродах ячейки. В области А—В — предельный ток восстановления Fe^{2+} , правее В — область выделения на катоде водорода

„потенциал катода-ток через реактор” (рис. 3.16), что обеспечивает постоянную работу реактора в режиме предельного тока по трехвалентному железу. Любое изменение окислительной способности культуры ведет к изменению концентрации окисленного железа и, следовательно, к изменению скорости его электровосстановления. В результате равенство скоростей бактериального окисления и электрохимического восстановления удерживается автоматически.

3.3.3. Управление минеральным питанием *T. ferrooxidans*

Скорость поступления в культуру элементов минерального питания с протоком среды должна быть согласована со скоростью поступления энергетического субстрата путем электрохимического восстановления. Только при этом условии можно сохранять лимитирующую роль источника энергии. Турбидостатный метод культивирования предусматривает положительную связь между продукцией биомассы и протоком среды, поэтому он пригоден для выращивания хемолитоавтотрофов. Однако реализация плотностатного способа культивирования для железобактерий наталкивается на методические трудности, связанные с отсутствием датчика концентрации биомассы клеток в культуре, без которого невозможна вся система автоматического согласования протока среды с приростом биомассы.

Культура хемолитоавтотрофов, однако, позволяет легко измерять и учитывать введенную в нее энергию, которая пропорциональна электри-

ческому току. Если КПД биосинтеза постоянен во времени (а это действительно так при постоянстве параметров среды в реакторе), то счетчик электрического тока, прошедшего через реактор, может заменить датчик концентрации биомассы [15]. При этом нестабильность КПД биосинтеза культуры не является существенной помехой для управления минеральным питанием. Расчет скорости подачи минеральных компонентов выполняется для максимально возможного КПД биосинтеза, и если он в эксперименте снижен по каким-либо причинам, то фоновые концентрации дозируемых элементов повысятся, но это не приведет к смене лимитирующего фактора и не ухудшит роста культуры.

Величина разведения культуры D ($ч^{-1}$), КПД культуры η , концентрация биомассы клеток в культуре X (г/л) и удельный ток через культуру I (А/л) связаны следующим соотношением:

$$D = 0,0785 I \eta / X. \quad (3.11)$$

Из этого уравнения видно, что разведение культуры пропорционально току через культуру, величины η и X постоянны во времени, если не изменяются условия культивирования. Коэффициент уравнения рассчитан для калорийности сухой биомассы бактерий 5 ккал/г и энергетического выхода реакции окисления $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ 11 ккал/моль.

В процессе роста клетки бактерий потребляют два газообразных компонента — молекулярный кислород и углекислый газ. Кислород является реагентом в реакции окисления железа бактериями, а углекислота — источником углерода для построения биомассы. Количественные потребности бактерий в этих газах резко различны. При построении одного грамма биомассы бактерий, если КПД биосинтеза культуры 25%, на окисление субстрата затрачивается около 10 л O_2 , при этом в качестве источника углерода ассимилируется около одного литра CO_2 . При снижении КПД биосинтеза соотношение потребленных кислорода и углекислого газа изменяется в сторону увеличения относительной доли кислорода. Соотношение же ассимилированной углекислоты и синтезированной биомассы практически не изменяется.

Большие потребности *T.ferrooxidans* в кислороде не влияют на экономичность непрерывного электрохимического процесса культивирования, так как необходимое для окисления железа количество кислорода образуется на аноде того же реактора, где выращиваются бактерии.

Следует отметить, что *T.ferrooxidans* в отсутствие углекислоты может длительное время (10 суток и более) окислять железо с той же скоростью, как и в присутствии CO_2 , но прироста биомассы при этом не происходит.

Аппаратура для непрерывного культивирования. В настоящем разделе рассматривается устройство культиватора для непрерывного выращивания *T.ferrooxidans*. В этом же культиваторе возможно и периодическое культивирование тех же микроорганизмов, только при этом часть систем культиватора не используется. Общая схема культиватора представлена на рис. 3.17. [22].

Реактор. На выбор конструкции реактора решающее влияние оказывает то обстоятельство, что он является электрохимической ячейкой. К

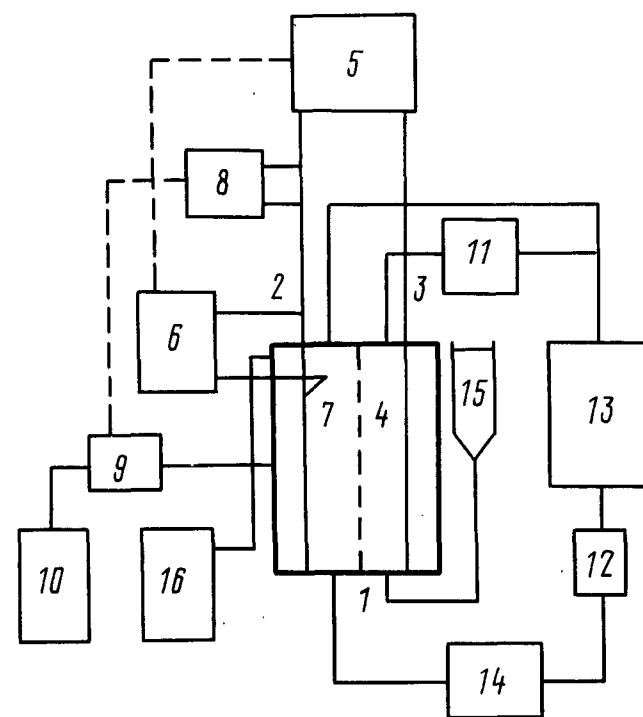


Рис. 3.17. Блок-схема культиватора для непрерывного выращивания *T. ferrooxidans*:

- 1 — реактор; 2 — катод; 3 — анод; 4 — ионообменная мембрана; 5 — управляемый источник постоянного тока; 6 — потенциостат; 7 — датчик потенциала катода; 8 — датчик потенциала анода; 9 — дозатор питательной среды; 10 — емкость питательной среды; 11 — счетчик кислорода; 12 — компрессор; 13 — газгольдер; 14 — расходомер газа; 15 — емкость дистиллированной воды; 16 — сборник урожая

конструкции реактора должны предъявляться требования обеспечения оптимальных условий для роста микроорганизмов (температура, pH среды, ее химический состав, аэрация) и для электрохимического процесса (минимальное омическое сопротивление, высокая плотность тока). Эти требования не всегда совпадают, и использованные конструктивные решения являются компромиссами и требуют дальнейшего совершенствования.

Предельная производительность реактора определяется площадью его катода, поскольку плотность тока на катоде ограничена. Объем культуры для производительности реактора большого значения не имеет, важно только количество биомассы бактерий, отнесенное к единице площади поверхности катода ($г/м^2$). Это позволяет сделать реактор со сравнительно тонким слоем культуры на поверхности катода. В созданных и опробованных авторами конструкциях реакторов в качестве катода использовались прямоугольные плоские платиновые поверхности, а слой культуры на катоде составлял 10–20 мм.

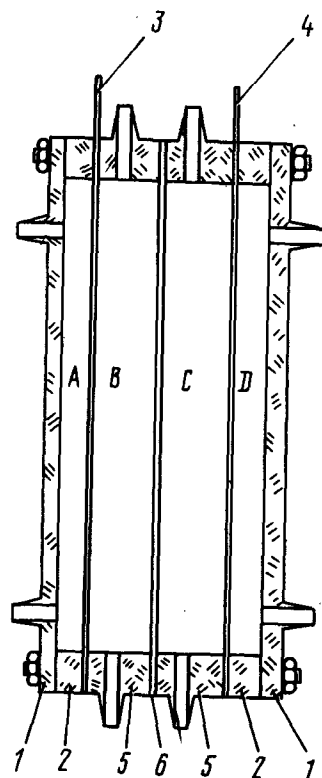


Рис. 3.18. Схематический разрез реактора:
1 — внешняя стенка водяной рубашки;
2 — рама водяной рубашки; 3 — катод;
4 — анод;
5 — рама анодного и катодного пространства;
6 — ионообменная мембрана;
А, D — водяная рубашка; В — катодное пространство; С — анодное пространство

Катодное пространство отделено от анодного катионообменной мембраной, что предотвращает окисление восстановленной формы железа на аноде и тем самым повышает эффективность электрохимического процесса. Толщина слоя анолита также не играет роли в процессе культивирования. Анод так же, как и катод, имеет платиновую поверхность. Необходимость термостабилизации культуры обуславливает устройство у реактора рубашек для хладагента. Разрез реактора показан схематично на рис. 3.18. Реактор конструктивно представляет собой разборный пакет деталей, стянутый по периметру шпильками. Герметизация всех полостей реактора обеспечивается резиновыми прокладками. В отсеке катодного пространства имеются штуцеры для ввода и вывода культуры, аэрирующей газовой смеси, для установки термометров и термодатчиков, а также электрода для измерения потенциала катода. В стенке анодной камеры имеются штуцеры для подачи и слива анолита, а также для вывода образующегося на аноде кислорода.

Стенки всех полостей реактора изготавливают из материала, стойкого к агрессивным условиям среды реактора, например, из органического стекла.

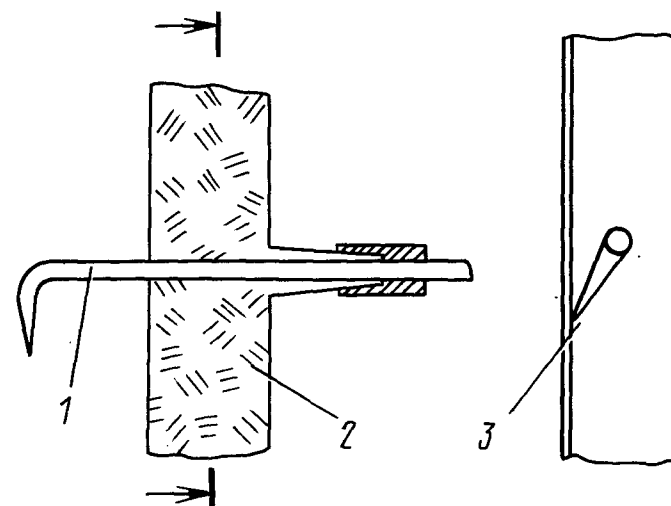


Рис. 3.19. Введение в реактор капиллярного датчика потенциала катода:
1 — датчик; 2 — стенка катодного пространства реактора; 3 — катод

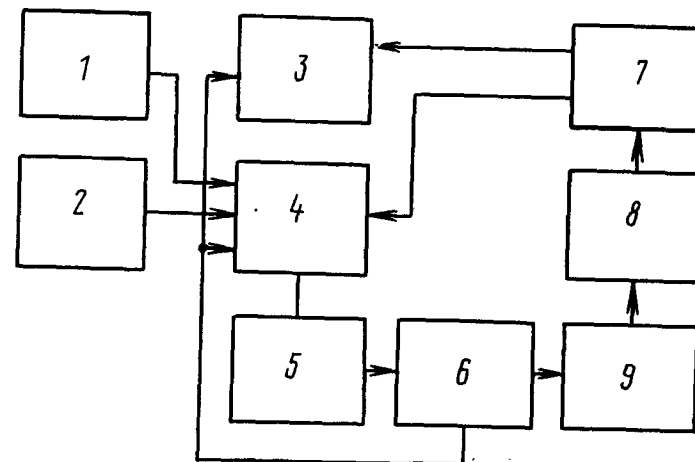


Рис. 3.20. Блок-схема электрического питания реактора:
1 — внешний генератор; 2 — блок установления исходного потенциала и тока;
3 — регистратор потенциала катода и тока; 4 — усилитель рассогласования; 5 — регулируемый источник тока; 6 — датчик тока; 7 — буферный каскад усиления потенциала катода; 8 — датчик потенциала катода; 9 — реактор

Система термостабилизации. В описанной модели реактора термостабилизация культуры осуществляется протоком через рубашки реактора воды от термостата. Контактный термометр термостата введен в катодное пространство реактора, где находится культура бактерий.

Температурный оптимум у *T. ferrooxidans* достаточно широк; поэтому термостабилизация культуры с точностью $\pm 1-2^\circ\text{C}$ от оптимального значения вполне удовлетворительна.

Система электроснабжения реактора. Для обеспечения устойчивого процесса роста клеток культивирование проводится при постоянном потенциале на катоде.

В качестве датчика потенциала катода используется стеклянный капилляр, введенный в реактор, как показано на рис. 3.19. Капилляр соединен силиконовым шлангом с изготовленным из изолятора (оргстекло) стаканом с раствором серной кислоты (рН 1). В свою очередь, этот стакан соединен агаровым мостиком с таким же стаканом с насыщенным раствором KCl, в который помещен хлорсеребряный электрод и с которого снимается напряжение относительно катода реактора.

Постоянный потенциал на катоде может быть обеспечен с помощью потенциостата с выходным напряжением от 0 до 30 В и током от 0 до 30 А.

Если в распоряжении экспериментатора нет такого мощного потенциостата, то он должен либо уменьшать размеры электрохимического реактора до такой величины, чтобы маломощный потенциостат обеспечивал

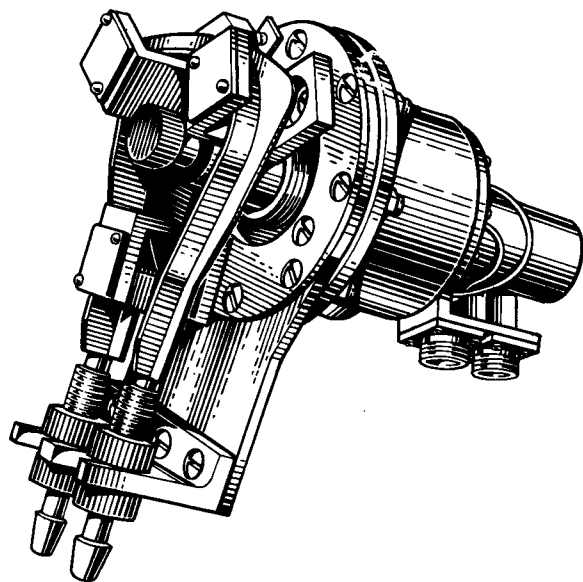


Рис. 3.21. Дозатор питательной среды на основе электродвигателя Д-60Г

поддержание требуемого потенциала, либо применять в комплексе с маломощным потенциостатом усилитель мощности. Авторы использовали второй путь. Блок-схема системы автоматического регулирования потенциала катода приведена на рис. 3.20.

Функции задания потенциала катода и усиления сигнала рассогласования выполняет стандартный потенциостат П5848. В качестве регулируемого источника постоянного тока применяется тиристорный усилитель мощности. В качестве внешнего датчика используется генератор инфранизких частот. Датчиком тока служит тоноизмерительный шунт. Для уменьшения электрических помех применяется буферный каскад, выполненный по схеме повторителя напряжения. Величины тока и потенциала регистрируются самописцем.

Система минерального питания и сбор урожая. В эту систему входят: емкость с питательной средой (расчет питательной среды приводится ниже), дозатор, интегратор тока — счетчик прошедшего через реактор количества электричества и емкость для сбора урожая.

Емкости для питательной среды и урожая должны быть коррозионно стойкими (рН растворов ≤ 2). В качестве дозатора применен шланговый насос (рис. 3.21), изготовленный на базе электродвигателя со встроенным редуктором. Интегратор тока представляет собой счетчик прошедшего через реактор электрического тока. Интегратор включает дозатор питательной среды после прохождения через реактор заданного количества электрических зарядов. Дозатор отработывает задаваемый отрезок времени и подает в культуру заданное (расчетное) количество питательной среды [15].

Для того, чтобы пояснить способ выбора параметров согласования тока через реактор с протоком питательной среды через культуру, обратимся к приведенному выше уравнению (3.11). Перепишем его в следующей форме:

$$D = \frac{V_1}{V} = 0,0785 I \frac{\eta}{X}, \quad (3.12)$$

откуда

$$V_1 = 0,0785 I V \frac{\eta}{X}, \quad (3.13)$$

где V_1 — расход питательной среды в л/ч через реактор;

V — объем культуры в реакторе, л. КПД биосинтеза бактерий η может быть принят в расчете равным 0,25.

Так как I — значение тока, отнесенное к объему культуры в реакторе, то произведение IV — ток через реактор. Тогда при протекании 1 А·ч электричества (или 3600 кулонов) в реактор необходимо подать объем среды, равный:

$$V_1 = 0,0785 \frac{\eta}{X}. \quad (3.14)$$

При концентрации сухой биомассы 4 г/л и КПД биосинтеза 0,25 это составит около 5 мл/А·ч. Технически это легко осуществить с помощью упомя-

нутого выше интегратора тока, например, установить порог срабатывания дозатора 1 А·ч, а длительность работы дозатора при каждом его включении отрегулировать так, чтобы объем вводимой среды составил 5 мл. Возможно и другое сочетание величин, например, срабатывание интегратора на 2 А·ч, а вводимая дозатором порция среды 10 мл и т.д.

Избыток объема культуры сливается по уровню сливного штуцера катодного пространства реактора. Надо отметить, что объем урожая обязательно больше, чем объем поданной в реактор питательной среды, так как в катодном пространстве при окислении железа образуется вода в количестве 0,336 мл/А·ч прошедшего через реактор тока. На аноде реактора идет электролиз воды, за счет чего в анодном пространстве количество воды уменьшается на столько же, сколько ее синтезируется в катодном пространстве. Поэтому в конструкции культиватора предусматривается емкость с дистиллированной водой, из которой анолит — раствор H_2SO_4 (рН 1–1,5) постоянно пополняется по принципу сообщающихся сосудов.

Система аэрации культуры. Для лабораторных культиваторов удобно применять замкнутую систему аэрации культуры, приведенную на схеме культиватора (рис. 3.17). Поскольку газовая смесь, используемая для аэрации, отличается от атмосферного воздуха, то удобно, создав нужную смесь в газгольdere, далее использовать ее, гарантируя на некотором отрезке времени предсказуемость газового состава в реакторе.

В состав замкнутой системы аэрации входят: газгольдер, компрессор, измеритель расхода газа, пеноотделитель, холодильник выходящего газа.

Компрессор для аэрации культуры может быть любой конструкции. Предпочтительно использовать непоршневые компрессоры, например, мембранные, так как поршневые загрязняют газ парами масел и поэтому требуют хорошей очистки газа. Возможно применение роторных газодувок и других не загрязняющих газ приборов.

Аэрация культуры не только обеспечивает введение в культуру необходимых для ее роста кислорода и углекислоты, но и создает турбулентность культуры у поверхности катода, что уменьшает толщину диффузионного слоя жидкости на катоде. На рисунке 3.22 видно, что ток насыщения растет с ростом интенсивности аэрации до значений $8 - 10 \text{ м}^3/\text{мин}$ на м^2 площади горизонтального сечения катодного пространства реактора ($\text{м}^2/\text{мин}$).

Отделитель пены представляет собой стеклянную колбу объемом от 1/4 до 1/2 объема культуры в реакторе (рис. 3.23). Газовый выход реактора подается в верхнюю часть колбы, жидкая фракция выходящей из реактора газовой смеси стекает через нижний штуцер в реактор, газ далее поступает в холодильник. Используются преимущественно стеклянные холодильники с охлаждением водопроводной водой. Металлические конструкции подвержены коррозии, так как не исключено попадание в холодильник культуры бактерий. Конденсат, образующийся в холодильнике, сбрасывается в реактор. В случае отсутствия холодильника конденсат будет скапливаться в газгольдере и в газовых коммуникациях культиватора.

Культура *T. ferrooxidans* при нормальном физиологическом состоянии

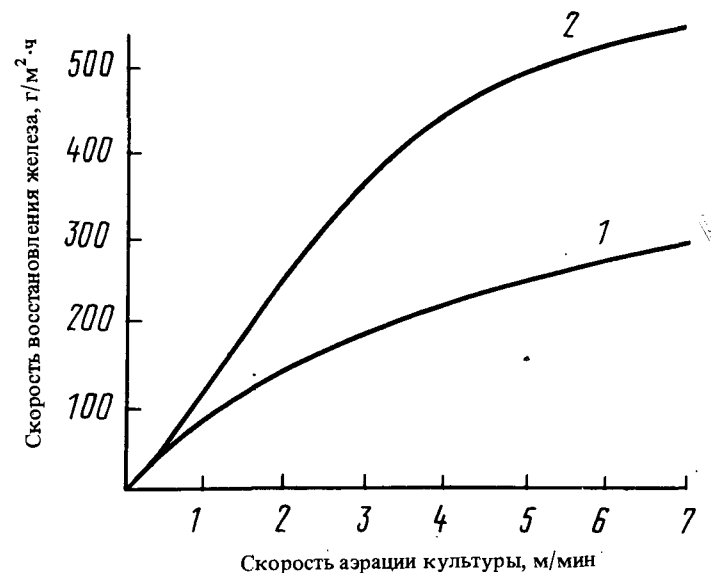


Рис. 3.22. Зависимость скорости электровосстановления Fe^{2+} на катоде реактора от интенсивности аэрации культуры

1 — скорость электровосстановления при потенциале катода +300 мВ, соответствующем началу плато; 2 — скорость электровосстановления при потенциале катода +300 мВ в конце плато насыщения

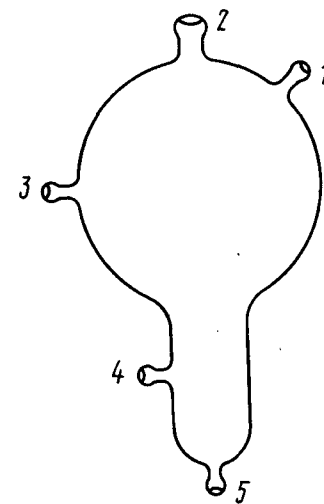


Рис. 3.23. Пенноотделитель:

1 — вход газожидкостной смеси из реактора; 2 — выход газа на холодильник; 3 — вход кислорода из анодного пространства реактора; 4 — слив культуры в сборник урожая; 5 — возврат жидкой фазы в реактор

клеток вспенивается очень слабо и для пеногашения вполне достаточно описанной конструкции. Усиление вспенивания культуры — верный признак неблагоприятных условий среды (низкий pH, повышенная температура и другие факторы, приводящие к гибели клеток в культуре).

3.3.4. Состав питательной среды для непрерывного культивирования

При культивировании бактерий с применением электрохимического восстановления окисленного железа концентрация бактерий может быть достигнута до десятков граммов в литре. Для непрерывного культивирования *T.ferrooxidans* этим способом необходимо применять сбалансированные среды [16]. Это вытекает из следующих закономерностей.

Как следует из математической модели непрерывной культуры по Моно-Иерусалимскому [42], концентрация потребляемого микроорганизмами элемента в питательной среде, в фоновой среде и концентрация биомассы микроорганизмов в культуре связаны соотношением:

$$S_0 = S + \alpha X \quad (3.15)$$

Таким образом, никакая питательная среда не может быть универсальной для непрерывного культивирования микроорганизмов с любой концентрацией их биомассы. Универсален только метод расчета среды, основанный на уравнении (3.15), потому что среда, рассчитанная по уравнению, сбалансирована с потребностями клеток бактерий.

Из уравнения (3.15) следует что для расчета концентрации любого элемента в питательной среде S_0 необходимо знать коэффициент затрат этого элемента на построение биомассы бактерий α и минимальную фоновую концентрацию этого элемента S , которая не лимитирует рост клеток.

Высокие фоновые концентрации элементов среды S , даже если они и не оказывают ингибирующего действия на рост клеток, не выгодны экономически.

В результате экспериментальных исследований определены коэффициенты затрат основных минеральных элементов на биосинтез бактериальной биомассы и достаточные фоновые концентрации этих элементов (см. табл. 3.4.).

Таблица 3.4.

Значения коэффициента затрат α и минимальных нелимитирующих фоновых концентраций S для основных биогенных элементов питательной среды

Показатель, мг/л	Биогенные элементы			
	N	P	K	Mg
S	Не более 30	Не более 10	Не более 25	Не более 4
α	100±10	14±2	5±1	2±0,5

Кальций не вводился в состав питательной среды, так как он либо не нужен клеткам, либо потребности в нем невелики и удовлетворяются за счет содержания в виде примеси в реактивах.

В качестве компонентов для приготовления питательной среды использовали сульфаты аммония, калия и магния, фосфорную и серную кислоты.

Оптимальный pH для роста *T.ferrooxidans* лежит в области от 1,8 до 2,1. Железо вводили в среду в форме сульфата закисного железа, оптимальная концентрация по иону железа лежит в области 4–8 г/л.

В культуре в процессе непрерывного культивирования железо находится преимущественно в трехвалентной форме, поэтому ее pH выше, чем у свежеприготовленной среды. Для получения оптимального значения pH в культуре исходная питательная среда должна быть доведена до pH 1,6–1,65.

3.3.5. Влияние углекислоты и молекулярного кислорода

При высокой интенсивности аэрации (7–10 л/мин) для роста культуры достаточно 0,5% содержания углекислоты в газовой смеси [21]. При более низких концентрациях углекислоты рост клеток замедляется, скорость же окисления железа не снижается даже при полном отсутствии углекислоты. Однако разбавленные культуры можно выращивать и с применением атмосферного воздуха.

Верхний предел концентрации углекислоты достаточно высок — более 50%.

Повышение содержания кислорода в аэрирующем газе уже при 30% снижает рост клеток, а при 60% O_2 наступает резкое торможение роста клеток и даже их гибель.

Естественно, что влияние обоих газов — CO_2 и O_2 зависит от интенсивности аэрации культуры.

Концентрация биомассы бактерий в культуре. Предельная производительность культиватора определяется скоростью воспроизводства (электрохимического восстановления) энергетического субстрата — Fe^{2+} и КПД биосинтеза культуры.

Для того, чтобы была достигнута предельная производительность культиватора необходимо, чтобы концентрация окисленной формы железа была максимальной. В этом случае и ток через реактор будет максимальным. Но концентрация общего железа в культуре ограничена величиной 8 г/л. При более высоком содержании железа на катоде реактора образуется осадок ярозита, что приводит к уменьшению рабочей поверхности катода и, следовательно, к уменьшению тока. В этих условиях для повышения скорости электровосстановления железа необходимо, чтобы динамическое равновесие концентраций $Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+}$ было максимально сдвинуто в пользу Fe^{3+} . При этом культура должна окислять восстановленное железо с той же скоростью, с которой оно восстанавливается на катоде реактора.

На рис. 3.24 приведена зависимость скорости окисления закисного железа культурой *T.ferrooxidans* от концентрации биомассы в реакторе с

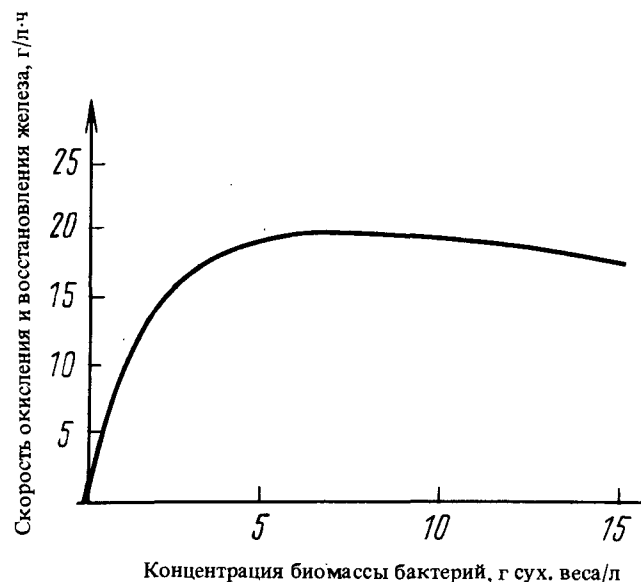


Рис. 3.24. Зависимость скорости окисления закисного железа. *T. ferrooxidans* от концентрации бактерий (концентрация общего железа 4 г/л, аэрация воздухом 7 л/мин)

синхронным восстановлением окисленного железа. Видно, что оптимальная концентрация биомассы лежит в области 5–10 г/л (по сухой биомассе). В этом опыте толщина слоя культуры на катоде была около 15 мм. При другой толщине слоя оптимальная концентрация биомассы изменится.

Концентрацию сырой биомассы в культуре определяли центрифужным методом (глава 2).

Культиватор описанной выше конструкции при оптимальных значениях основных параметров процесса культивирования позволяет получать до 100 г биомассы бактерий (в пересчете на сухую биомассу) с 1 м² поверхности катода в сутки. Плотность тока при этом около 250 А/м², КПД культуры около 20% (250 А·ч на 1 г сухой биомассы бактерий).

Как показано выше, оптимальная концентрация биомассы бактерий при их непрерывном культивировании лежит в области 5–10 г/л (сухая биомасса). Такая высокая концентрация бактерий (10¹² кл./мл) может быть достигнута и в накопительном режиме в том же культиваторе. Для этого необходимо отключить проток питательной среды и выращивать культуру из любой низкой концентрации до необходимой концентрации. Все минеральные компоненты среды, кроме фосфора, необходимо вводить в начале процесса, фосфор — по мере его потребления, так как повышенное его концентрации в культуре вызывает образование осадка ярозита на поверхности катода реактора и тем самым замедляет процесс.

Помимо платиновых электродов возможно применение свинцовых анодов и катодов из высоколегированных нержавеющей сталей, хотя из-за коррозии срок их эксплуатации ограничен. Эксперименты показали, что выращенные в электрохимическом культиваторе бактерии не теряют способности окислять сульфидные минералы. Они были успешно испытаны при выщелачивании арсенопиритного золотосодержащего [12, 36] и медно-цинкового концентратов.

3.3.6. Другие способы получения биомассы и регенерации Fe³⁺

Часто при чановом процессе выщелачивания металлов не удается получить концентрацию бактерий в пульпе выше 10⁹ клеток в 1 мл. Это ограничивает максимальную скорость окисления сульфидных минералов в плотной пульпе. Активную биомассу можно выделять из продуктивных растворов перед осаждением металлов и возвращать ее в голову процесса. Выделение биомассы проводят центрифугированием или сепарированием [37]. Таким путем удается повысить концентрацию бактерий, устойчивых в условиях выщелачивания в пульпе до 10¹⁰ – 0,5 · 10¹¹ клеток в 1 мл.

Для кучного и подземного выщелачивания предложен способ увеличения числа бактерий в растворах, получивший название Bacterial Film Oxidation (BACFOX Process) [69]. Суть этого метода заключается в следующем. Клетки *T. ferrooxidans* укрепляются в виде пленки на какой-либо поверхности, погруженной в раствор Fe²⁺, который насыщается воздухом. Процесс окисления Fe²⁺ осуществляется на протоке. Бактерии связывают с осажденным ярозитом, причем пленка, состоящая из бактерий и ярозита, может быть создана на различных материалах (стекло, пластики). В опытах Ливси–Гольдблатт и др. [69] лучшие результаты были получены со средой, в которой пленка бактерий была укреплена на гофрированном пластике (рис. 3.25). Максимум специфической скорости окисления Fe²⁺ в Fe³⁺ соответствовал 7,5 г/ч на 1 м² поверхности бактериальной пленки.

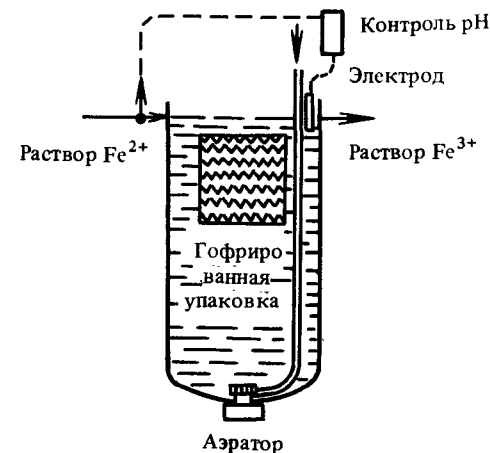


Рис. 3.25. Погруженный гофрированный блок — принудительная аэрация

3.4. МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ

При проведении исследований в лабораторных и промышленных условиях получают данные, характеризующие биомассу, продукты первичного и вторичного метаболизма, соответствующим образом преобразованный субстрат и т.д. Результатом эксперимента можно считать также различного рода кинетические характеристики роста и развития микроорганизмов, которые можно получить, используя данные о накоплении и преобразовании веществ в исследуемой системе, изменение или подтверждение наших представлений о регуляторных механизмах системы. Результаты, выражающие количества соответствующего вещества, числа клеток и т.п., служат основой для следующей ступени расчетов — кинетических характеристик, которые, в свою очередь, необходимы для создания физиолого-биохимической модели исследуемого процесса (рис. 3.26).

Непосредственные результаты измерений некоторого количества повторностей в большинстве случаев можно трактовать как случайные величины, вследствие того, что на них влияет множество не поддающихся учету факторов. Можно заранее с уверенностью утверждать, что увеличение числа повторностей ведет к увеличению достоверности наших выводов. Однако каждому, кто работал с микроорганизмами, известно, как трудно (и дорого) увеличивать число повторностей. Методы, разработанные математической статистикой, позволяют нам судить о степени надежности используемого экспериментального материала, делать достоверные выводы и прогнозы на будущее.

Этому вопросу посвящено много учебников, монографий, статей, специально предназначенных для биологов [4, 5, 34, 57]. Поэтому мы остановимся лишь на некоторых аспектах статистической обработки, наиболее часто встречающихся при экспериментальной работе по бактериальному и химическому выщелачиванию металлов из руд и концентратов.

3.4.1. Вычисление среднего и его доверительного интервала

Рассмотрим результаты некоторого эксперимента, состоящего из n повторностей — x_i (выборочная совокупность объема n). Будем предполагать, что форма распределения генеральной совокупности известна (например, нормальная). Можно показать [5, 34, 57], что лучшей (несмещенной, состоятельной, эффективной) оценкой среднего значения является выборочное среднее — \bar{x} (среднее арифметическое), рассчитываемое по формуле:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (3.16)$$

Разные выборки, имеющие одинаковое среднее арифметическое, могут отличаться отклонением от него. Поэтому важно знать среднеквадратич-

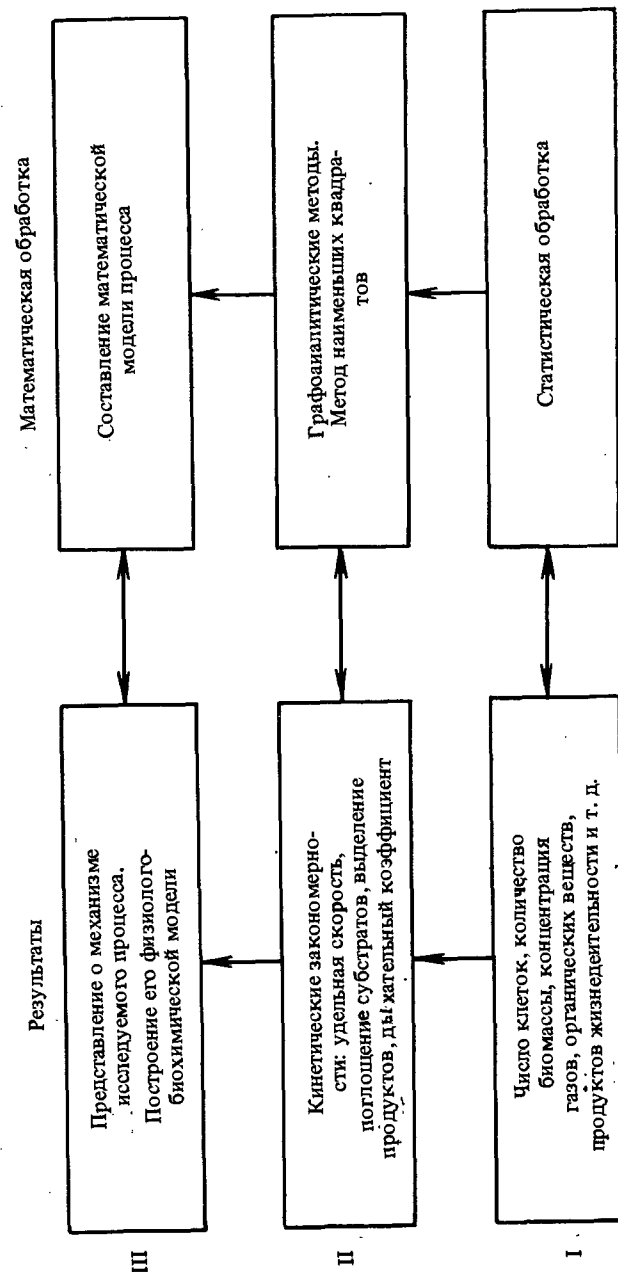


Рис. 3.26. Схема математической обработки микробиологических данных

ное отклонение, характеризующее разброс результатов около среднего значения:

$$S = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2. \quad (3.17)$$

Оценка случайной величины \bar{x} сама также является случайной величиной, распределенной, некоторым образом, около истинного значения. Построим интервал, внутри которого истинное значение будет лежать с некоторой заранее определенной вероятностью γ — доверительный интервал. Размеры интервала определяют по формуле:

$$I_\gamma = t_{\gamma, n-1} \cdot \frac{S}{\sqrt{n}}, \quad (3.18)$$

где $t_{\gamma, n-1}$ — значение критерия Стьюдента. Его берут из табл. 3.5 на пересечении столбца, соответствующего заданной вероятности γ , и строки с номером $n-1$ (на единицу меньше числа повторностей);

S вычисляется по формуле (3.17).

Таблица 3.5

Значения $t_{\gamma, n-1}$ по критерию Стьюдента

К	Уровень достоверности		К	Уровень достоверности		К	Уровень достоверности	
	95%	99%		95%	99%		95%	99%
1	12,71	63,66	12	2,18	3,06	23	2,07	2,81
2	4,30	9,92	13	2,16	3,01	24	2,06	2,80
3	3,18	5,84	14	2,14	2,98	25	2,06	2,79
4	2,78	4,60	15	2,13	2,95	26	2,06	2,78
5	2,57	4,03	16	2,12	2,92	27	2,05	2,77
6	2,45	3,71	17	2,11	2,90	28	2,05	2,76
7	2,36	3,50	18	2,10	2,88	29	2,04	2,76
8	2,31	3,36	19	2,09	2,86	30	2,04	2,75
9	2,26	3,25	20	2,09	2,84	40	2,02	2,70
10	2,23	3,17	21	2,08	2,83	60	2,00	2,66
11	2,20	3,11	22	2,07	2,82	120	1,98	2,62

Смысл доверительного интервала состоит в следующем: он как бы „накрывает” истинное значение измеряемой величины, например, для доверительной вероятности 95% (или 0,95) истинное значение среднего в 95 случаях из ста попадает в вычисленный интервал и в 5 случаях не попадет. Оформление результата этого этапа статистической обработки может выглядеть:

$$(\bar{x} - I_\gamma; \bar{x} + I_\gamma) \text{ или } \bar{x} \pm I_\gamma. \quad (3.19)$$

Для вычисления 95%-ного доверительного интервала предлагалась также формула, не требующая определения $t_{\gamma, n-1}$ по критерию Стьюдента, т.е. не требующая табл. 3.5.

$$I_{95\%} = 2 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-3)}} \quad (3.20)$$

справедливая при $n > 4$.

Пример. Т.ferrooxidans окисляет Fe^{2+} на среде 9К (№2). Чтобы вычислить среднее для 10 измерений и его доверительного интервала необходимо построить табл. 3.6, где в первом столбце записывают значения активности окисления Fe^{2+} , во втором — отклонение от среднего значения, в третьем — квадраты отклонений. Второй столбец заполняется после вычисления \bar{x} по формуле (3.16), третий после заполнения второго. Одиннадцатая строка табл. 3.6 — суммы всех десяти величин в столбце.

Проводим вычисление \bar{x} по формуле (3.16):

$$\bar{x} = \frac{2312}{10} = 231,2 \left(\frac{\text{мг}}{\text{л} \cdot \text{ч}} \right)$$

среднеквадратичного отклонения по формуле (3.17):

$$S = \sqrt{\frac{5743,6}{9}} = 25,26 \left(\frac{\text{мг}}{\text{л} \cdot \text{ч}} \right).$$

Для уровня достоверности 0,95 в табл. 3.5 находим значение на пересечении 9-й строки и 95% столбца:

$$t_{95\%, 9} = 2,26$$

Итак, для доверительной вероятности $\gamma = 95\%$ -ный доверительный интервал (формула (3.18)) равен:

$$I_{95\%} = 2,26 \cdot \frac{25,26}{\sqrt{10}} = 18,19 \left(\frac{\text{мг}}{\text{л} \cdot \text{ч}} \right) \text{ и в}$$

95 случаях из 100 истинное значение средней активности окисления Fe^{2+} попадет в интервал (213,01; 249,39) или

$$\bar{x} = 231,2 \pm 18,19 \left(\frac{\text{мг}}{\text{л} \cdot \text{ч}} \right).$$

В том случае, если не применяют критерий Стьюдента, то доверительный интервал определяют по формуле (3.11):

$$I_{95\%} = 2 \sqrt{\frac{5743,6}{10 \cdot 7}} = 18,12 \left(\frac{\text{мг}}{\text{л} \cdot \text{ч}} \right),$$

что достаточно хорошо соответствует доверительному интервалу, полученному с помощью табл. 3.5.

Оценка числа опытов, необходимых для достижения заданной точности. Предположим, что по проведенным ранее предварительным экспериментам установили среднееквадратичное отклонение S и для заданной вероятности γ — доверительный интервал I_γ . Однако, полученный доверительный интервал не устраивает исследователя. Для расчета нового доверительного интервала I_p ставят n опытов, необходимое число которых определяют по формуле:

$$n = \left(\frac{t_{p, n-1} \cdot S}{I_p} \right)^2, \quad (3.20)$$

где $t_{p, n-1}$ берется из табл. 3.5 для нового уровня достоверности p в строке, соответствующей числу предварительных экспериментов без единицы: $(n-1)$.

Пример. Определить число опытов, необходимое для достижения точности:

$I_{95\%} = 30 \frac{\text{мг}}{\text{л} \cdot \text{ч}}$ при исследовании активности окисления Fe^{2+} или других субстратов.

По предварительным данным, рассмотренным в предыдущем примере, $S = 25,26$ для 10 определений; из табл. 3.5 $t_{95\%, 9} = 2,26$. Таким образом:

$$n = \left(\frac{2,26 \cdot 25,26}{30} \right)^2 = 3,61.$$

Таблица 3.6

Расчет среднего \bar{x} , среднееквадратичного отклонения S

Число измерений, N	Активность окисления Fe^{2+} (мг/л·ч)	Отклонение $x_i - \bar{x}$	Квадраты отклонений $(x_i - \bar{x})^2$
1	259	27,8	772,84
2	253	21,8	475,24
3	263	31,8	1011,24
4	251	19,8	392,04
5	239	7,8	60,84
6	228	-3,2	10,24
7	210	-21,2	449,44
8	214	-17,2	295,84
9	199	-32,2	1036,84
10	196	-35,2	1239,04
10 $\sum_{i=1}$	2312		5743,6

Поскольку число определений может быть только целым числом, округляем до ближайшего большего целого (обязательно большего).

Вывод: необходимо поставить опыт не менее, чем в четырех повторностях или провести не менее четырех последовательных измерений.

Исключение „выскакивающих значений“. Часто бывает необходимо проверить выборочную совокупность на присутствие так называемых „выскакивающих значений“. Они обычно являются следствием какой-то незамеченной экспериментаторами ошибки в проведении данного измерения. Существует несколько способов проверки. Один из них основан на оценке различия крайних значений данной выборочной совокупности, но требует большого количества таблиц [4]. Другой способ состоит в сравнении разности между „выскакивающим“ и средним значением выборки с некоторой критической величиной:

$$(x_{\text{„выскакивающее“}} - \bar{x}) \cdot V \cdot S \cdot f \quad (3.21)$$

(V — знак сравнения), где S — среднееквадратичное отклонение, полученное из выборки без „выскакивающего“ значения, а f — берется из табл. 3.7 в строке с номером, соответствующим числу результатов без „выскакивающего“ значения. Если разность оказывается больше, чем значение произведения $S \cdot f$, то „выскакивающее“ значение выбрасывается как ошибочное, если меньше — его следует включить в выборочную совокупность и заново провести вычисление \bar{x} , S , I_γ .

Таблица 3.7

Значения f для определения „выскакивающих“ значений

n	f	n	f	n	f
2	77,96	12	3,23	23	2,88
3	11,46	13	3,17	24	2,86
4	6,54	14	3,12	25	2,85
5	5,04	15	3,08	26	2,84
6	4,36	16	3,04	27	2,83
7	3,96	17	3,01	28	2,82
8	3,71	18	2,98	29	2,81
9	3,54	19	2,95	30	2,80
10	3,41	20	2,93	40	2,74
11	3,31	21	2,91	60	2,68
		22	2,90	120	2,63
				∞	2,58

Пример. Результаты измерения специфической активности некоторых сероокисляющих ферментов *T. ferrooxidans*, при окислении сульфидных минералов полученные в 5 повторностях:

0,7; 0,4; 2,1; 0,9; 0,6 (н моль $\text{S}^0/\text{мин} \cdot \text{мг}$ белка)

По результатам четырех измерений (исключая „подозрительное“ значение 2,1) находим:

$\bar{x} = 0,65$ н моль $\text{S}^0/\text{мин} \cdot \text{мг}$ белка, $S = 0,21$ н моль $\text{S}^0/\text{мин} \cdot \text{мг}$ белка. Разность $|x_{\text{выск}} - \bar{x}| = |2,1 - 0,65| = 1,45$.

Значение f , определенное из табл. 3.7 для четырех измерений: $f = 6,54$. Таким образом, произведение $S \cdot f = 0,21 \cdot 6,54 = 1,37$. Сравним: $1,45 > 1,37$.

Вывод: результат 2,1 следует исключить из рассмотрения как явно ошибочный.

Оценка существенного различия средних двух выборок. Для оценки достоверности различия двух групп экспериментальных результатов, проведенных независимо друг от друга экспериментов в отличающихся или сходных условиях, следует сравнить разность средних обеих выборок с критической величиной:

$$|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \leq t_{\gamma, n_1+n_2-2} \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_1} (x_i - \bar{x}_1)^2 + \sum_{i=1}^{n_2} (x_i - \bar{x}_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (3.22)$$

n_1 и n_2 — объемы I и II выборки соответственно;

t_{γ, n_1+n_2-2} — значение критерия Стьюдента для уровня достоверности γ ; а номер строки равен сумме объемов обеих выборок без двух единиц (табл. 3.5). Под вторым корнем в числителе стоит сумма квадратов отклонений первой и второй выборок.

В случае, если разность средних превосходит правую часть формулы (3.22), различие считается достоверным при уровне достоверности γ , в противном случае — недостоверным.

Пример. Имеются результаты активности окисления Fe^{2+} *T. ferrooxidans* на средах, содержащих ZnS и CuFeS_2 соответственно. Для проверки достоверности различия средних значений результатов определения активности окисления Fe^{2+} следует заполнить таблицу, аналогичную табл. 3.6 для обеих выборок. Для среды со сфалеритом получено (см. табл. 3.6): $n_1 = 10$,

$$\bar{x} = 231,2 \text{ мг/л} \cdot \text{ч}, \sum_{i=1}^{10} (x_i - \bar{x}_1)^2 = 5743,6.$$

Для среды с халькопиритом нами получено: $n_2 = 10$,

$$\bar{x}_2 = 231,3 \text{ мг/л} \cdot \text{ч}, \sum_{i=1}^{10} (x_i - \bar{x}_2)^2 = 8828,10.$$

Для уровня достоверности 95% в строке с номером 18 (табл. 3.6) находим:

$$t_{95\%, 18} = 2,1.$$

$$\text{Разность средних значений: } |231,2 - 231,3| = 0,1$$

Правая часть формулы (3.22):

$$2,1 \cdot \sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{10}} \cdot \sqrt{\frac{5743,6 + 8828,10}{18}} = 2,1 \cdot 0,45 \cdot 28,45 = 26,88.$$

Очевидно, что при сравнении $0,1 < 26,88$.

Вывод: нет различия активности окисления Fe^{2+} на средах с халькопиритом и сфалеритом.

При достаточно больших объемах выборок ($n > 20$) громоздкую формулу (3.22) можно упростить:

$$|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \leq \sqrt{(t_{\gamma})^2 + (t_{\gamma})^2} \quad (3.23)$$

В правой части стоит корень квадратный из суммы квадратов доверительных интервалов обеих выборок.

Коэффициент корреляции. Коэффициент корреляции $r_{x,y}$ измеряет степень и определяет направление зависимости между двумя случайными величинами X и Y . Для его вычисления используется формула:

$$r_{x,y} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{S_x S_y (n-1)} \quad (3.24)$$

где S_x и S_y — среднеквадратичные отклонения для случайных величин X и Y соответственно.

Следует отметить, что положительное значение вычисленного коэффициента корреляции ($r_{x,y} > 0$) указывает на положительную связь: увеличение значений случайной величины X вызывает увеличение значений Y . Отрицательная связь ($r_{x,y} < 0$) означает, что увеличение значений X вызывает уменьшение значений Y . Кроме того, принято считать, что, если найденные значения коэффициента корреляции находятся в области:

$$0 \leq |r_{xy}| < 0,3 \quad \text{— связь слабая;}$$

$$0,3 \leq |r_{xy}| < 0,7 \quad \text{— связь умеренная;}$$

$$0,7 \leq |r_{xy}| \leq 1 \quad \text{— связь сильная.}$$

Коэффициент корреляции используют в уравнениях регрессии для возможных прогнозов о значении одной случайной величины на основе известных значений другой:

$$\begin{aligned} y - \bar{y} &= r_{xy} \frac{S_y}{S_x} (x - \bar{x}) \\ x - \bar{x} &= r_{xy} \frac{S_x}{S_y} (y - \bar{y}) \end{aligned} \quad (3.25)$$

Пример. Установим наличие и характер связи между окислением железа и серы различными штаммами *T. ferrooxidans* на среде с халькопиритом [13]. Экспериментальные данные и результаты промежуточных вычислений записываются в табл. 3.8. Затем вычисляем:

$$S_x = \sqrt{\frac{8828,1}{9}} = 31,32 \quad S_y = \sqrt{\frac{7,66}{9}} = 0,92 \text{ по формуле (3.24):}$$

$$r_{xy} = \frac{231,89}{31,32 \cdot 0,92 \cdot 9} = 0,88.$$

Вывод: полученный результат свидетельствует о том, что между окислением железа и серы *T. ferrooxidans* на среде с халькопиритом существует сильная положительная связь.

Метод наименьших квадратов. Исследование кинетических закономерностей микробиологических процессов, установление характера зависимостей удельных скоростей роста и потребления субстрата от изменения внешних условий, определение экономических коэффициентов и коэффициентов поддержания жизни требуют определения тангенсов угла наклона прямых и отрезков, отсекаемых некоторыми прямыми на соответствующих осях. С точки зрения теории регрессии это означает, что нужно определять коэффициенты *a* и *b* в уравнении прямой линии (уравнение регрессии):

$$y = ax + b, \quad (3.26)$$

где *y* — случайная величина, линейно зависящая от второй случайной величины *x*.

Один из способов состоит в предварительном определении коэффициента корреляции и использовании уравнений регрессии (3.25). Для примера, рассмотренного выше:

$$y - 3 = 0,88 \frac{0,92}{31,32} \cdot (x - 31,3).$$

Таким образом:

$$y = 0,026x + 2,2; a = 0,026; b = 2,2.$$

Другой возможный подход заключается в использовании метода наименьших квадратов. Сущность его заключается в том, что минимизируется сумма квадратов отклонений экспериментальных точек от искомой теоретической прямой. Расчетные формулы метода наименьших квадратов:

$$\begin{cases} bn + a \sum_{i=1}^n x_i = \sum_{i=1}^n y_i \\ b \sum_{i=1}^n x_i + a \sum_{i=1}^n x_i^2 = \sum_{i=1}^n x_i y_i. \end{cases} \quad (3.27)$$

Линейная система уравнений (3.25) имеет единственное решение, которое находим после определения четырех величин из экспериментальных данных:

$$\sum_{i=1}^n x_i; \sum_{i=1}^n y_i; \sum_{i=1}^n x_i^2; \sum_{i=1}^n x_i y_i.$$

Так как метод наименьших квадратов требует меньше предварительных вычислений, то благодаря этому он чаще, чем уравнения регрессии типа (3.25) используется в микробиологической практике.

Таблица 3.8

Расчет коэффициента корреляции r_{xy}

Номер группы	Активность окисления $Fe^{2+}(X)$, мг/л·ч	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	Активность окисления $SO(Y)$, мг/л·ч	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$
1	266	34,7	1204,09	4,39	1,39	1,93	48,233
2	275	43,7	1909,69	4,12	1,12	1,25	48,944
3	257	25,7	660,49	3,54	0,54	0,29	13,878
4	251	19,7	388,09	3,25	0,25	0,06	4,925
5	220	-11,3	127,69	3,19	0,19	0,03	-2,147
6	243	11,7	136,89	3,05	0,05	0,00	0,585
7	200	-31,3	979,69	2,73	-0,27	0,07	8,451
8	214	-17,3	299,29	2,44	-0,56	0,32	9,688
9	182	-49,3	2430,49	1,78	-1,22	1,49	60,146
10	205	-26,3	691,69	1,51	-1,49	2,22	39,187
$\sum_{i=1}^n$	2313		8828,10	30		7,66	231,89

Пример. В работе [13] приведены данные по росту и потреблению субстрата *T. ferrooxidans* в непрерывной культуре:

Удельная скорость роста (скорость разбавления)	μ [1/ч]	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,09	0,1
Потребление субстрата	$q \left[\frac{\Gamma \cdot a \cdot Fe^{2+}}{\Gamma \cdot C \cdot \mu} \right]$	0,33	0,407	0,63	0,9	1,126	1,205	1,36

Уравнение Перта [28]:

$q = \frac{\mu}{Y_{\max}} + m$ при замене $\mu = x$, $q = y$ преобразуется к виду

$$y = ax + b, \text{ где } a = \frac{1}{Y_{\max}}; b = m. \quad (3.28)$$

Для расчета по методу наименьших квадратов необходимо заполнить табл. 3.9, где строка каждого столбца есть суммы всех элементов в столбце. Подставляя эти суммы в систему уравнений (3.27), будем иметь:

$$b \cdot 7 + a \cdot 0,4 = 5,958$$

$$b \cdot 0,4 + a \cdot 3,02 \cdot 10^{-2} = 0,4251.$$

Таблица 3.9

Расчеты по методу наименьших квадратов

№	$x_i = [1/\mu]$	$y_i = q_i \left[\frac{\Gamma \cdot a \cdot Fe^{2+}}{\Gamma \cdot C \cdot \mu} \right]$	$x_i y_i$	x_i^2
1	0,01	0,33	0,0033	$0,01 \cdot 10^{-2}$
2	0,02	0,407	0,0081	$0,04 \cdot 10^{-2}$
3	0,04	0,63	0,0252	$0,16 \cdot 10^{-2}$
4	0,06	0,9	0,0540	$0,36 \cdot 10^{-2}$
5	0,08	1,126	0,0901	$0,64 \cdot 10^{-2}$
6	0,09	1,205	0,1084	$0,81 \cdot 10^{-2}$
7	0,1	1,36	0,1360	$1 \cdot 10^{-2}$
$\sum_{i=1}^7$	0,4	5,958	0,4251	$3,02 \cdot 10^{-2}$

Решив ее, получим: $a = 11,85$, $b = 0,198$
Итак,

$$Y_{\max} = \frac{1}{a} = 0,0844 \left[\frac{\Gamma \cdot C}{\Gamma \cdot a \cdot Fe^{2+}} \right]. \quad (3.29)$$

$$m = b = 0,198 \frac{\Gamma \cdot a \cdot Fe^{2+}}{\Gamma \cdot C \cdot \mu} \quad (3.28)$$

Очевидно, что проведение статистической обработки полученных данных требует большого числа вычислительных операций. В настоящее время, при современном развитии вычислительной техники, их следует проводить на ЭВМ, для которых разработаны стандартные программы статистической обработки, включающие в себя рассмотренные выше этапы. Отметим, что часто в микробиологии статистическая обработка дает достоверные результаты при значительном объеме выборки. Поэтому для сокращения количества анализов или повторностей опытов рекомендуется использовать метод математического моделирования экспериментов.

3.5. ИССЛЕДОВАНИЕ И ОПТИМИЗАЦИЯ БИОГЕОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МЕТОДОМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

В настоящее время предложено множество математических моделей физических, химических и микробиологических процессов, представляющих интерес для биотехнологии [19, 35, 55, 61, 62, 67, 68].

В решении задач увеличения выхода конечной продукции, оптимизации производственных процессов наиболее часто применяются формальные модели типа „черного ящика”, в которых интересующая исследователя оптимизируемая величина (например, общий объем получаемой продукции, скорость ее выхода, потребление определенных субстратов и т.д.) записывается в виде функции переменных процесса, коэффициенты которой не имеют реального физического смысла. Такие модели позволяют разобраться в том, как действуют на целевую функцию те или иные переменные процесса (например, размер частиц, концентрация клеток бактерий, pH и т.д.), позволяют оптимизировать процесс, но не дают ответа на вопрос, почему это действие именно таково. Структуру формальных моделей составляют без учета механизма протекающих процессов и способов его осуществления (например, кучное, подземное, чановое выщелачивание).

Достоинством формальных моделей является их простота, недостатком — невозможность применения в условиях, отличных от проведения предварительных экспериментов.

Для использования моделей другого типа — механистических, построение и исследование которых базируется на целенаправленных экспериментах, необходимо наличие у исследователя предварительной, четко сформулированной гипотезы о характере взаимодействия выбранных переменных процесса, кинетике и стехиометрии протекания соответствующих реакций.

Достоинства и преимущества таких моделей несомненны. В процессе построения модели уточняются и углубляются наши знания об изучаемом процессе. Кроме того, на основе модели можно оптимизировать и прогнозировать исследуемый процесс не по одной, как для формальных моделей, а по многим целевым функциям (например, по скорости разбавления, скорости использования субстрата и т.д.). Модель может также прогнозировать другие режимы ведения процесса (например, переход от периодического к непрерывному выщелачиванию металлов и т.д.) Вместе с тем, существуют объективные и субъективные трудности преимущественного внедрения этих методов в повседневную биологическую практику.

Как отмечалось выше, для начала работы с механистической моделью следует иметь некоторый экспериментальный и теоретический материал, позволяющий сформулировать предварительную гипотезу о характере и условиях процесса. Кроме того, в отличие от многих рассмотренных ранее методов математической обработки результатов, которыми может овладеть микробиолог-экспериментатор, применение метода математического моделирования предполагает необходимость совместной работы с математиком. Формализация предварительных, высказанных микробиологом гипотез о протекании процесса, представление их в виде математических уравнений (чаще всего дифференцированных, нелинейных), анализ модели, поиск констант модели на ЭВМ, решение ее на ЭВМ — все эти этапы требуют специальной математической подготовки.

Совместная работа микробиолога и математика предполагает наличие у них „общего языка”, т.е. определенной суммы знаний о методах действия коллеги.

Формальные модели выщелачивания. Наиболее простой способ построения формальной модели состоит в том, что экспериментальная кривая выщелачивания металлов, полученная при изменении некоторой переменной (времени, концентрации реагента, бактерий) описывается функциональной зависимостью от этой переменной. Этот метод был применен прежде всего к описанию процесса химического выщелачивания меди и урана из низкосортной руды [77]:

$$m(t) = 1 - e^{-k(t+c)} \quad (3.31)$$

где $m(t)$ — количество извлеченного металла;

t — время;

k, c — константы, определенные для конкретного процесса кучного выщелачивания.

Модель описывает экспериментальную кривую с насыщением, но при любом изменении внешних условий — геометрии кучи, концентрации кислоты, размера частиц руды — значения „ k ” и „ c ” должны меняться, а уравнение (3.31) — терять возможность предсказывать течение процесса.

Аналогичный подход применен для описания удельной скорости химического выщелачивания от основных параметров процесса [35]:

$$\frac{1}{m} \frac{dm}{dt} = k(T, \Gamma) S^h \quad (3.32)$$

где $k(T, \Gamma)$ — кинетический коэффициент, значение которого определяется температурой и гидродинамикой среды;

S — концентрация реагента;

h — эмпирический показатель степени.

Степенной зависимостью вида:

$$\frac{dm}{dt} = \begin{cases} A_1 m^n + A_2; & m > m_{\text{крит.}} \\ A_3 m^n; & m < m_{\text{крит.}} \end{cases} \quad (3.33)$$

где: A_1, A_2, A_3 и $m_{\text{крит.}}$ — эмпирические коэффициенты, описывали гидрометаллургические процессы. Применение модели позволило производить расчет оптимальных технологических схем переработки медно-цинкового концентрата чановым способом.

Широкое применение в практике получили формальные модели регрессионного типа. Для них математическую модель записывают в виде уравнения регрессии (или степенного ряда):

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i x_i + \sum_{i,j=1}^n a_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^n b_i x_i^2 + \dots \quad (3.34)$$

где Y — исследуемая функция (иногда ее называют поверхностью отклика) a ,

x_i, x_j — переменные величины (факторы), влияющие на значение Y .

Часто ограничиваются линейной:

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i x_i \quad (3.35)$$

или квадратичной зависимостью:

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i x_i + \sum_{i,j=1}^n a_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^n b_i x_i^2 \quad (3.36)$$

Существуют различные способы оценки коэффициентов регрессии в уравнениях (3.34), (3.35), (3.36). Некоторые из них (для линейной регрессии) приведены выше (определение коэффициента корреляции, метод наименьших квадратов). В более сложных случаях существуют методы построения планов многофакторных экспериментов, на основе которых проводят вычисление значений коэффициентов a_{ij} и оценку их значимости [46]. Эти методы позволяют после определения коэффициентов изменять уровень факторов для движения по поверхности отклика к оптимальному значению Y . Они могут быть с успехом использованы и в случае оптимизации многофакторных процессов выщелачивания металлов из руд и концентратов.

В работе [18] методы математического планирования эксперимента были применены для выяснения оптимальных условий бактериального выщелачивания цветных металлов из руд. При составлении уравнения линейной регрессии варьировали 4 фактора: x_1 — рН, x_2 — KH_2PO_4 (мг/л), x_3 — концентрация клеток *T. ferrooxidans* в 1 мл, x_4 — концентрация Fe^{2+}

(мг/л). Параметром оптимизации Y служила скорость окисления Fe^{2+} .
Полученное уравнение

$$Y = 172 + 7,25 x_1 - 1,75 x_2 + 15,25 x_3 + 9,25 x_4 \quad (3.37)$$

позволило поставить новые серии опытов для движения по поверхности отклика к оптимуму Y . В результате скорость окисления Fe^{2+} была увеличена в 2,5 раза по сравнению со скоростью окисления на среде Летена.

В [18] приведены примеры применения уравнений линейной регрессии для оптимизации технологических условий ведения процесса выщелачивания по трем факторам — x_1, x_2, x_3 , что позволило увеличить скорость извлечения меди в раствор в 2 раза, цинка — в 1,5 раза.

Сингх и Торма [76] применили подобный метод для анализа данных по выщелачиванию урана из руд. В качестве Y была выбрана скорость экстракции урана в течение 30 мин, а факторами, влияющими на эту скорость выбрана концентрация $HCl(x_1)$, $NaClO_3(x_2)$, температура (x_3), плотность пульпы (x_4) и скорость перемешивания (x_5). По результатам 29 экспериментов было получено уравнение квадратичной регрессии:

$$10^6 Y = -43 + 20,9x_1 - 24,6x_1^2 - 637,5x_2 + 2,35 \cdot 10^5 x_2^2 + 0,2x_3 - 0,003x_3^2 + 0,1x_4 - 0,001x_4^2 - 221,5x_1x_2 - 0,1x_1x_3 + 1,3x_2x_3 + 0,1x_2x_5 + 0,0003x_3x_5, \quad (3.38)$$

которое в исследуемой области значений переменных позволяло предсказывать скорости выщелачивания.

Методика построения моделей механистического типа. В схематическом виде процесс построения адекватной механистической модели можно представить как показано на рис. 3.27. Прежде чем переходить к моделированию, исследователи (микробиолог и математик) должны определенным образом сформулировать некоторые представления об объекте исследования. На основании предыдущих экспериментов, проведенных с *T. ferrooxidans*, а также литературных данных составляется словесное описание характера протекания процесса окисления Fe^{2+} , т.е. его словесная (вербальная) физиолого-биохимическая модель. Одновременно происходит выбор переменных моделей.

Поясним составление физиолого-биохимической модели на примере процесса окисления закисного железа [68]. Такой моделью послужили следующие предположения:

1. Рост *T. ferrooxidans* контролируется одним „узким местом”, которым является реакция окисления закисного железа.
2. Лимитирующим субстратом реакции „узкого места” служит Fe^{2+} .
3. Кинетика „узкого места” (зависимость удельной скорости реакции от концентрации лимитирующего субстрата) подобна кинетике Моно.
4. Экономический коэффициент прироста вещества на единицу потребленного субстрата остается постоянным.
5. Переменными процесса выбраны концентрация Fe^{2+} и биомасса.

Более сложные физиолого-биохимические модели, естественно, содержат большее число предположений и допущений. Так, например, физиолого-биохимическая модель выщелачивания халькопирита в явном и неяв-

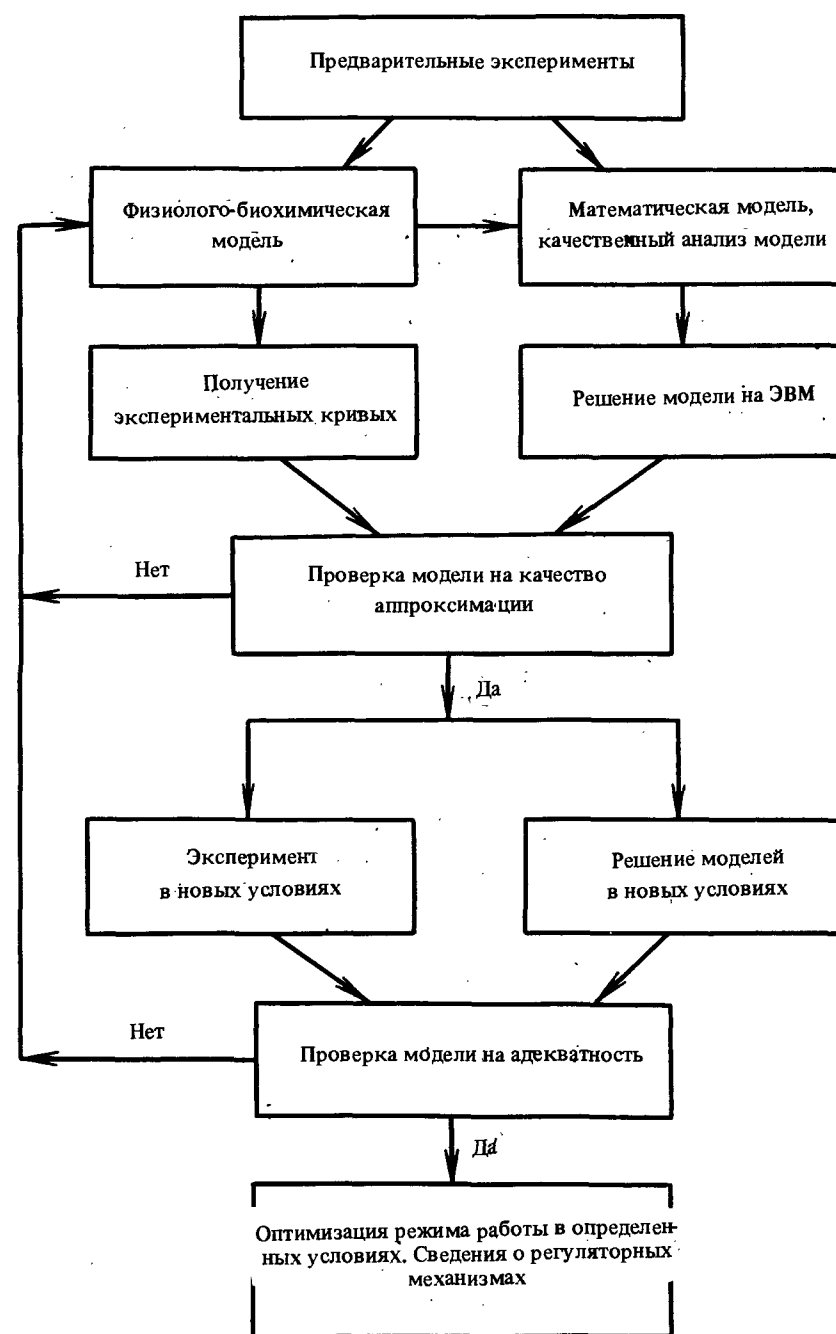


Рис. 3.27. Принципиальная блок-схема исследования процессов методом математического моделирования

ном виде содержит предположения о стехиометрии реакций химического и бактериального окисления, о прямом и косвенном действии *T. ferrooxidans*, о реакции восстановления железа, кинетике протекания всех указанных стадий процесса и т.д. [65].

На этапе составления физиолого-биохимической модели решающая роль принадлежит микробиологу, его знаниям предмета исследования, интуиции, позволяющей правильно определить „узкие места” процесса. При этом часто возникает ситуация, когда кинетика взаимодействия некоторых переменных не может быть выяснена в принципе или для ее определения требуются большие затраты средств и времени. В этом случае в модель вводят какое-то кажущееся наиболее вероятным предположение о кинетике этой стадии, а исследование на следующих этапах позволит проверить или опровергнуть его.

Отличие вербальной от математической модели можно пояснить на следующем примере. Утверждение: „Удельная скорость роста *T. ferrooxidans* увеличивается при увеличении концентрации Fe^{2+} до максимального значения” является простейшей вербальной моделью, а формализация этого утверждения в виде уравнения:

$$\mu = \frac{\mu_m Fe^{2+}}{K_s + Fe^{2+}} \quad (3.39)$$

дает возможность после определения численного значения констант μ_m и K_s предсказывать точные количественные значения удельных скоростей роста при заданных значениях концентрации закисного железа.

Математическая модель процесса составляется по физиолого-биохимической модели математиком с учетом выбора переменных модели и баланса масс в системе. Необходимо провести также качественный анализ математической модели: установить устойчивость возможных стационарных состояний, области допустимых и бифуркационных значений параметров, исследовать фазовые портреты системы. Такое исследование дает возможность определить области внешних условий для постановки экспериментов при проверке модели на качество аппроксимации и адекватность, указать направление дальнейшей экспериментальной работы.

В независимых экспериментах или из литературных данных получают предварительные значения некоторых параметров и коэффициентов модели.

Микробиолог в рамках физиологической модели (например, при постоянной температуре, перемешивании, давлении и т.д.) проводит эксперимент, получая во времени изменения переменных модели. Математик решает полученную систему дифференциальных уравнений математической модели процесса на ЭВМ. Решения модели и экспериментальные кривые (накопления биомассы, продукта, потребления субстрата) сравнивают между собой для разных значений параметров модели — проводится проверка модели на качество аппроксимации.

Система дифференциальных уравнений детерминистических моделей объекта часто может быть представлена в общем виде:

$$\frac{dy_i}{dt} = f_i(y_1, y_2, \dots, y_n; x_1, x_2, \dots, x_m; a_{i1}, a_{i2}, \dots, a_{ik}) \quad (3.40)$$

$$i = 1, 2, \dots, n,$$

где $\{x_1, \dots, x_m\} = \vec{x}$, $\{y_1, \dots, y_n\} = \vec{y}$, $y_i(0) = y_{i0}$ — входные, выходные и начальные координаты объекта, соответственно;

$\{a_{i1}, \dots, a_{ik}\} = \vec{a}_i$ — параметры уравнений.

Соответствие расчетных и экспериментальных (обозначено „э”) данных можно оценить, например, значением функции вида:

$$\Phi = \sum_{i=1}^n \sum_{\lambda=1}^d \sum_{j=1}^l (y_{i\lambda j} - y_{i\lambda j}^{\text{э}})^2, \quad (3.41)$$

где n — количество уравнений;

d — количество серий опытов;

l — количество точек, при $\vec{x}(t_j) = \vec{x}^*(t_j)$; $y_i(0) = y_{i0}^*(0)$, $0 \leq t \leq T_k$

Идентификация неизвестных параметров математической модели сводится к задаче нахождения минимума функции Φ по k переменным \vec{a} . Эта задача может быть решена только математиком-программистом, владеющим специальными методами определения констант на ЭВМ, методами, представляющими самостоятельную, достаточно сложную область исследования.

В ходе проверки на качество аппроксимации возможны 2 случая (рис. 3.27): а) „нет” — ни при каких значениях параметров не удается приблизиться к экспериментальным кривым; б) „да” — значение критерия Φ удовлетворительно, т.е. математическая модель удовлетворительно описывает процесс в данной области внешних условий.

Случай а) означает, что какое-то предположение в физиолого-биохимической модели оказалось несправедливым. Следует пересмотреть модель, составить новую и повторить весь процесс проверки на адекватность до получения положительного ответа. В ходе этого исследования мы можем получить отвечающие действительности кинетические характеристики отдельных участков процесса без непосредственных экспериментов в этой области. К сожалению, большинство публикуемых моделей по выщелачиванию металлов не содержит информации о такой циклической работе над моделью. Обычно авторы указывают на несоответствия части экспериментальной кривой, высказывают предположения о том, как эти несоответствия могут быть преодолены, но второго цикла — исправленной и дополненной модели не приводят.

Допустим, что после нескольких циклов адекватная математическая модель получена. В этом случае ее можно использовать в целях оптимизации исследуемого процесса, переносить в условия непрерывного культивирования, исследовать с ее помощью влияние на объект изменения внешних условий.

Отметим, что в новых условиях ведения процесса может измениться структура взаимодействия отдельных факторов, например, появляется дефицит O_2 , избыток ионов металлов, т.е. в модели могут измениться не

только численные значения параметров, но в какой-то степени и сама модель. Затем повторяется сравнение теоретических и экспериментальных данных для новых условий.

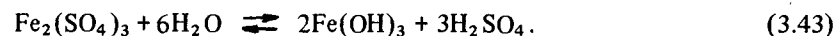
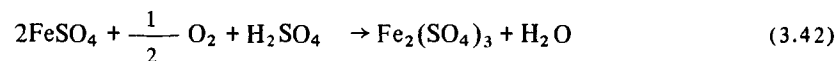
Результатом использования метода математического моделирования являются полученные во время составления адекватной математической модели знания о регуляторных механизмах и кинетических характеристиках процесса, а также сама модель, которая может быть использована в целях оптимизации производственных процессов различных типов (периодический, непрерывный, полупериодический, отъемно-доливной и т.п.).

Пример применения метода математического моделирования для исследования процесса окисления Fe^{2+} и получения Fe^{3+}

Образование окисного железа при окислении Fe^{2+} *T. ferrooxidans* является важнейшей частью большинства биогидрометаллургических процессов и в то же самое время является благодарным материалом для моделирования ввиду относительной простоты ведения процесса (отсутствие многофазной среды, лимитирование скорости процесса концентрацией единственного субстрата — источника энергии, наличие установленных стехиометрических соотношений протекания реакций и т.д.).

В табл. 3.10 кратко представлены результаты исследования процесса окисления Fe^{2+} в Fe^{3+} *T. ferrooxidans*, полученные по принципам, изложенным выше.

Отталкиваясь от известной модели Моно, область применимости которой к описанию процесса окисления Fe^{2+} оказалась крайне узкой [68], нами были последовательно построены несколько моделей, адекватных во все расширяющейся области внешних условий по температуре, кислотности среды, начальных условий по концентрации субстрата [7, 8, 29–33]. Во всех модификациях модели осталась неизменной основная продуктивная гипотеза — о возможности последовательной смены „узких мест” [72], которые предполагали в реакциях окисления Fe^{2+} и гидролиза $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (табл. 3.10, модель II).



Желание расширить область применимости полученной модели в более высокие и более низкие, по сравнению с исходными, концентрации субстрата, а также по температуре, привело к необходимости в этих условиях учитывать обратимость реакции гидролиза. Мы допустили возможность того, что при некоторых условиях часть окисленного железа, полученного в вышеприведенной реакции, выпадает в осадок, в то время как в других условиях все окисное железо находится в растворимой форме (табл. 3.10, модель IIa):

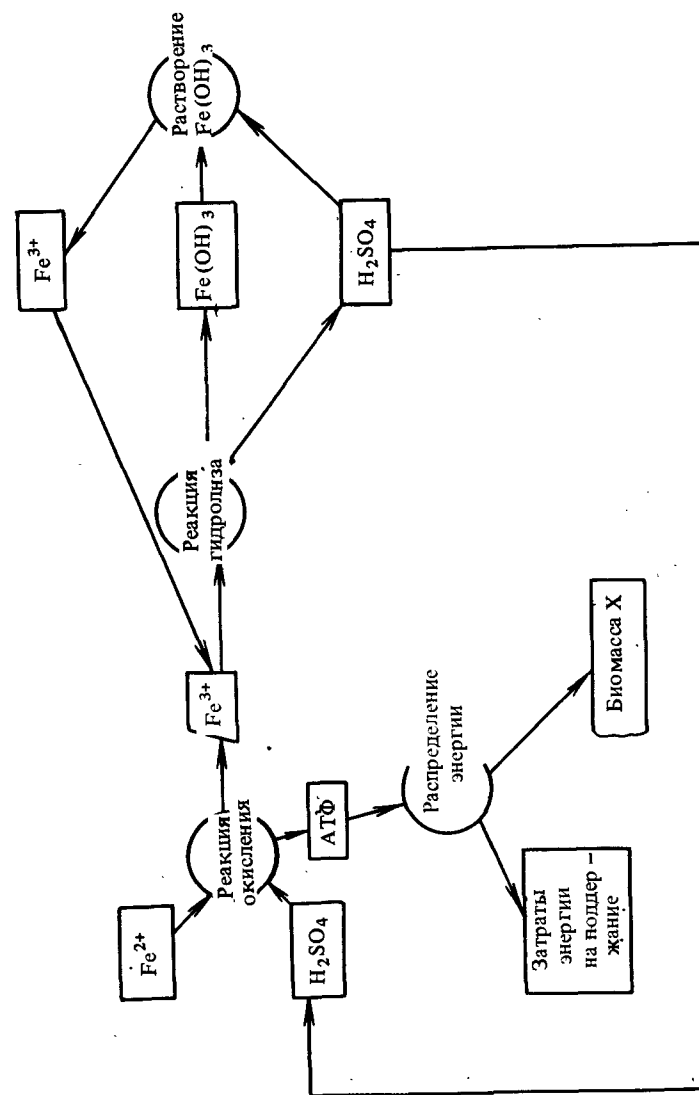


Рис. 3.28. Блок-схема роста *T. ferrooxidans* и окиснения железа (соответствует модели IIб, табл. 3.11)

Модель IIa, помимо уточнения поведения кинетических характеристик реакций окисления Fe^{2+} и гидролиза $Fe_2(SO_4)_3$ при изменении температуры, обратила внимание экспериментаторов на важную регуляторную функцию реакции гидролиза: небольшие отклонения в соотношении скоростей гидролиза $Fe_2(SO_4)_3$ и растворения $Fe(OH)_3$ приводят к значительным изменениям в скорости протекания всего процесса регенерации в целом. Тем самым указано направление дальнейшей экспериментальной работы по уточнению механизма процесса.

Попытка описать не только окисление железа, но и рост биомассы *T. ferrooxidans* привела к необходимости учета затрат части энергии, полученной в результате реакции окисления на поддержание жизнедеятельности (рис. 3.28, табл. 3.10, модель IIб).

Отметим, что каждая последующая модификация модели естественным образом включает в себя предыдущую. Например, в области внешних условий, для которых разработана модель II, выполняется равенство Fe^{3+} раств. = Fe^{3+} , поскольку все железо, полученное в реакции окисления, находится в растворенном состоянии, и модель IIa переходит в модель II. При практическом использовании модели для оптимизации производственных режимов это означает, что, если существует возможность попадания в области внешних условий модели IIa, можно пользоваться ее уравнениями. Если же такие условия исключены, лучше пользоваться уравнениями модели II как более простыми. Модель IIб целесообразно использовать, если биомасса *T. ferrooxidans* входит как одна из необходимых переменных процесса культивирования, например, в процессах с оборотом биомассы.

Помимо моделей, описанных в табл. 3.10, некоторые этапы циклической работы над моделью, не приведенные в этой таблице, дали отрицательные результаты. Однако, они также углубляют наши знания о механизме процесса. Например, исследование моделей, в которые была включена гипотеза о возможном ингибирующем влиянии окисного железа, отвергло эту гипотезу для моделей II и IIa, но в модели IIб такое предположение оказывается целесообразным.

Итак, использование методики математического моделирования, совместная работа микробиологов и математиков при исследовании процесса биорегенерации железа позволили получить следующие результаты:

1) подтверждены гипотезы о регуляторных механизмах процесса: существование двух контролирующих процесс реакций, зависимости их скорости от концентраций субстратов реакций, кислотности сред и температуры (без учета адаптации бактерий);

2) указано направление дальнейшей экспериментальной работы в исследовании механизма регуляции этого процесса – влияние обратимости реакции гидролиза;

3) установлены кинетические характеристики реакций окисления и гидролиза и их зависимости от температуры;

4) указаны границы кислотности среды, в которых процесс окисления Fe^{2+} может проходить с наибольшей скоростью, и зависимость этих границ от температуры;

5) полученная модель может быть использована для оптимизации и

Таблица 3.10
Исследование процесса окисления закислого железа *T. ferrooxidans* методом математического моделирования

Краткое описание модели	Ссылка	Математическая модель	Область адекватности модели	Применимость для управления и оптимизации технологических процессов	Сведения о регуляторных механизмах
Одно „узкое место“ – реакция окисления с кинетикой Моно (модель I)	[68]	$\frac{dx}{dt} = \frac{\mu_m Fe^{2+}}{K_s + Fe^{2+}} \cdot X$ $\frac{dFe^{2+}}{dt} = \frac{\mu_m Fe^{2+}}{K_s + Fe^{2+}} \cdot X$	Описывает лишь участок кривой характеризующий экспоненциальную фазу роста $x(t)$ и $Fe^{2+}(t)$ при $20^\circ C \leq T \leq 31^\circ C$	Для исследования T и Fe^{2+} указаны зоны pH, оптимальные для протекания обеих реакций, что значительно ускоряет процесс при низких температурах. Возможна оптимизация непрерывного режима	Скорость реакции окисления соответствует кинетике Моно лишь в узкой области концентраций субстрата и температуры
Два „узких места“ – реакция окисления и гидролиза. Пропорциональность образования биомассы и Fe^{3+} . Отсутствие затрат на поддержание (модель II)	[7, 31, 33, 72]	$\frac{dFe^{2+}}{dt} = -\mu_1(Fe^{2+}, pH, T) \cdot Fe^{3+}$ $\frac{dFe^{3+}}{dt} = \left[\frac{1}{y_1} \mu_1(\dots) - \mu_2 \cdot \mu(Fe^{3+}, pH, T) \right] \cdot Fe^{3+}$ $\frac{d\mu}{dt} = - \left[\frac{1}{y_2} \mu_1(\dots) + \frac{1}{y_3} \mu_2(\dots) \right] \cdot Fe^{3+}$	Полностью описывает кривые $Fe^{3+}(t)$, $Fe^{2+}(t)$, pH(t) для $T = 28^\circ, 12^\circ C$ при начальных концентрациях $Fe^{2+} \sim 5$ г/л	Для исследования T и Fe^{2+} указаны зоны pH, оптимальные для протекания обеих реакций, что значительно ускоряет процесс при низких температурах. Возможна оптимизация непрерывного режима	Получены кинетические зависимости скоростей реакций окисления и гидролиза от Fe^{3+} , Fe^{2+} , pH. Исследовано влияние на них изменения температуры
К условиям модели II добавляется незначительный учет об-	[8, 29]	$\frac{dFe^{2+}}{dt} = -\mu_1(Fe^{2+}, pH, T) \cdot Fe^{3+}$	Полностью описывает кривые $Fe^{3+}(t)$, $Fe^{2+}(t)$	Для всех практических допустимых температур и на-	Получены кинетические зависимости $\mu_m(T)$, $K_s(T)$, оце-

Краткое описание модели	Ссылка	Математическая модель	Область адекватности модели	Применимость для управления и оптимизации технологических процессов	Сведения о регуляторных механизмах
ратимости реакций гидролиза (модель IIa)		$\frac{dFe^{3+}_{\text{раств.}}}{dt} = \left[\frac{1}{Y_1} \mu_1(\dots) \cdot Fe^{3+} - \mu_2(Fe^{3+}, pH, T) \right] \cdot Fe^{3+}_{\text{раств.}}$ $\frac{dpH}{dt} = - \left[\frac{1}{Y_2} \mu_1(\dots) \cdot Fe^{3+} + \frac{1}{Y_3} \mu_2(\dots) \cdot Fe^{3+}_{\text{раств.}} \right]$ $Fe^{3+} = Fe^{2+}_0 + Fe^{3+}_0 - Fe^{2+}$	$Fe^{2+}(t), pH(t)$ для различных температур и начальных концентраций	чальных концентраций субстрата указывают оптимальные зоны pH. Возможно оптимизация непрерывного режима культивирования	нено влияние обратимости реакции гидролиза в зависимости от иммитирующего субстрата
К условиям модели IIa добавляется учет затрат части энергии на поддержание жизнедеятельности	[30]	$\frac{dFe^{2+}}{dt} = - \left(\frac{\mu_1(\dots)}{Y_{\text{max}}} + m \right) \cdot x$ $\frac{dFe^{3+}_{\text{раств.}}}{dt} = \frac{1}{Y_1} \mu_1(\dots) \cdot x - \mu_2(\dots) \cdot Fe^{3+}_{\text{раств.}}$ $\frac{dpH}{dt} = - \left[\frac{1}{Y_3} \mu_1(\dots) \cdot x - \frac{1}{Y_4} \mu_2(\dots) \cdot Fe^{3+}_{\text{раств.}} \right]$ $\frac{dx}{dt} = \mu_1(\dots) \cdot x$	С большей точностью описывает кривые $Fe^{3+}(t), Fe^{2+}(t), pH(t)$, а также $x(t)$ — биомассу	Возможна оптимизация непрерывного культивирования по биомассе; многостадийных процессов с рециркуляцией	Определена величина энергии поддержания влияния на нее условий ведения процесса. Определен максимальный экономический коэффициент

Таблица 3.11

Исследование непрерывного процесса бактериального выщелачивания концентратов методом математического моделирования

Краткое описание модели	Ссылка	Математическая модель	Область адекватности модели	Применимость для контроля и оптимизации процесса	Сведения о регуляторных механизмах
К условиям модели [60] добавляется учет возможности роста клеток, иммобилизованных на твердой фазе. Скорость роста постоянна	[63]	$\bar{x} = \frac{K}{a(D/\mu_m - 1) + \frac{\mu_m}{D} \cdot S}$ <p> K — отношение скоростей адсорбции и десорбции; S — „площадь доступной поверхности“ концентрата; a — часть площади поверхности, занятая бактериями </p>	Субстрат — мелкодисперсный концентрат шликка $0,0171 \leq D \leq 0,1038$ $[ч^{-1}]$ $2,0 \leq pH \leq 2,5$ $T \geq 36^\circ C$ Концентрация бактерий не лимитирует скорость выщелачивания	Возможна оптимизация и управление по переменным, входящим в модель	Определены значения многих физиологических констант роста
К условиям модели [63] добавляется возможность роста клеток в жидкой среде. Кинетика этого роста подобна кинетике Моно	[58]	$\bar{x}_s = \frac{kx_b}{a(1 + kx_b)}$ <p> x_b — концентрация бактерий в растворе; \bar{x}_s — концентрация бактерий, адсорбированных на твердой фазе </p>	Субстрат — мелкодисперсный шпирит. $0,012 \leq D \leq 0,22$ [ч ⁻¹] $pH = 2,8$ $T = 28^\circ C$	Возможны оптимизация и управление в более широкой области внешних условий	Определена скорость бактериального выщелачивания в зависимости от изменения внешних условий. Подтверждена типичность значения адсорбции клеток

управления процессами регенерации многих типов по различным параметрам управления.

Моделирование процессов выщелачивания с участием *T. ferrooxidans*. Процессы выщелачивания металлов из руд и концентратов с участием микроорганизмов — самые сложные по своей структуре из всех процессов, рассмотренных ранее. Соответственно этому возрастают и трудности построения и исследования механистических моделей. Поэтому, видимо, пока предпринимались лишь отдельные попытки соединить теоретические представления о микробиологическом и химическом выщелачивании металлов из концентратов с учетом физических закономерностей протекания периодических процессов.

Мочев [26] предложил модель бактериального выщелачивания руды, основанную на предположениях о том, что развитие популяции из одной бактерии является разветвленным марковским процессом, эффективный диаметр частиц горной массы имеет непрерывное распределение от 0 до некоторого максимального значения. Введение эмпирической зависимости извлечения компонента от времени выщелачивания и учет законов диффузии позволяют вычислить количество отработанной фазы в массе руды.

При описании периодических процессов выщелачивания меди из халькопирита и выщелачивания никеля [64, 65] предположения физиолого-биохимической модели записывали в виде систем квазихимических уравнений. После введения соответствующих гипотез о кинетике этих реакций математическая модель процесса представляла собой систему нелинейных уравнений, описывающих скорости изменения переменных процесса.

Сравнение решений модели на ЭВМ с экспериментальными данными позволило указать пути улучшения физиолого-биохимической модели: следует учитывать влияние на кинетику реакций изменений кислотности и окислительно-восстановительного потенциала среды. К глубокому сожалению, второго цикла — исправленной и дополненной модели — пока нет.

Для установившегося стационарного режима непрерывного культивирования возникает возможность считать постоянными многие величины, изменяющиеся при периодическом культивировании. В этом случае удельная скорость роста микроорганизмов должна быть равна скорости разбавления, а математические модели значительно упрощаются.

В табл. 3.11 представлены результаты исследований непрерывного процесса бактериального выщелачивания концентратов методом математического моделирования. Используя модель Эриксона [60] для роста периодической культуры на труднорастворимых субстратах, Гормели [63] модифицировал ее с помощью дополнительных предположений о том, что рост клеток происходит только в контакте с твердой фазой, а скорость роста — постоянная величина. Уравнение для стационарной концентрации биомассы включает в качестве единственного фактора, лимитирующего рост субстрата, „площадь доступной поверхности“, которая, однако, меняется в течение процесса выщелачивания.

В модели Чанга [58] добавляется предположение о возможности роста клеток в жидкой среде в соответствии с кинетикой роста, подчиняющейся уравнению Моно. Это позволило предложить модель, адекватную и, следо-

вательно, способную к оптимизации и управлению процессом в более широкой области внешних условий, одновременно подтвердив исходные гипотезы Эриксона и Гормели. Результатом моделирования являются также полученные кинетические закономерности развития бактерий на твердой среде — зависимости скоростей бактериального выщелачивания от различных переменных факторов внешней среды. Отметим, что такие закономерности в принципе можно получить только с помощью модели.

Таким образом, процесс непрерывного бактериального выщелачивания мелкодисперсных концентратов в настоящее время, наряду с процессом регенерации железа, наиболее полно исследован методом математического моделирования.

Методика применения математического моделирования, изложенная и иллюстрированная в настоящей работе, предъявляет, на наш взгляд, довольно жесткие требования к исследователям, желающим использовать этот метод в своей работе. Отказ от какого-либо из этапов схемы, представленной на рис. 3.27, резко снижает эффективность работы с моделью

Если нет сравнения результатов модели и эксперимента или сравнение с экспериментом дало неудовлетворительный результат, а второго цикла — уточнения модели нет — нельзя ни уточнить предварительные гипотезы, ни оптимизировать процесс.

Если сравнение с экспериментом дало положительный результат, а проверки на адекватность в новых условиях нет — модель лишь подтверждает наши гипотезы, помогает оптимизации и управлению в узкой заданной области внешних условий.

Применение метода математического моделирования для исследования и оптимизации технологических процессов дает удовлетворительные результаты лишь в случае проведения совместных исследований по полной схеме, предложенной на рис. 3.27.

Развитие применения этого метода в исследовании бактериального выщелачивания металлов до настоящего времени сдерживается недостатком экспериментальных данных по кинетике протекания „узловых реакций“ этого процесса и, в особенности, целенаправленных экспериментов по определению динамики поведения возможных переменных модели. В некоторых работах есть полноценные „зерна“ будущих моделей: Панин с соавторами [27] установили кинетику окисления сульфидных минералов; Имаи [17] приводит кривые роста бактерий, изменения кислотности среды, выщелачивания сульфидных минералов и накопления окисного железа на средах с бактериями и без них для различных начальных концентраций сульфидов. Однако, чтобы получить адекватную математическую модель, пригодную для оптимизации и управления промышленными процессами, необходимы совместные усилия микробиологов, математиков и инженеров.

Отметим в заключение, что в последние годы в большинстве работ по математическому моделированию биотехнологических процессов исследователи отказываются от попыток построить некоторую универсальную модель, хотя такие попытки были в период первого упоения возможностями вычислительной техники. Все большее внимание привлекают модели,

предлагаемые для описания, исследования и оптимизации конкретных технологических процессов. Именно такой путь представляется нам наиболее целесообразным при изучении биогидрометаллургических процессов методом математического моделирования.

3.6. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭКОНОМИКИ ПРОЦЕССОВ БАКТЕРИАЛЬНО-ХИМИЧЕСКОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ

Определение экономической эффективности процессов бактериально-химического выщелачивания осуществляется прежде всего в зависимости от характера применяемого процесса (кучного, подземного или чанового), содержания выщелачиваемого металла в руде или исходном продукте, качества и количества получаемых продуктов, величины капитальных затрат и эксплуатационных расходов.

Рассмотрим кратко методику оценки экономической эффективности с использованием натуральных и различных стоимостных показателей.

Кучное выщелачивание. При кучном выщелачивании исходными данными для определения экономических показателей процесса являются:

- содержание металла в отсыпаемой горной массе;
- объем выщелачиваемой массы руды;
- суммарное извлечение металла по годам и за все время эксплуатации;
- срок эксплуатации;
- способ извлечения металла из выщелачиваемого раствора;
- себестоимость получаемой товарной продукции.

Прежде всего определяется величина капитальных затрат, связанных с добычей руды, ее складированием, реагентами, подаваемыми в процесс, и различными вспомогательными материалами. Иногда стоимость добычи руды входит в стоимость горных работ. В данном случае она не учитывается при определении стоимости получения металла и его себестоимости.

Капитальные затраты при кучном выщелачивании обычно невысоки, они связаны прежде всего с затратами на подготовку специальной площадки, складированием руды на ней и зависят также от применяемых при организации выщелачивания технических средств — бульдозеров, бурильных станков, насосов, труб, цементаторов, погрузчиков, устройств для рыхления куч. При интенсивном микробиологическом выщелачивании следует учесть стоимость компрессорной установки, регенерационного прудка и т.п. В эту статью расходов должны входить также затраты на:

- сооружение при необходимости пилотной установки;
- доставку различных реагентов и вспомогательных материалов;
- складские помещения и т.п.;
- приборы для аналитического и микробиологического контроля;
- проведение научно-исследовательских работ.

Остальные затраты связаны с эксплуатацией промышленных установок.

В их состав обычно входят:

- заработная плата сотрудников;
- расходы на электроэнергию;

- расходы на воду;
- расходы на серную кислоту;
- расходы на соли (если необходимо по технологии), используемые на приготовление питательных сред и добавляемые в растворы;
- расходы на воздух;
- расходы на вспомогательные материалы, например, железо для цементации;
- транспортные расходы;
- амортизационные отчисления от капитальных затрат.

Если, например, принять общие расходы на получение 1 т меди кучным выщелачиванием с учетом горных работ и металлургического передела за 100%, то общая структура затрат будет следующей:

- горные работы — 25%;
- серная кислота — 20%;
- железо для цементации — 17%;
- металлургический передел — 31%;
- заработная плата, электроэнергия, вода и прочие расходы — 7%.

Расходы на серную кислоту могут доходить до 40 и более процентов от общей стоимости получения меди, что зависит от минерального состава выщелачиваемой руды, прежде всего от содержания в ней карбонатов пирита и интенсивности микробиологических процессов. Создание в выщелачиваемой куче необходимых для жизнедеятельности бактерий условий позволяет снизить расход серной кислоты в 5–10 раз, что значительно снижает общие расходы на производство меди.

Примером распределения затрат в структуре стоимости 1 т цементной меди может служить организация процесса кучного выщелачивания в Боре (Югославия) при производительности установки 1000 т меди в год и содержании ее в руде 0,2–0,4% (табл. 3.12).

Таблица 3.12

Структура стоимости 1 т цементной меди

Статья затрат	Распределение затрат, %
Электроэнергия	22,3
Серная кислота	31,98
Цементация	8,46
Итого	65,84
Зарплата	24,48
Прочие	9,68
Всего	100,0

Транспортные расходы и стоимость металлургического передела составляет обычно 40–50% от стоимости получения 1 т цементной меди.

Таким образом, основными статьями расхода при кучном выщелачивании являются стоимость серной кислоты, процесса цементации и металлургического получения чистой меди [1,2].

Подземное выщелачивание. Для процесса подземного выщелачивания при определении экономической эффективности следует учитывать, что на руднике, где производится добыча металлов подземным способом, затраты на разведку месторождения, вскрытие и подготовку рудной залежи к эксплуатации, водоотлив, вентиляцию и пр. определяются только для товарной руды. На забалансовые и заброшенные руды эти производственные затраты не распространяются. Поэтому себестоимость выщелачиваемого из таких руд металла определяется как сумма фактических затрат, связанных непосредственно с процессом выщелачивания: подготовка блоков подземного выщелачивания, расходы на реагенты, амортизацию агрегатов и оборудования технологического комплекса выщелачивания и переработку растворов, заработную плату обслуживающего персонала.

Экономическая эффективность процесса подземного выщелачивания обуславливается следующим:

- стоимость комплекса для выщелачивания значительно ниже стоимости комплекса аналогичной мощности добычи руды горным способом и ее обогащения на фабриках;

- при подземном выщелачивании руд отсутствует ряд процессов, присущих горному способу добычи: поддержание выработанного пространства, его закладка, доставка руды в пределах очистного забоя и транспортировка ее на поверхность и др.;

- более низкие трудовые и стоимостные затраты при добыче металла выщелачиванием позволяют разрабатывать месторождения или рудные залежи, содержание металла в которых в несколько раз ниже, чем в товарных (балансовых) запасах руд.

Экономическая целесообразность применения процесса подземного выщелачивания должна определяться с учетом выполнения необходимых объемов горноподготовительных, буровых, изоляционных работ, затраты на которые входят в общие капитальные затраты на организацию выщелачивания.

Исходными данными для определения экономической эффективности процесса подземного выщелачивания являются:

- запасы руд в блоках;
- количество выщелачивающих растворов;
- продолжительность заполнения рудного тела или блока выщелачивающим раствором;
- производительность блоков по продукционным растворам в установленном режиме выщелачивания;
- содержание кислоты в выщелачивающих растворах или pH;
- проектная продолжительность выщелачивания (месяцы);
- проектное извлечение металла;
- содержание металла в выщелачивающих растворах;
- проектные потери растворов;
- общее количество растворов, включая их количество в трубопроводах и сборниках;
- температура выщелачивающих растворов;
- содержание в растворах железа и микроорганизмов.

Капитальные затраты при подземном выщелачивании включают прежде всего подготовку блоков для выщелачивания, создание напорных перемишек, растворосборников, создание дренажных выработок для стока продукционных растворов, устройство для предотвращения утечек растворов из блоков выщелачивания и пр.

К капитальным затратам относятся также затраты, связанные с бурением скважин для подачи в блоки выщелачивающих растворов и необходимостью дробления рудного тела в блоке посредством взрывов. Основным эксплуатационным оборудованием при подземном выщелачивании являются насосы, которые подают выщелачивающие растворы в скважины и продукционные растворы на поверхность для выделения из них металла. Помимо насосов, в капитальных затратах учитывается стоимость трубопроводов (полиэтиленовые, полипропиленовые или стеклопластиковые), компрессорной станции, регенерационного прудка и установки для выделения металла методом осаждения, сорбции или экстракции, очистных сооружений.

Общая стоимость процесса подземного выщелачивания меди в Майями обычно составляет от 75 до 85 долларов за тонну и зависит прежде всего от расхода кислоты и железного скрапа (табл. 3.13).

Таблица 3.13

Структура стоимости 1 т цементной меди при производстве в год 8000 т меди

Статьи затрат	Распределение затрат, %
Заработная плата	10,5
Серная кислота	36,3
Цементация	37,5
Перекачивание растворов	0,9
Электроэнергия	3,6
Прочие	11,2

Чановое выщелачивание. При экономическом обосновании чанового процесса бактериального выщелачивания производится обязательное сравнение получаемых основных технико-экономических показателей его с показателями конкурирующих методов или процессов [3].

Для расчета технико-экономических показателей составляется прежде всего производственная программа цеха бактериального выщелачивания или установки на основе разрабатываемой технологической схемы и полученных показателей.

Исходными данными для расчета этих показателей являются:

- годовой объем переработки концентратов;
- содержание выщелачиваемых металлов в них;
- время выщелачивания, ч;
- содержание выщелачиваемых металлов в продуктах выщелачивания;
- аппаратное оформление технологической схемы;
- технологические параметры процесса;

- режим работы цеха выщелачивания;
- величина накладных расходов в районе строительства;
- расход и стоимость основных реагентов.

Расчет капитальных затрат на строительство цеха осуществляется с учетом ценообразования в районе строительства, вида транспорта, накладных расходов на общестроительные работы, монтаж металлоконструкций, районного коэффициента к зарплате и величины плановых накоплений.

Расчет стоимости технологического и подъемно-транспортного оборудования осуществляется в соответствии с необходимым количеством оборудования по технологической схеме процесса. В табл. 3.14 приведен пример расчета стоимости технологического оборудования с учетом затрат на мелкое неучтенное оборудование, с монтажными и транспортными расходами.

Таблица 3.14

Расчет стоимости технологического и подъемно-транспортного оборудования

Наименование оборудования	Количество	Цена единицы, тыс. руб.	Общая стоимость, тыс. руб.
Аппараты для выщелачивания	6	55	330
Оборудование для фильтрования и насосы			970
Итого			1300
Трубопроводы			260
Металлоконструкции			200
Монтаж оборудования			120
Гуммирование			110
Транспортное оборудование и накладные расходы			130
Итого			2120
Прочее неучтенное оборудование			530
Итого технологическое и подъемно-транспортное оборудование			2650

Стоимость основного технологического оборудования составляет 60% от стоимости всего оборудования.

Затем определяется стоимость строительства зданий и сооружений цеха бактериального выщелачивания (табл. 3.15).

После этого определяется общая сумма капитальных затрат на строительство цеха бактериального выщелачивания, на технологическое и подъемно-транспортное оборудование.

Для расчета эксплуатации затрат определяется прежде всего стоимость применяемых реагентов, затем в соответствии со штатным расписанием — количество работников цеха и фонд их заработной платы, стоимость применяемых материалов, электроэнергии и воды, а также величина аморти-

Таблица 3.15

Расчет стоимости зданий и сооружений цеха бактериального выщелачивания

Наименование объекта	Объем здания, м ³	Стоимость 1 м ³ , руб.	Общая стоимость, тыс. руб.
Отделение бактериального выщелачивания	2000	15	30
Компрессорная	4300	16	70
Отделение измельчения, фильтрования, приготовления реагентов			200
Сгустители			240
Прочие			60
Итого			600

зационных отчислений. В состав годовых эксплуатационных расходов включаются:

- заработная плата;
- начисления на заработную плату и охрану труда;
- материалы;
- электроэнергия;
- вода свежая;
- амортизационные отчисления;
- текущий ремонт;
- складирование отходов.

Основными статьями эксплуатационных расходов при чановом процессе бактериального выщелачивания являются амортизационные отчисления (30–35%), текущий ремонт (15–20%) и складирование отходов (10–15%).

По результатам расчета капитальных затрат и эксплуатационных расходов определяются экономические показатели по всему процессу переработки концентрата (табл. 3.16).

Таблица 3.16

Основные экономические показатели переработки концентратов с применением процессов бактериального выщелачивания

Показатели	%
1. Капиталовложения, всего	100
в том числе:	
отделение бактериального выщелачивания	42
отделение переработки концентрата	53
складирование отходов	5
2. Годовые эксплуатационные расходы	100
в том числе:	
бактериальное выщелачивание	35
переработка концентратов	59
складирование отходов	6

Для технико-экономической оценки применения технологии бактериального выщелачивания необходимо сравнить основные экономические показатели процесса с показателями метода, применяемого в промышленности для таких концентратов. Например, для золотомышьяковых концентратов широко используется процесс обжига с последующим цианированием. Поэтому технико-экономический анализ необходимо провести при сравнении технологии обжиг-цианирование и бактериальное выщелачивание-цианирование. Результаты этого анализа приведены в табл. 3.17.

Таблица 3.17

Основные экономические показатели способов переработки золотомышьяковых концентратов, %

Показатели	Способ переработки	
	Обжиг-цианирование	Бактериальное выщелачивание-цианирование
1. Капитальные вложения	100	58
2. Годовые эксплуатационные расходы	100	82
3. Рентабельность	100	170
4. Годовой экономический эффект	100	215

Полученные данные позволяют сделать вывод об экономической целесообразности применения бактериального выщелачивания, которое позволяет при снижении капитальных затрат и эксплуатационных расходов повысить рентабельность и получить значительный экономический эффект.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов А.А., Теоретические основы оптимизации селективной флотации сульфидных руд, Недра, М., 1978, 280 с.
2. Агошков М.И., Технико-экономическая оценка извлечения полезных ископаемых из недр, Недра, М., 1974.
3. Анисимов О.Л., Беркович Ю.А., Бородин М.Д., Мещерякова А.Л., Мискилев В.Ф., Промышленные установки для культивирования микроводорослей, Главмикробиопром, М., 1973, 80 с.
4. Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А., Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов, ЛГУ, Л., 1975, 77 с.
5. Ашмарин И.П., Воробьев А.А., Статистические методы в микробиологических исследованиях, Медгиз, Л., 1962, 180 с.
6. Белов Н.В., Очерки по структурной минералогии, Недра, М., 1976, 324 с.
7. Галактионова Н.А., Петрова Т.А., Каравайко Г.И., Крылов Ю.М., В сб.: Математические модели в экологии, В.Д. Горяченко (ред.), ГГУ, Горький, 1980, 43.
8. Галактионова Н.А., Петрова Т.А., Крылов Ю.М., Сборник научных трудов МИИСП им. В.П. Горячкина, К.А. Ачкасов (ред.), МИИСП, М., 1985, 96.
9. Гаррелс Р.М., Минеральные равновесия при низких температурах и давлениях, ИЛ, М., 1962, 306 с.
10. Гаррелс Р.М., Крайст Ч.Л., Растворы, минералы, равновесия, Мир, М., 1968, 204 с.

11. Горобец В.И., Горобец Л.Ж., Новое направление работ по измельчению, Недра, М., 1977, 183 с.
12. Гришин С.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Интенсификация процесса бактериального выщелачивания упорных золотосодержащих концентратов концентрированной культурой *T. ferrooxidans*, Деп. ЦНИИЭИцветмет 24.05.1982, № 928 цм - Д.82
13. Гришин С.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Каравайко Г.И., Микробиология, 1983, 52, № 2, 322.
14. Денисов Г.В., Ковров Б.Г., Седельников С.М. Авт. свид. № 734276, приоритет от 09.08.1977.
15. Денисов Г.В., Ковров Б.Г., Седельников С.М. Авт. свид. № 940145, Б.И., 1982, № 24.
16. Денисов Г.В., Ковров Б.Г., Трубочев И.Н., Грибовская И.В., Степень А.А., Новоселова И.О. Микробиология, 1980, 49, № 3, 473.
17. Имаи К. В сб.: Биотехнология металлов, Г.И. Каравайко, С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 234.
18. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И., Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд, Наука, М., 1972, 248 с.
19. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С., Моделирование биохимических реакторов, Лесная пром., М., 1979, 342 с.
20. Киреев П.С., Физика полупроводников, Высшая школа, М., 1975, 583 с.
21. Ковров Б.Г., Денисов Г.В., Седельников С.М., Культура железобактерий на электрической энергии, Наука, Новосибирск, 1984, 80 с.
22. Ковров Б.Г., Денисов Г.В., Секачева Л.Г., Белый А.В., В сб.: Хемосинтез в непрерывной культуре, Наука, СО АН СССР, 1978, с. 34.
23. Козлов В.С., Крылов Ю.М., Галактионова Н.А. Изв. вузов, Цвет. металлургия, 1984, № 4, 105.
24. Кулебакин В.Г., Бактериальное выщелачивание сульфидных минералов, Наука, СО АН СССР, Новосибирск, 1978, 243 с.
25. Марфунин А.С., Введение в физику минералов, Недра, М., 1974, 295 с.
26. Мочев Д., В сб.: Биотехнология металлов, Г.И. Каравайко, С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 319.
27. Панин В.В., Каравайко Г.И., Полькин С.И., В сб.: Биотехнология металлов, Г.И. Каравайко, С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 203.
28. Перт С.Дж., Основы культивирования микроорганизмов и клеток, Мир, М., 1978, 331 с.
29. Петрова Т.А., В сб.: Биотехнология металлов, Г.И. Каравайко, С.Н. Грудев (ред.), Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 67.
30. Петрова Т.А., Галактионова Н.А., В сб.: Тезисы докладов конференции „Управляемое культивирование микроорганизмов“, В.В. Бирюков, В.К. Ерошин (ред.), Пушкино-на-Оке, 1986, 158.
31. Петрова Т.А., Галактионова Н.А., Каравайко Г.И., Крылов Ю.М., Мошнякова С.А., Микробиология, 1979, 48, № 2, 235.
32. Петрова Т.А., Позмогова И.Н., Работнова И.Л., Каравайко Г.И., Микробиология, 1981, 50, № 5, 934.
33. Петрова Т.А., Шульц Ф., Степанова Н.В., Позмогова И.Н., Галактионова Н.А., В сб.: Математические модели клеточных популяций, В.Д. Горяченко (ред.), ГГУ, Горький, 1981, 146.
34. Плохинский Н.А., Биометрия, МГУ, М., 1970, 367 с.
35. Погорельский А.А., Математическое моделирование процессов выщелачивания, ЦНИИатоминформ, М., 1981, 104 с.
36. Полькин С.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Технология бактериального выщелачивания цветных и редких металлов, Недра, М., 1982, 288 с.
37. Полькин С.И., Каравайко Г.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Гришин С.И., Скакун Т.О., Линник О.Б., Авт. свид. № 910815, 1982, Б.И., 1982, № 9.
38. Ракчеев А.Д., В сб.: Современные методики петрологических исследований, 1976, 37.

39. Ракчеев А.Д., В сб.: Геология рудных месторождений, 1976, № 3, 49.
40. Розова Е.В., Труды ЦНИГРИ, 1969, вып. 86, ч. II, 75.
41. Смирнов С.С., Зона окисления сульфидных месторождений. Изд. АН СССР, М., 1951, 335 с.
42. Степанова Н.В., Романовский Ю.М., Иерусалимский Н.Д., ДАН СССР, 1965, 361, № 5, 1266.
43. Стрельцин Г.С. В кн.: Труды научно-технической конференции института Механобр. 1968, 1, 183.
44. Федорович Н.В., Дамаскин Б.Б., Руководство к практикуму по теоретической электрохимии, МГУ, М., 1965, 74.
45. Фрейман Л.И., Макаров В.А., Брыский И.Е., Потенциалостатистические методы в коррозионных исследованиях и электрохимической защите, Химия, Л., 1972, 239 с.
46. Хартман К., Лецкий Э., Шефер В., Планирование эксперимента в исследовании технологических процессов, Мир, М., 1977, 552 с.
47. Штоффер Л.Д., Николушкина В.М., Бирюков В.В., Химико-фармацевтический журнал, 1972, № 4, 41.
48. Яхонтова Л.К., Грудев А.П., Изв. АН СССР, сер. геол., 1974, 6, 68.
49. Яхонтова Л.К., Грудев А.П., Зона гипергенеза рудных месторождений, МГУ, М., 1978, 229 с.
50. Яхонтова Л.К., Грудев А.П., Пономарева И.А., Труды минералогического музея им. Ферсмана, изд. АН СССР, 1966, 17, 161.
51. Яхонтова Л.К., Земан И., Нестерович Л.Г., ДАН СССР, 1980, 253, № 2, 461.
52. Яхонтова Л.К., Ильчук Н.Г., Грудев А.П., Вестник МГУ, 1975, № 1, 58.
53. Яхонтова Л.К., Нестерович Л.Г., Зона гипергенеза рудных месторождений как биокосная система, МГУ, М., 1983, 51 с.
54. Яхонтова Л.К., Нестерович Л.Г., Грудев А.П., Постникова В.П., ДАН СССР, 1980, 250, № 3, 718.
55. Blanch, H.W., and Dunn, I.J., Adv. Biochem. Eng., 1974, 3, 127.
56. Bredford, M., Analytic Biochemistry, 1976, 72, 248.
57. Campbell, R.C., Statistics for Biologists, Cambridge University Press, 1967, 242 pp.
58. Chang, Y.C., and Myerson, A.S., Biotechnol. Bioeng., 1982, 24, 889.
59. Chizhikov, D.M., Ustinski, B.Z., and Kovylin, V.N., In: "Soviet Electrochemistry", Proceedings of the 4th Conference on Electrochemistry, Moscow, Oct. 1956, 4, 79.
60. Erickson, L.E., Fan, L.T., Shah, P.S., and Chen, M.S.K., Biotechnol. Bioeng., 1970, 12, 713.
61. Frederickson, A.G., Megee, R.D., and Tsuchiya, H.M., Adv. Appl. Microb., 1970, 13, 419.
62. Frederickson, A.G., and Tsuchiya, H.M., In: "Chemical Reactor Theory". L. Lapidus, and N.R. Amundson (Eds.), Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1977.
63. Gormely, L.S., Duncan, D.W., Branion, R.M.R., and Pinder, K.L., Biotechnol. Bioeng., 1975, 17, 31.
64. Hendy, N.A., and Rogers, P.H., J. Ferment. Technol., 1978, 56, 435.
65. Jukawa, T., Vanselow, D., Ralph, B.I., and Rogers, P.L., J. Ferment Techn., 1978, 56, 45.
66. Kinsel, N.A., and Umbreit, W.W., J. Bacteriol., 1964, 87, 1243.
67. Kossen, N.W.F., Soc. Microb. Symp., 1979, 29, 327.
68. Lacey, D.T., and Lawson, F., Biotechnol., Bioeng., 1970, 12, 29.
69. Livesey-Goldblatt, E., Tunley, T.H., and Nagy, I.F., In: Round Table Conference. Bacterial Leaching. Schwartz, W. (Ed.), Braunschweig-Stöckheim. 1977, 175.
70. Noddack, W., und Wrabetz, K., Zeitschrift f. Elektrochemie, 1955, 59, 2, 96.
71. Noddack, W., Wrabetz, K., und Herbst, W., Zeitschrift f. Elektrochemie, 1955, 59, 7/8, 552.
72. Petrowa, T.A., Knorre, W.A., Gutke, R., and Bergter, F., Zeitschrift f. Allg. Mikrobiol., 1977, 17, 531.
73. Pourbaix, M.N., Atlas d'Equilibres electrotechniques à 25°C. Paris, 1963, 644.

74. Rechenberg, H., Untersuchungen über die elektrochemische Spannungsreihe der Erzminerale. Neues Jahrbuch für Mineral., Monatshefte, 1951, 88.
75. Sato, M., Electrochemica Acta, 1966, 11, 361.
76. Singh, A.K., and Torma, A.E., New Mexico J. of Science, 1981, 21, 8.
77. Taylor, J., and Whelan, P.F., Inst. of Mining and Metallurgy Bull., 1942, 457, 1.
78. Tuovinen, O.H., Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1978, 5, 301.
79. Tuovinen, O.H., Niemelä, S.I., and Gillenberg, H.G., Antoine van Leewenhoek, J. Microbiol. Serol., 1971, 37, 489.
80. Wrabetz, K., Zeitschrift f. Elektrochemie, 1956, 60, No. 7, 727.

ЧАНОВОЕ БАКТЕРИАЛЬНОЕ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ СУЛЬФИДНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ

4.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Процесс выщелачивания металлов из руд и концентратов с использованием бактерий и осуществляемый в специальных емкостях называется процессом чанового бактериального выщелачивания. Чановое бактериальное выщелачивание проводится в пачуках, ферментерах, контактных чанах и других аппаратах, обеспечивающих перемешивание, аэрацию и обогрев пульпы.

В практике чанового бактериального выщелачивания металлов из сульфидных концентратов в настоящее время используются мезофильные бактерии рода *Thiobacillus*, преимущественно *T. ferrooxidans*. Используются также ассоциации с другими синтрофными видами хемолитоавтотрофных бактерий. Эти бактерии выделены из месторождений сульфидных руд [4, 5, 9, 18, 21].

Метод чанового бактериального выщелачивания может применяться для переработки многих сложных, упорных и труднообогатимых суль-

Т а б л и ц а 4.1

Типы сульфидных концентратов перспективных для переработки
методом чанового бактериального выщелачивания

Типы сульфидных концентратов	Цель выщелачивания	Литература
Золотомышьяковые Золотопиритные	Селективное извлечение мышьяка, вскрытие тонкодисперсного золота, ассоциированного с сульфидными минералами	[4, 6, 9, 10, 11, 19]
Оловомышьяковые Оловомедно-мышьяковые Медно-мышьяковые	Селективное извлечение мышьяка	[4, 7, 9, 11, 12, 20]
Медно-цинковые Свинцово-цинковые Медно-молибденовые Медно-никелевые	Селективное извлечение цинка Селективное извлечение меди Селективное извлечение никеля	[4, 9, 16, 23] [1, 4, 9, 17] [3, 4, 8, 22]

фидных концентратов, которые из-за отсутствия соответствующих технологий не вовлечены в настоящее время в переработку, а также те концентраты, переработка которых экономически невыгодна или связана с загрязнением окружающей среды. Основные типы продуктов, перспективных для переработки методом чанового бактериального выщелачивания, приведены в табл. 4.1.

Основные этапы испытания технологии чанового бактериального выщелачивания следующие: лабораторные, укрупненно-лабораторные, полупромышленные и опытно-промышленные.

Процесс чанового бактериального выщелачивания проводится в нестерильных условиях. Это связано с тем, что низкие значения pH (1,5–2,5) и высокие концентрации ионов тяжелых металлов обеспечивают определенную элективность среды, используемой для выщелачивания.

Ниже рассмотрены условия проведения, цели и задачи, решаемые на каждом этапе исследований технологии чанового бактериального выщелачивания (табл. 4.2.).

Т а б л и ц а 4.2

Этапы исследований технологии чанового бактериального выщелачивания

Этапы	Цель	Виды работы
1. Отбор и подготовка представительной пробы	Получение необходимого количества сульфидного концентрата	Химический, минералогический и гранулометрический анализы; измельчение до заданной крупности; отбор навесок для экспериментов
2. Подготовка культуры бактерий	Получение культуры бактерий, активно окисляющих сульфидные концентраты	Определение пригодности сульфидного концентрата для выщелачивания, адаптация бактерий; получение необходимого количества адаптированной культуры для лабораторных исследований
3. Лабораторные исследования	Определение возможности применения чанового бактериального выщелачивания. Предварительная количественная оценка технологических параметров (кинетика растворения и извлечения металлов). Определение изменения ионного состава пульпы; определение концентрации и активности биомассы на различных стадиях выщелачивания; изучение влияния состава пульпы на эффективность выщелачивания	Проведение выщелачивания в периодическом и непрерывном режимах. Получение необходимого количества адаптированных к условиям выщелачивания бактерий для последующих укрупненных испытаний

Продолжение табл. 4.2

Этапы	Цель	Виды работы
4. Укрупненно-лабораторные испытания. Создание моделей и определение критериев для укрупненно-лабораторных испытаний	Определение: а) специфической и максимальной скорости потока; специфической скорости роста бактерий на различных стадиях выщелачивания; б) расхода реагентов, CO_2 и воздуха; в) способа регенерации выщелачивающих растворов и их оборота; состава продуктивных растворов; г) возможности выделения металлов из продуктивных растворов; д) разработка моделей и критериев для осуществления укрупненно-лабораторных испытаний	Проведение непрерывного выщелачивания
5. Пилотные испытания	Осуществление непрерывного процесса в режиме потока и определение достоверности укрупненно-лабораторных исследований	Моделирование непрерывной промышленной установки на основе пилотных испытаний
6. Испытания в полупромышленных условиях	Оценка применимости процесса в промышленном масштабе	Осуществление процесса выщелачивания в полупромышленных условиях

4.2. ПОДГОТОВКА ПРОБ

Отбор и подготовка проб концентратов являются важными в развитии технологии чанового бактериального выщелачивания. От этого зависит достоверность получаемых результатов [2].

4.2.1. Требования к отбору проб

Непременным условием всех исследований является представительность проб. Главными критериями представительности проб для чанового бактериального выщелачивания являются:

- представительность рудных проб, из которых получен продукт для исследований;
- замкнутость схемы обогащения руды при наработке продукта. На стадии поисково-оценочных работ, когда разработана лишь принципиальная технология обогащения руды, проба для ЧБВ может быть отобрана при работе по открытой схеме;

— получение продукта для исследований должно проводиться только по рекомендуемой технологии обогащения руды.

Другими наиболее важными критериями, характеризующими представительность проб являются:

- содержание основных и сопутствующих полезных компонентов;
- содержание вредных примесей;
- содержание нерудных минералов.

На стадии укрупненно-лабораторных исследований в качестве пробы должен быть концентрат или другой сульфидный продукт, полученный в замкнутом цикле по технологической схеме, разработанной и рекомендуемой для обогащения руд изучаемого объекта. Масса пробы должна составлять до нескольких десятков килограммов.

Для полупромышленных испытаний технологии чанового бактериального выщелачивания на опытной обогатительной фабрике или полупромышленной установке подготавливается проба исследуемого продукта по схеме, рекомендуемой для обогащения изучаемых руд.

В том случае, когда исследование проводят на концентратах или других продуктах, проба отбирается по согласованию с научно-исследовательской и проектной организациями, выполняющими эти исследования. Масса пробы должна составлять не менее 1–5 т [2].

При разработке технологии обогащения комплексных руд цветных металлов, например, медно-цинково-пиритных, химический и минеральный состав концентратов должен отвечать условиям максимальной степени извлечения металлов.

Проба должна быть высушена до влажности 3–5%, упакована в мешки, помещена в плотные ящики весом не более 60 кг и подготовлена для последующей отправки в адрес организации, проводящей исследования. Проба должна быть снабжена актом на ее отбор или наработку и паспортом, в котором указывается масса пробы, химический состав и другие необходимые для ее характеристики данные.

4.2.2. Подготовка средней пробы

Для проведения лабораторных и укрупненно-лабораторных исследований от исходной пробы отбирают среднюю пробу определенной массы в соответствии с условиями испытаний и техническими характеристиками оборудования. Подготовку и отбор средней пробы производят по составленной заранее схеме с указанием на ней всех операций.

Усреднение и сокращение исходной пробы проводится с целью уменьшения ее массы до желаемой при сохранении представительности пробы. Методика сокращения состоит в следующем:

- перемешивание (усреднение) методом кольца и конуса;
- сокращение квартованием или с использованием специальных сократителей или установок [13].

Перемешивание методом кольца и конуса заключается в следующем. Проба высыпается конусом на твердую гладкую поверхность, например,

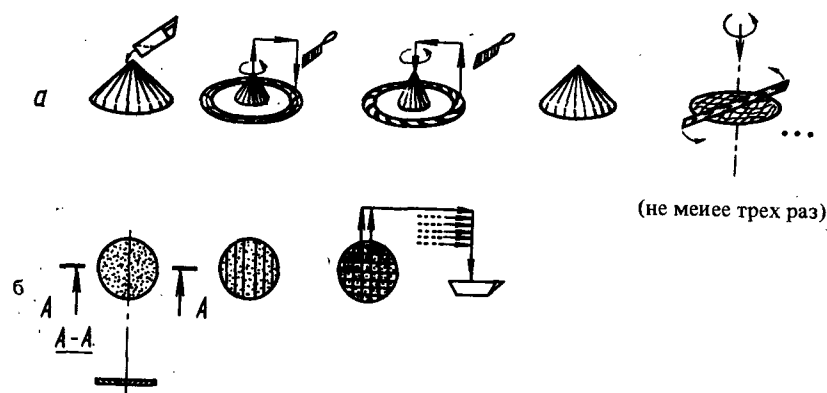


Рис. 4.1. Усреднение пробы сульфидного концентрата:
а — методом кольца и конуса; б — сокращение квадратованием

на стол (рис. 4.1). Из центральной части конуса материал посредством многократных вычерпываний перемещается к его основанию так, чтобы он расположился в форме кольца (рис. 4.1а), затем из кольца также посредством многократных вычерпываний заново формируют конус, который разворачивают в диск вращательно-поступательным (вниз) движением металлической или деревянной рейки. Из диска опять формируют кольцо и т.д. Таким способом материал перемешивают не менее трех раз. Необходимо отметить, что перемешивание по методу кольца и конуса осуществляется только в сочетании с сокращением по методу квартования, при котором на точности сокращения не сказывается эффект сегрегации.

При проведении сокращения квартованием тщательно перемешанную пробу разворачивают в диск, делят крестовиной на четыре квадрата. Два противоположных из них отбрасывают, оставшиеся объединяют и перемешивают методом кольца и конуса до получения необходимой массы пробы.

Перемешивание способом перекачивания применяют к относительно небольшим массам (около 1 кг) тонкоизмельченного материала. Пробу рассыпают на центральной части клеенки слоем толщиной 0,5–1,5 см так, чтобы она занимала примерно 1/5 ее площади. Затем поочередно загибая каждый угол клеенки, доводят пробу до диаметрально противоположного угла и возвращают в исходное положение. Эта операция проводится не менее трех раз. Перемешанную таким образом пробу сокращают методами квартования или квадратования.

Квадратование наиболее часто применяют при отборе малых навесок, непосредственно используемых в экспериментах. При проведении сокращения квадратованием пробу, тщательно перемешанную методом перекачивания, разворачивают рейкой в диск, и на поверхность диска наносят сетку из взаимно перпендикулярных линий. Затем из точек пересечения этих линий или центра образовавшегося квадрата отбирают необходимую пробу, стараясь при этом охватить всю поверхность диска (рис. 4.1б).

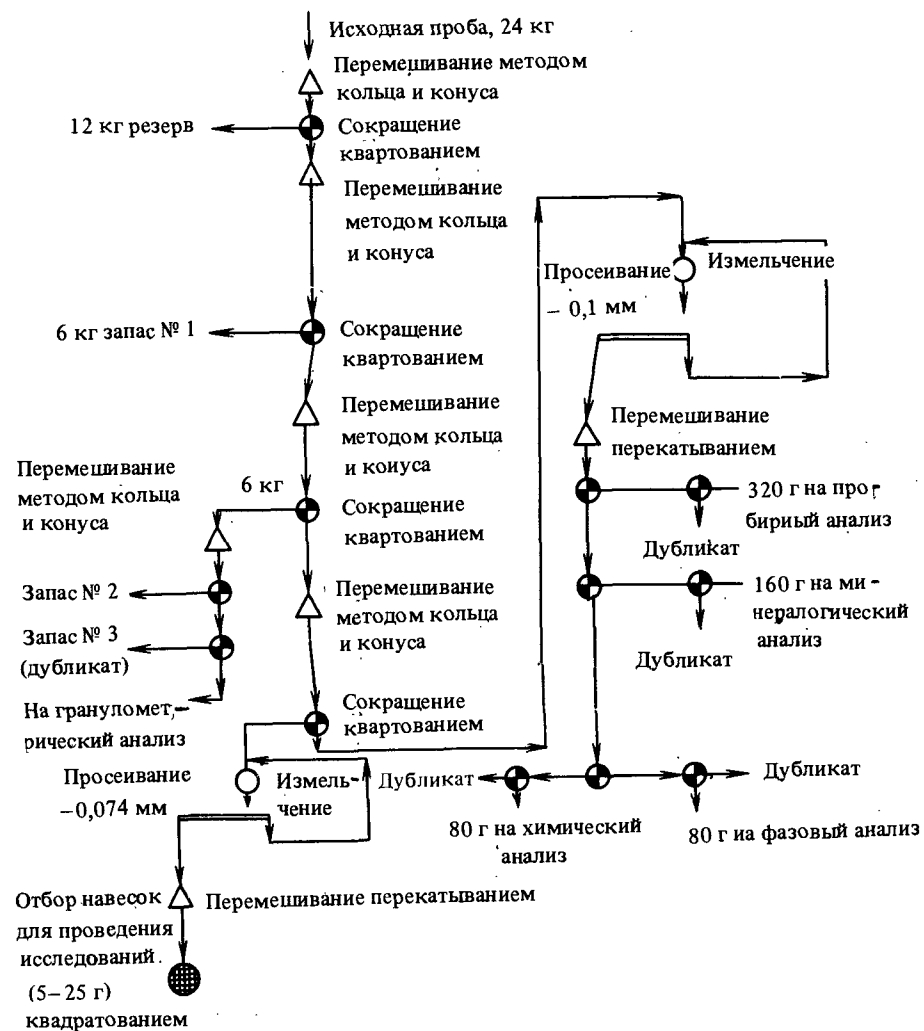


Рис. 4.2. Схема проборазделки средней пробы концентрата массой 24 кг:

Δ — перемешивание; ● — сокращение

Для определения гранулометрического состава пробу массой 100–200 г помещают на набор сит, например, с сетками 0,1 мм, 0,074 мм, 0,044 мм, укрепленных на встряхивателе и в течение 30–40 мин производят рассев пробы. По окончании отсева полученные фракции взвешивают и рассчитывают их выход, выражая вес фракции в процентах от всего веса пробы. При необходимости определения шламов в пробе фракцию –0,044 мм подвергают седиментационному анализу для определения выхода более мелких фракций.

На рис. 4.2. приведена примерная схема разделки средней пробы сульфидного продукта массой около 24 кг, крупностью 100% класса — 1,5 мм. Исходную пробу перемешивают методом кольца и конуса, затем квартованием делят на две равные части. Одну часть оставляют в качестве резервной, вторую, усреднив, делят на две части весом по 6 кг. Таким образом получают резервную пробу № 1 и пробу массой 6 кг, которую, в свою очередь, после усреднения делят на две равные части массой 3 кг. Каждую из них после усреднения также делят на две равные части. Таким образом получают четыре пробы, каждая массой 1,5 кг. Одна из проб представляет собой резервную пробу № 2. Вторую пробу, усреднив, делят на две части, из которых одну отдают на гранулометрический анализ, другую — оставляют в качестве дубликата. Третью пробу используют для проведения лабораторных исследований по бактериальному выщелачиванию. Из четвертой отбирают, согласно прилагаемой схеме, пробы на химический, пробирный, минералогический и фазовый анализы. Каждая проба, поступающая на анализ, должна иметь дубликат.

Пробу весом 1,0—1,5 кг, предназначенную для бактериального выщелачивания, обычно измельчают. Размер частиц исходной пробы является одним из основных факторов, влияющих на процесс бактериального выщелачивания. Как правило, для чанового бактериального выщелачивания пробы измельчают до крупности частиц — 100% — 40 мкм.

Измельчение проводят с целью увеличения удельной поверхности частиц, раскрытия зерен минералов, создания дефектов в кристаллической решетке и т.п., что способствует увеличению доступности сульфидных минералов для бактерий [4,9]. Измельчение небольших навесок (массой до 1 кг) проб осуществляют обычно в лабораторных шаровых мельницах мокрого помола.

Измельчение пробы для полупромышленных испытаний проводят в шаровых мельницах непрерывного действия, работающих в замкнутом цикле с классифицирующим аппаратом. В качестве классифицирующего аппарата целесообразнее применять гидроциклоны. В этом случае измельченный материал в виде пульпы помещают в специальные чаны, из которых она по мере надобности направляется в чан для бактериального выщелачивания. Контроль измельчения продуктов так же, как и гранулометрического состава исходной пробы, осуществляют с помощью ситового анализа.

Знание состава сульфидного концентрата позволяет предварительно оценить направленность процесса бактериального выщелачивания и установить вид необходимой подготовки его к выщелачиванию. Так, на основании минералогического анализа сульфидного концентрата, и зная значение электродных потенциалов составляющих его минералов, можно оценить последовательность их выщелачивания, поскольку в первую очередь выщелачиваются минералы с меньшим значением электродного потенциала.

Данные фазового анализа, показывающие содержание минералов и элементов в каждом классе крупности, дают возможность оценить и необходимую степень измельчения концентрата перед выщелачиванием.

4.2.3. Характеристика основных параметров пульпы

Сульфидный концентрат подвергают процессам чанового бактериального выщелачивания в виде пульпы, представляющей собой суспензию тонкоизмельченных частиц в жидкости. К основным параметрам, определяющим свойства и состав пульпы, относятся: соотношение твердого и жидкого, их физические свойства и химический состав, крупность измельчения твердого, плотность твердой и жидкой фаз пульпы. Соотношение твердого и жидкого в пульпе характеризуется их весом или процентной (от всей массы пульпы) зависимостью:

$$R = \frac{Ж}{Т} = \frac{\% Ж}{\% тв.} \text{ ед.}, \quad (4.1)$$

где R — разжижение пульпы, ед.;

T — масса твердого, г, кг;

Ж — масса жидкого, г, кг;

% тв. — содержание твердой фазы в пульпе (в % по весу);

% Ж — содержание жидкой фазы в пульпе (в % по весу).

Содержание твердой фазы в пульпе (% тв.) связано с ее разжижением (R) соотношением [13]:

$$\% тв. = \frac{Ж}{R + Ж} \cdot 100 \quad (4.2)$$

Понятиями % тв. и R можно пользоваться лишь в том случае, если известны плотности твердой и жидкой фаз пульпы, например, при загрузке исходного концентрата на выщелачивание. Однако в процессе выщелачивания, на каждой стадии происходит изменение как плотности жидкой, так и твердой фаз пульпы вследствие селективного выщелачивания минералов, входящих в состав сульфидного продукта. Поэтому разжижение пульпы в процессе выщелачивания необходимо определять взвешиванием пробы пульпы и рассчитывать по формуле:

$$R = \frac{\Delta (\delta \cdot V - M)}{\delta (M - \Delta \cdot V)}, \quad (4.3)$$

где: R — разжижение пульпы, ед.;

V — объем пробы пульпы, мл;

M — масса пробы пульпы, г;

Δ — плотность жидкой фазы пульпы, г/см³;

δ — плотность твердой фазы пульпы, г/см³.

Плотность пульпы при бактериальном выщелачивании также можно характеризовать количеством твердой фазы, приходящимся на единицу объема пульпы. Для этого отбирают пробы пульпы и определяют в ней массу твердой фазы; концентрацию твердой фазы в пульпе рассчитывают по уравнению:

$$C_{\text{тф}} = \frac{1000 \cdot m}{V} \text{ г/л,} \quad (4.4)$$

где: $C_{\text{тф}}$ — концентрация твердой фазы в пульпе, г/л;
 V — объем пульпы, мл;
 m — масса твердой фазы в пробе пульпы, г.

Концентрация твердой фазы в пульпе и ее разжижение связаны следующими соотношениями:

$$R = \frac{1000 \cdot \delta \cdot \Delta - \Delta \cdot C_{\text{тф}}}{\delta \cdot C_{\text{тф}}} \quad (4.5)$$

$$C_{\text{тф}} = \frac{1000 \cdot \delta \cdot \Delta}{R \cdot \delta + \Delta} \quad (4.6)$$

В биотехнологической практике выщелачивание проводят при разжижении пульпы $R = 4-10$ (9–20 % тв.). С увеличением плотности пульпы увеличивается производительность установки по твердому, а также по концентрации тяжелых металлов в жидкой фазе. Однако нужно отметить, что при высокой плотности пульпы ($R < 4$) снижаются растворимость кислорода в пульпе и полнота извлечения ценного компонента, а время выщелачивания увеличивается. Поэтому при работе на плотных пульпах необходимо использовать аппараты типа ферментеров, контактных чанов и т.п., обеспечивающих активный массообмен между твердой, жидкой и газообразной фазами пульпы.

4.3. ПОДГОТОВКА КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ

При чановом бактериальном выщелачивании концентрация ионов тяжелых металлов достигает высоких значений, а pH сильно снижается [4, 9, 11]. Например, содержание Zn^{2+} в жидкой фазе пульпы может достигать 20–40 г/л, Cu^{2+} — 5–10 г/л, Fe^{3+} — 20–50 г/л, AsO_4^{3-} — 12–20 г/л [4, 9, 10, 12]. Кроме того, основным требованием, предъявляемым к процессам чанового бактериального выщелачивания, является высокая скорость их протекания. Однако продолжительность выщелачивания в настоящее время составляет до 72 ч [9]. Поэтому бактерии, используемые в процессах чанового бактериального выщелачивания должны быть адаптированными к условиям выщелачивания и высокой скорости потока (разбавления), близкой к критической.

При подготовке культуры для выщелачивания не рекомендуется адаптировать бактерии к отдельным минералам или химическим элементам, входящим в данный сульфидный концентрат [5, 12]. Так, если адаптировать бактерии к мышьяку, добавляя его в минеральную среду (например, 9К), то бактерии не будут адаптированы к целому комплексу других соединений, находящихся в среде при выщелачивании, например, арсенинитного концентрата [6].

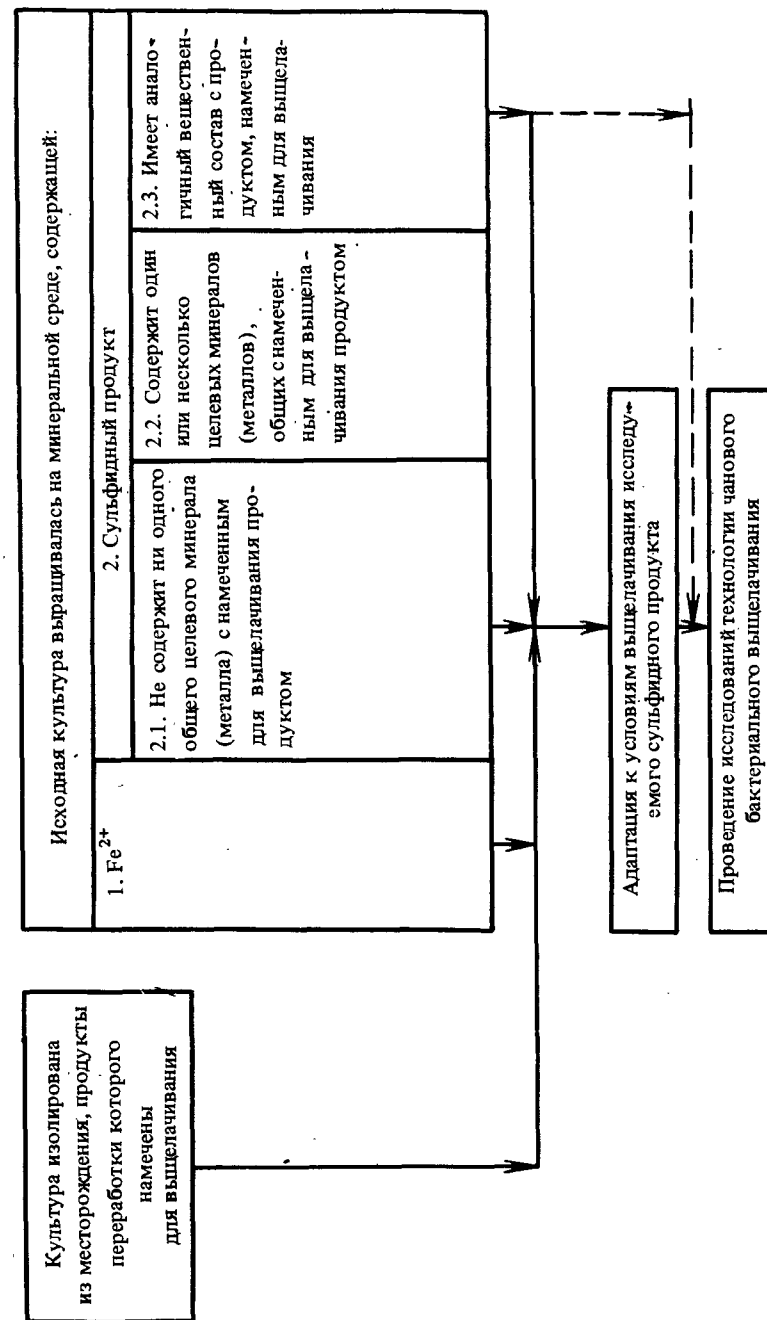


Рис. 4.3. Схема подготовки культуры бактерий

Для проведения процесса выщелачивания могут быть использованы штаммы бактерий, выделенные *de novo* из природных микробных ценозов на месторождении сульфидных руд, продукты переработки которых намечены для выщелачивания (см. гл. 2), или штаммы бактерий, ранее изолированные из месторождений и культивируемые на различных средах. В последнем случае бактерии могли развиваться как на среде 9К (1, рис. 4.3), так и на средах, содержащих различные сульфидные минералы (2, рис. 4.3). Длительность процесса адаптации бактерий, культивируемых на синтетической среде с Fe^{2+} , к намеченному для выщелачивания сульфидному концентрату в зависимости от его состава может достигать 6–8 недель (1, рис. 4.3). Это связано с тем, что при культивировании бактерий на синтетических средах с Fe^{2+} они теряют адаптивные свойства к среде, содержащей сульфидные концентраты. Поэтому первые этапы адаптации желательно проводить в периодической культуре при плотности пульпы 2–3% твердого.

При адаптации бактерий в три–пять параллельных емкости вносят 50–250 мл среды 9К без Fe^{2+} , имеющей pH 1,8–2,2, 20–100 мл посевного материала (двух-трехсуточная культура), после чего добавляют 1–3% (от общей массы раствора) сульфидного концентрата. Рост и окислительную активность бактерий контролируют по изменению pH, Eh, $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, количеству биомассы и целевых металлов в жидкой фазе пульпы 1–2 раза в сутки. Из засеянных колб для дальнейшей работы отбирают те, в которых отмечен наиболее активный рост бактерий и окисление сульфидных минералов. Из этих колб делают пересевы в свежую пульпу с равным или увеличенным количеством твердого, например, 5–7%. При последующих перeseвах постепенно увеличивают количество твердой фазы в пульпе, доводя его до намеченного для выщелачивания. Культура считается адаптированной к сульфидному концентрату и подготовленной к исследованиям технологии чанового бактериального выщелачивания, если в течение ряда последовательных пересевов в пульпу с плотностью, намеченной для выщелачивания, получены удовлетворительные результаты по извлечению целевых металлов в раствор.

Адаптацию бактерий к условиям выщелачивания можно проводить в колбах Эрленмейера на качалке (частота качаний не менее 270 кач./мин, плотность пульпы не более 10% твердого), в ферментерах, аэрируемых делительных воронках (плотность пульпы не ограничивается) и других емкостях, обеспечивающих перемешивание, обогрев и аэрацию пульпы.

Сульфидные концентраты, предназначенные для выщелачивания, могут быть подразделены на следующие группы относительно концентратов, на которых предварительно культивировались бактерии:

а) в том случае, если в намеченные для выщелачивания сульфидные концентраты (см. 2.1, рис. 4.3) не входит ни одного целевого минерала (металла), общего с минералами (металлами), на которых культивировалась исходная культура бактерий (например, бактерии культивировались на арсенопирит-пиритном концентрате, а для выщелачивания предполагается использовать медно-цинковый концентрат), процесс ее адаптации можно осуществлять посредством нескольких последовательных пе-

ресевов на среду с медно-цинковым концентратом при постепенно возрастающей плотности пульпы.

Адаптацию бактерий можно также проводить, не изменяя плотности пульпы, на которой культивировались исходные бактерии, например, при 15–20% твердого. В этом случае последовательные пересевы исходной культуры проводят в пульпу исходного концентрата, часть которого постепенно замещают намеченным для выщелачивания сульфидным материалом. Таким образом, производится постепенная смена твердой фазы пульпы. Скорость замещения и частота пересевов определяются эмпирически в зависимости от активности полученной культуры;

б) сульфидные концентраты (см. 2.2, рис. 4.3), намеченные для выщелачивания, содержат один или несколько целевых минералов (металлов), присутствующих в сульфидном концентрате, на котором выращивалась исходная культура бактерий. Например, бактерии, выращенные на арсенопирит-пиритном концентрате, содержащем от 5 до 8% мышьяка, необходимо адаптировать к арсенопирит-халькопиритному концентрату. Адаптацию бактерий проводят как в предыдущем случае. Время адаптации, как правило, сокращается;

в) сульфидный концентрат (см. раздел 2.3, рис. 4.3) отличается от концентрата, к которому адаптирована исходная культура, только содержанием тех же минералов. Например, культуру на арсенопирит-пиритном концентрате с содержанием мышьяка 5–8% необходимо адаптировать к концентрату, получаемому из руд того же месторождения, но с содержанием мышьяка 15–20%. Адаптацию бактерий проводят путем ряда последовательных пересевов при плотности пульпы, при которой намечается выщелачивание металлов;

г) сульфидный концентрат, на котором поддерживается культура бактерий, соответствует выщелачиваемому. В этом случае она может использоваться без предварительной адаптации (пунктирная линия, рис. 4.3).

Необходимо отметить, что адаптированная культура бактерий обладает лишь потенциальной способностью к активному выщелачиванию сульфидных концентратов. Реальная же окислительная активность зависит от целого комплекса конкретных условий проведения процесса (аэрации, крупности измельчения сульфидного концентрата, массообмена, ионного состава пульпы и т.п.) и реализуется в технологическом процессе.

4.4. ТЕХНОЛОГИИ ЧАНОВОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ

Основные показатели процесса выщелачивания (степень извлечения целевых металлов в раствор, время выщелачивания, остаточное содержание целевого металла в остатках и т.п.), определяемые на каждом этапе исследований, зависят от различных факторов: активного массообмена между твердой, жидкой и газообразной фазами пульпы, крупности измельчения

исходного сульфидного концентрата, режимов проведения культивирования бактерий (выщелачивания) и т.д.

В зависимости от поставленных задач процессы чанового бактериального выщелачивания могут проводиться как в периодическом и полупрерывном, так и в проточном режимах культивирования бактерий. При выщелачивании в периодическом режиме отсутствует отвод продуктов метаболизма и выщелачивания, а также подача свежей пульпы. В этом режиме проводятся поисковые исследования, например, по определению принципиальной возможности бактериального выщелачивания исследуемого продукта, адаптации бактерий к условиям выщелачивания. При культивировании бактерий в проточном режиме из чана отводится часть продуктов метаболизма и выщелачивания и подается свежая пульпа.

В проточном режиме могут проводиться лабораторные исследования, укрупненно-лабораторные и полупромышленные испытания технологии чанового бактериального выщелачивания. При проведении экспериментов в полупрерывном и проточном режимах культура бактерий адаптируется к комплексу условий, характерных для каждого аппарата: оценивается кинетика и степень извлечения целевых металлов в жидкую фазу пульпы, определяется кинетика изменения ионного состава жидкой фазы пульпы, максимальная скорость потока и тому подобные показатели процесса чанового бактериального выщелачивания. В проточном режиме выщелачивания проводятся модельные исследования, имитирующие реальные технологические процессы, отрабатывается схема переработки исследуемого сульфидного концентрата, включающая регенерацию растворов выщелачивания и дальнейшую переработку твердых остатков с получением товарных продуктов. Рекомендуемые режимы проведения бактериального выщелачивания сульфидных концентратов на различных этапах исследований приведены в табл. 4.3.

Таблица 4.3

Рекомендуемые этапы исследований
технологии чанового бактериального выщелачивания

Способы выщелачивания	Этапы выщелачивания		
	Лабораторные исследования	Укрупненно-лабо- раторные иссле- дования	Полупромышлен- ные испытания
Периодический	+		
Полупрерывный (отливно-доливной)	+	+	
Непрерывный	+	+	+

4.4.1. Бактериальное выщелачивание в периодическом режиме

При чановом бактериальном выщелачивании в периодическом режиме в результате накопления продуктов метаболизма бактерий и выщелачи-

вания сульфидных концентратов происходит ингибирование жизнедеятельности бактерий и, следовательно, уменьшение скорости окисления сульфидных минералов и извлечения металлов. Кроме того, при выщелачивании сложных по составу сульфидных продуктов окислению подвергается только часть минералов.

В зависимости от продолжительности исследований, объема используемых аппаратов, плотности пульпы масса пробы сульфидного концентрата может составлять 1–3 кг.

Бактериальное выщелачивание в периодическом режиме можно проводить в колбах Эрленмейера, делительных воронках, пачуках и ферментерах емкостью 250–1500 мл. Колбы помещаются на качалку, частота качаний которой должна составлять не менее 270 об/мин для предупреждения сегрегационного разделения пульпы. При использовании для выщелачивания делительных воронок аэрацию и перемешивание пульпы осуществляют эрлифтами, воздух к которым подают от общей сети воздухообеспечения или от микрокомпрессоров.

Исследования процесса чанового бактериального выщелачивания в периодическом режиме необходимо начинать при плотности пульпы 5–10% твердого. Только после стабилизации основных параметров (рН, Eh, Fe^{2+} , Fe^{3+} , остаточное содержание целевого металла и т.п.), характеризующих процесс выщелачивания, можно постепенно переходить к более плотной пульпе (15–20% тв.). Соотношение объема посевного материала (адаптированная к концентрату культура бактерий) и свежей пульпы должно быть не менее, чем 1:3.

Эксперименты по выявлению оптимальных условий выщелачивания исследуемого сульфидного концентрата необходимо проводить при плотности пульпы, обеспечивающей необходимое количество выщелоченного материала для химического анализа.

Ниже приводится примерная схема проведения исследований процесса чанового бактериального выщелачивания в периодическом режиме.

Выщелачиванию подвергался арсенопирит-пиритный концентрат, содержащий 15% мышьяка, крупностью 100% класса – 0,074 мм. В качестве посевного материала использовали 3–6 суточную культуру бактерий, выращенную на том же сульфидном концентрате.

В ферментер или аэрируемую делительную воронку объемом 1000 мл помещали 450 мл среды, 90 г исследуемого сульфидного концентрата и 150 мл посевного материала. После посева контролировали рН и при необходимости подтитровывали 1 N раствором H_2SO_4 или КОН до рН 1,8–2,2. В контрольные варианты добавляли антисептик, например, тимол. Емкости, в которых проводили выщелачивание, термостатировали и непрерывно аэрировали.

В соответствии с кинетикой процесса выщелачивания контролировали значения рН, Eh, концентрацию Fe^{2+} , Fe^{3+} , As в жидкой и твердой фазах пульпы.

На основании результатов периодических анализов жидкой и твердой фаз пульпы делали заключение о ходе процесса выщелачивания. При удовлетворительном течении процесса бактериального выщелачивания

pH пульпы снижается, Eh — увеличивается, концентрация ионов Fe и As возрастает. Уменьшение скорости изменения указанных параметров свидетельствует об окончании процесса выщелачивания исследуемого сульфидного концентрата. Пробы пульпы, отобранные в ходе эксперимента, подвергали специальной обработке для раздельного определения содержания целевых металлов в твердой и жидкой фазах пульпы (см. раздел 4.7).

На основании проведенных анализов рассчитывали распределение целевых металлов (железо, мышьяк и др.) и серы между твердой и жидкой фазами пульпы (см. раздел 4.7) и делали выводы о закономерностях изменения концентрации целевых металлов в процессе выщелачивания.

После проведения основного опыта были выполнены исследования с целью определения влияния на процесс выщелачивания концентрации элементов, присутствие которых ожидается в пульпе (например, пульпе, натрия, магния и др.), а также определены оптимальные значения pH для выщелачивания данного сульфидного концентрата.

4.4.2. Бактериальное выщелачивание сульфидных концентратов в отливно-доливном режиме

Простейшим режимом выщелачивания является отливно-доливной (или полунепрерывный). Он обеспечивает периодический обмен части пульпы с целью удаления продуктов метаболизма и окисления минералов и поступление свежего энергетического материала.

Бактериальное выщелачивание сульфидных концентратов можно проводить в каскаде емкостей (ферментеров, пачуков, делительных воронок и т.п.) с активным массообменом и принудительным периодическим переносом пульпы. В лабораторных исследованиях чаще всего используют каскад из 2–6 аппаратов. Количество необходимых для получения заданной полноты выщелачивания емкостей зависит от объема используемых аппаратов, скорости разбавления на каждой стадии процесса, химического и минералогического состава исследуемого сульфидного концентрата.

При бактериальном выщелачивании в отливно-доливном режиме оценивают влияние обмена части пульпы, крупности частиц исследуемого продукта на степень извлечения целевых металлов в раствор.

Основным недостатком отливно-доливного режима бактериального выщелачивания является импульсный способ подачи пульпы, при котором значения всех параметров процесса периодически изменяются. Таким образом, отливно-доливной режим занимает промежуточное положение между периодическим и непрерывным режимами культивирования бактерий. При малой дискретности переноса пульпы результативность этого процесса приближается к непрерывному.

Процесс чанового бактериального выщелачивания в отливно-доливном режиме проводится в два этапа:

1. Ввод процесса в заданный режим.
2. Осуществление процесса в заданном режиме.

При вводе процесса в заданный режим стремятся к уменьшению дискретности переноса пульпы, чтобы адаптировать бактерии к новым условиям, характерным для проточного культивирования.

Заданным или рабочим режимом является такой режим, при котором стабилизируются значения основных микробиологических, химических и физико-химических показателей процесса. Каждый рабочий режим выщелачивания характеризуется определенными постоянными значениями времени выщелачивания и полноты извлечения целевых металлов в жидкую фазу пульпы. Время выщелачивания целевого металла в раствор — это время пребывания пульпы во всем каскаде аппаратов. Время выщелачивания зависит от степени извлечения целевого металла, химического и минерального составов, крупности измельчения сульфидного концентрата, используемой аппаратуры, интенсивности массообмена и т.п.

При равных условиях меньшая степень извлечения достигается за более короткое время. Основным требованием, предъявляемым к процессам чанового бактериального выщелачивания является сокращение времени выщелачивания при сохранении необходимой полноты извлечения ценных компонентов из сульфидного концентрата.

Ниже приведена примерная схема экспериментов в отливно-доливном режиме.

Предварительно производится подготовка сульфидного концентрата и адаптированной к нему культуры бактерий (см. раздел 4.2). Затем осуществляется ввод процесса в рабочий режим.

Для этого бактерии выращиваются в первом сосуде в периодическом режиме на сульфидном концентрате в заданном объеме пульпы (см. раздел 4.3). При удовлетворительном протекании процесса выщелачивания в периодическом режиме часть пульпы из первого сосуда ($\Delta V = 0,1–0,3$ от

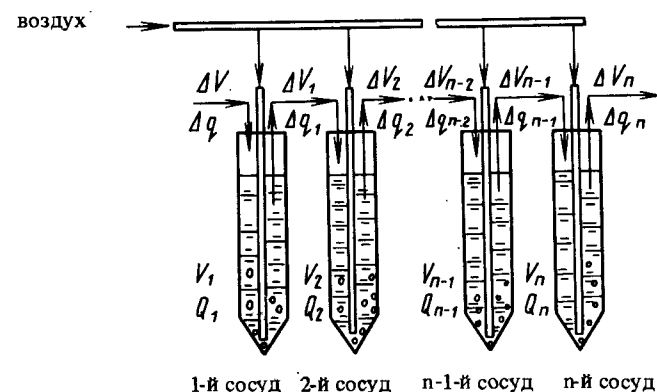


Рис. 4.4. Схема перемещения пульпы при отливно-доливном режиме бактериального выщелачивания:

V_1, V_2, \dots, V_n — объем пульпы на каждой стадии;
 Q_1, Q_2, \dots, Q_n — масса твердой фазы пульпы на каждой стадии;
 $\Delta V_1 = \Delta V_2 = \dots = \Delta V_n$ — объем переносимой пульпы;
 $\Delta Q_1, \Delta Q_2, \dots, \Delta Q_n$ — масса твердой фазы в переносимой пульпе

первоначального) переносят во второй аэрируемый сосуд, а в первый сосуд добавляют равное количество свежей пульпы (см. рис. 4.4). Скорость обмена пульпы зависит от количества переносимой пульпы (объема) и частоты переноса (дискретности), поэтому на протяжении каждого этапа исследований процесса выщелачивания эти величины должны быть постоянными. Дискретность переноса пульпы может составлять в среднем 36–48 ч. Вторая емкость заполняется посредством многократного переноса равных объемов пульпы (ΔV) из первого сосуда; в первый же сосуд после каждого отлива пульпы вносят равный объем свежей пульпы (ΔV). После заполнения второго сосуда до заданного объема (V_2) пульпу из нее (ΔV) переносят в третий сосуд; после этого из первого сосуда равный объем пульпы переносят во второй, а в первый добавляют ΔV мл свежей пульпы. После заполнения всего каскада сосудов отлив пульпы ΔV производят из конечной (n) емкости; эта убыль восполняется объемом ΔV_{n-1} , содержащим $\Delta_{q_{n-1}}$ сульфидного концентрата (рис. 4.4). Таким образом производят перемещение пульпы по каскаду сосудов.

Время пребывания пульпы на каждой стадии каскада сосудов определяется по формуле:

$$t_n = \frac{V_n \cdot \tau}{\Delta V} \quad (\text{ч}), \quad (4.7)$$

где V_n — объем пульпы в n -й стадии (мл);
 τ — дискретность переноса пульпы (ч);
 ΔV — объем переносимой пульпы (мл).

Величина, обратная t_n , представляет собой скорость разбавления пульпы (D) на данной стадии каскада емкостей.

$$D = \frac{1}{t_n} \quad (\text{ч}^{-1}). \quad (4.8)$$

Общее время выщелачивания T во всем каскаде емкостей определяется как сумма продолжительности пребывания пульпы в каждой стадии:

$$T = \sum_{i=1}^n t_i \quad (\text{ч}). \quad (4.9)$$

При использовании для выщелачивания емкостей с равным объемом пульпы, т.е. $V_1 = V_2 = \dots = V$, общее время выщелачивания определяют по формуле:

$$T = \frac{V \cdot n \cdot \tau}{\Delta V} \quad (\text{ч}), \quad (4.10)$$

где: V — объем пульпы на одной стадии (мл);
 n — число сосудов в каскаде;
 ΔV — объем переносимой пульпы (мл).

При необходимости можно повысить скорость перемещения пульпы, сокращая частоту ее переноса до 12–24 ч. Увеличивать объем переносимой

пульпы до 0,5 от объема пульпы в емкости не рекомендуется, поскольку это снижает стабильность режима выщелачивания.

В течение всего эксперимента производят отбор проб на химический анализ для определения содержания целевых металлов в твердой и жидкой фазах пульпы. На основании проведенных химических анализов рассчитывают выход твердой фазы и извлечение целевых металлов (мышьяка), серы в твердую и жидкую фазы пульпы на каждой стадии процесса и во всем каскаде аппаратов в целом (см. раздел 4.6).

4.4.3. Бактериальное выщелачивание металлов в непрерывном режиме

Непрерывное многостадийное бактериальное чановое выщелачивание осуществляется в лабораторных условиях, где свежая пульпа постоянно подается при соответствующей скорости в первую емкость и выщелоченный остаток постоянно удаляется из последней емкости.

Установка состоит из каскада 5–10 последовательно соединенных пачуков объемом 2,5 л каждый. Регулируемая подача пульпы осуществляется с помощью эрлифта из контактного чана в первый пачук; в последующие пачуки пульпа перемещается самотеком, аэрация и перемешивание в каждом пачуке осуществляются с помощью специально сконструированного эрлифта [9, 14].

Установка БИЛАФ-1 является более совершенной в конструктивном отношении, что позволяет моделировать на ней промышленные процессы непрерывного чанового бактериального выщелачивания. Установка состоит из каскада трех-пяти последовательно соединенных герметизированных ферментеров емкостью 2–2,5 л каждый с пневмомеханическим перемешиванием пульпы.

Первый ферментер используется для подготовки пульпы. В ферментер подается воздух для аэрации и переноса пульпы, в результате чего в нем создается небольшое избыточное давление. Кроме того, первый ферментер оборудован специальным устройством, опускающим пульпозаборную трубку (рис. 4.5). Пульпа захватывается воздухом и переносится по пульпозаборной трубке в последующий ферментер; этот же воздух используется для аэрации пульпы в ферментерах. Изменяя скорость перемещения пульпозаборной трубки, можно плавно регулировать скорость непрерывной подачи пульпы в последующие ферментеры.

Плавная регулировка скорости подачи пульпы на протоке позволяет осуществить селекцию бактерий с высокой удельной скоростью роста по стадиям выщелачивания при увеличении концентрации тяжелых металлов и кислотности пульпы. В результате сокращается время выщелачивания целевого металла.

При укрупненно-лабораторных испытаниях в непрерывном режиме сокращение времени выщелачивания достигается путем плавного нарастания скорости потока, добавлением в пачуки различных веществ-модификаторов, подачи CO_2 и т.п. Кроме того, осуществляется полный цикл переработки исследуемого сульфидного концентрата, включая регенерацию

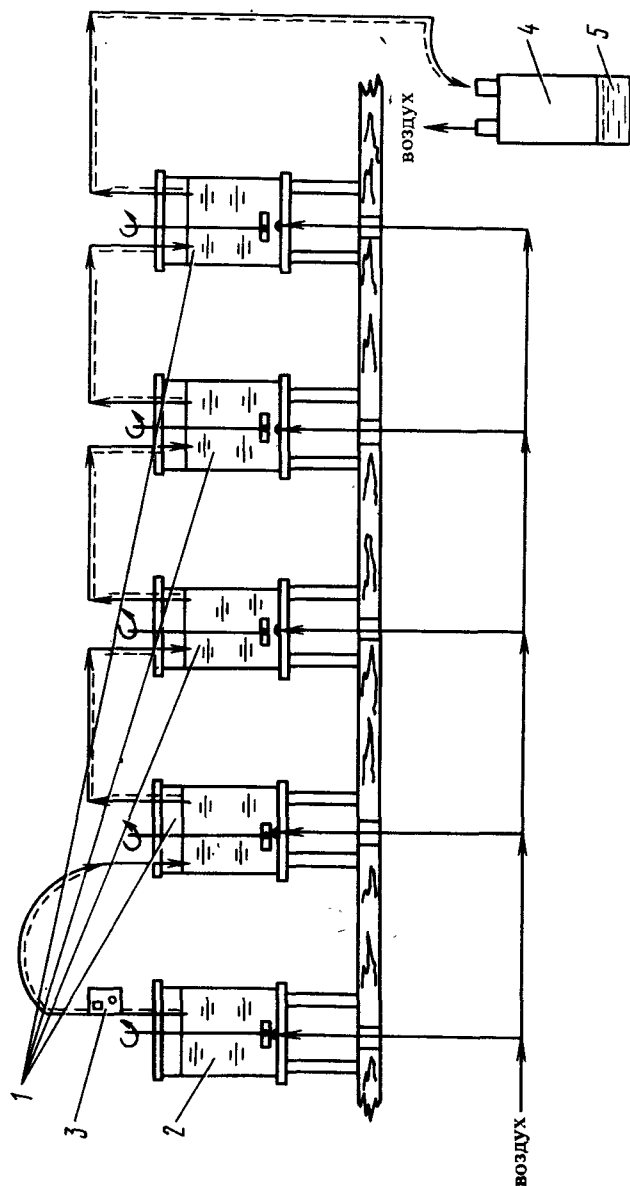


Рис. 4.5. Установка типа БИЛАФ-1 (ИНМИ АН СССР):
1 — ферментеры для выщелачивания; 2 — контактный ферментер; 3 — пульпоза-
дающее устройство; 4 — приемная емкость для пульпы; 5 — пульпа
↓ — передвижение пульпы

растворов после выщелачивания, лабораторную плавку остатков или цианирование, оценивается удельный расход реагентов и т.п.

Ниже приводится описание методики проведения экспериментов по бактериальному выщелачиванию на установке БИЛАФ-1.

В первом ферментере на сульфидном концентрате в периодическом режиме выращивается культура *T. ferrooxidans*. Минимальный объем пульпы в ферментере, при котором происходит ее перемешивание и аэрация, составляет около 0,5 л.

После получения удовлетворительных результатов химического и физического анализов жидкой и твердой фаз пульпы из контактного чана в первый ферментер устанавливают проток пульпы 10 мл/ч. После заполнения первого ферментера до заданного объема пульпа начинает поступать в последующие ферментеры. После стабилизации всех основных параметров процесса (рН, ОВП, биомасса, ее активность, концентрация тяжелых металлов в растворе и т.п.) скорость потока можно увеличить на 15–20%. Дальнейшее увеличение скорости потока допустимо только после достижения стабильных результатов процесса.

В качестве посевного материала для первого ферментера используют трех–пятисуточную культуру, ранее адаптированную к исследуемому сульфидному концентрату и выращенную в периодическом или отливно-доливном режиме при той же плотности пульпы, при которой намечено провести эксперименты.

Таким образом, получают 500 мл пульпы (16,7% тв.). Ее вносят в контактный реактор, содержащий 1–2 л свежей пульпы при той же плотности. Пульпу постепенно восполняют по мере потребления. Уровень пульпы не должен опускаться ниже уровня, обеспечивающего ее перемешивание.

Время пребывания пульпы на каждой стадии (время выщелачивания t_n) определяют по формуле:

$$t_n = \frac{V_n}{d} \quad (4.11)$$

где V_n — объем пульпы на данной стадии (мл);
 d — скорость потока (мл/ч).

Скорость разбавления пульпы на данной стадии определяют по формуле:

$$D = \frac{1}{t_n} = \frac{d}{V_n} \quad (\text{ч}^{-1}) \quad (4.12)$$

Общее время выщелачивания T во всем каскаде реакторов определяют по формуле:

$$T = \sum_{i=1}^n t_n = \frac{\sum V}{d} \quad (4.13)$$

где $\sum V$ — общий объем пульпы в каскаде реакторов;
 n — количество реакторов в установке.

Для контроля и управления процессом выщелачивания производят отбор проб пульпы из каждого реактора. По результатам проведенных химических анализов производят расчет распределения компонентов в твердую и жидкую фазы пульпы.

4.5. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СХЕМЫ ПЕРЕРАБОТКИ СУЛЬФИДНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ

Как уже отмечалось выше, при укрупненно-лабораторных испытаниях технологии чанового бактериального выщелачивания проводятся исследования, позволяющие определить параметры всей схемы переработки сульфидного концентрата (табл. 4.2). Схема переработки каждого типа сульфидного концентрата зависит от задач переработки, вещественного состава исходного концентрата и требований к получаемым продуктам, а также от особенностей гидрометаллургии цветных и редких металлов [4, 9]. Бактериальное выщелачивание является основным звеном в комбинированных обогатительно-гидрометаллургических схемах, состоящих из нескольких взаимосвязанных циклов. Основные из них рассмотрены ниже (рис. 4.6.).

Подготовительные операции включают измельчение (доизмельчение) концентрата до заданной крупности, удаление из него примесей и/или концентрирование целевых металлов (минералов) с помощью различных обогатительных и гидрометаллургических методов.

Например, для удаления пирита из полиметаллических руд их подвергают флотационному обогащению с получением коллективного медно-цинкового и пиритного концентратов, при извлечении 92,1% меди и 90,8% цинка (рис. 4.7, табл. 4.4).

При переработке руд и концентратов, содержащих в значительном количестве карбонатные минералы, необходимо провести их предварительную обработку серной кислотой. Предварительная сернокислотная обработка может применяться, например, для удаления перед бактериальным выщелачиванием растворимых соединений меди [9].

Бактериальное выщелачивание может проводиться в одну или несколько стадий. Так, для переработки халькопиритного концентрата предложена трехстадийная схема (рис. 4.8) [9], а золотомышьякового концентрата — двухстадийная схема, включающая классификацию остатка первой стадии бактериального выщелачивания с последующим довыщелачиванием крупной фракции (вторая стадия) (рис. 4.9). Одним из способов повышения комплексности использования сульфидного сырья является выделение образующейся в процессе бактериального выщелачивания элементной серы, выход которой может составлять до 75% от первоначального количества сульфидной серы [15].

Переработка остатков бактериального выщелачивания в зависимости от требований, предъявляемых к получаемым концентратам, может включать флотационное обогащение, химическое выщелачивание, цианирование, плавку и т.п. (рис. 4.10, табл. 4.5). Например, в случае золотомышья-

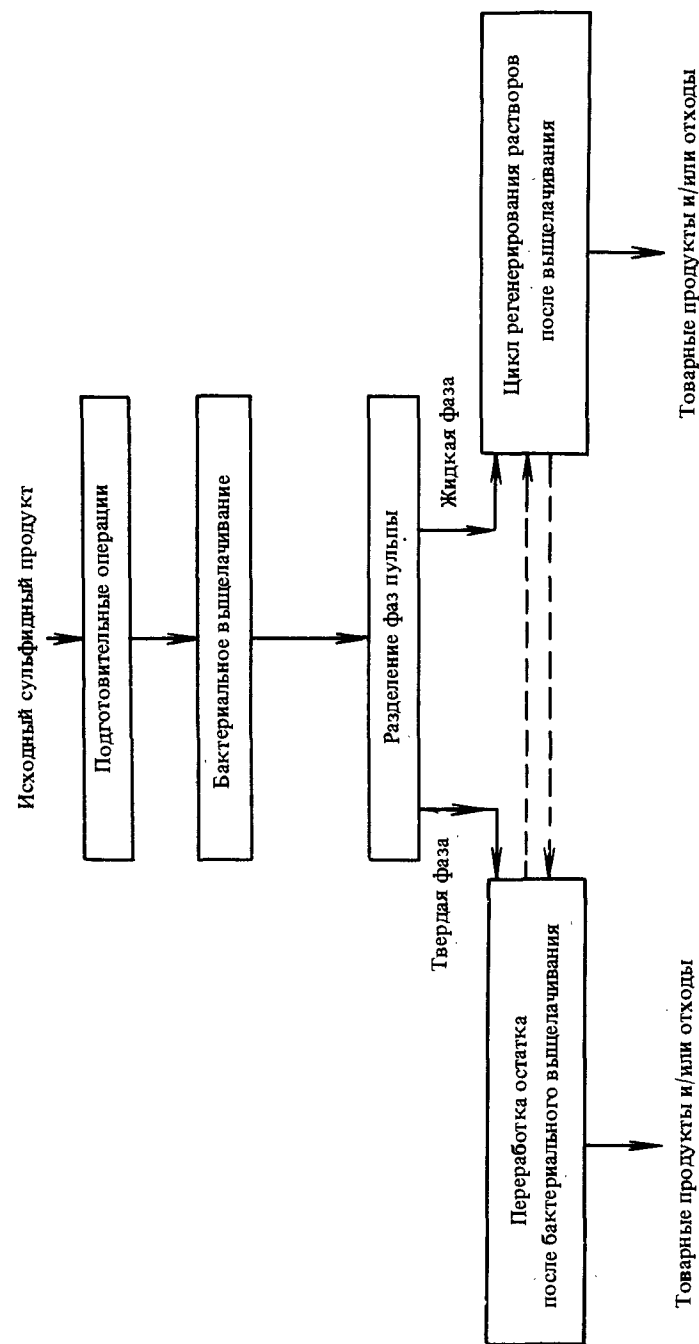


Рис. 4.6. Принципиальная схема переработки сульфидных продуктов с применением метода бактериального выщелачивания

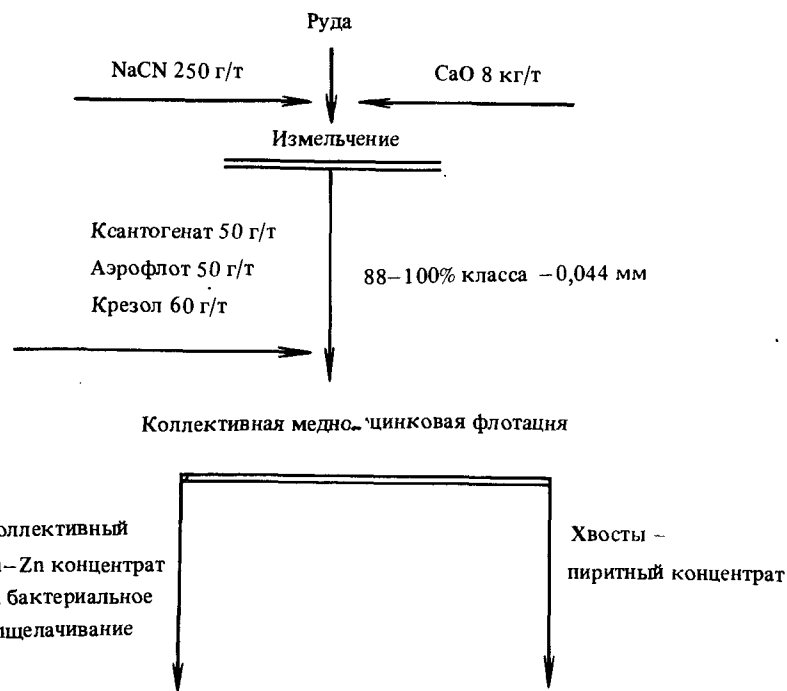


Рис. 4.7. Подготовительные операции при переработке медно-цинковых руд методом бактериального выщелачивания [9]

кового концентрата остаток может подвергаться обработке CaO до pH 9–12 и последующему цианированию с получением золотосодержащего раствора и отвального остатка [9]. В случае высокого содержания золота в остатке его подвергают плавке. При этом из остатка необходимо предварительно удалить окисленные соединения мышьяка, для чего применяют различные схемы химического выщелачивания (рис. 4.11) [9].

Регенерация растворов бактериального выщелачивания производится с целью получения товарных и/или отвальных продуктов и оборотных растворов. Схемы регенерации растворов весьма разнообразны и могут включать десятки операций осаждения, фильтрации, промывки и т.п. (рис. 4.12) [9].

В случае арсенопиритных концентратов возврат биомассы может быть осуществлен с жидкой фазой пульпы, так как концентрация мышьяка и железа в растворе определяется только величиной pH пульпы [9]. Необходимо отметить, что схемы переработки остатков бактериального выщелачивания и регенерации растворов могут быть сопряжены. Например, для промывки остатка выщелачивания могут быть использованы растворы из цикла регенерации, где производится осаждение металлов из этих раство-

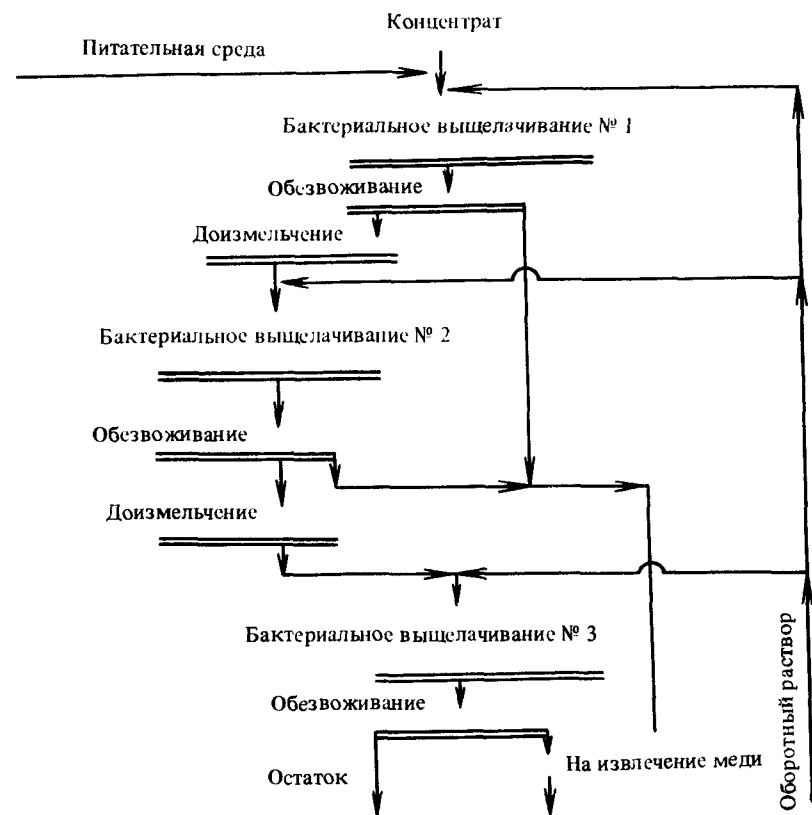


Рис. 4.8 .Принципиальная схема трехстадийного бактериального выщелачивания халькопиритного концентрата

Таблица 4.4
Технологические показатели обогащения пробы медно-цинковой руды

Продукт	Выход, %	Содержание, %			Извлечение, %		
		Cu	Zn	S	Cu	Zn	S
Коллективный Cu-Zn концентрат	32,73	8,15	8,6	37,1	92,1	90,8	31,0
Пиритный концентрат	67,27	0,36	0,44	42,1	7,9	9,2	69,0
Исходная руда	100,00	2,80	3,10	39,17	100,0	100,0	100,0

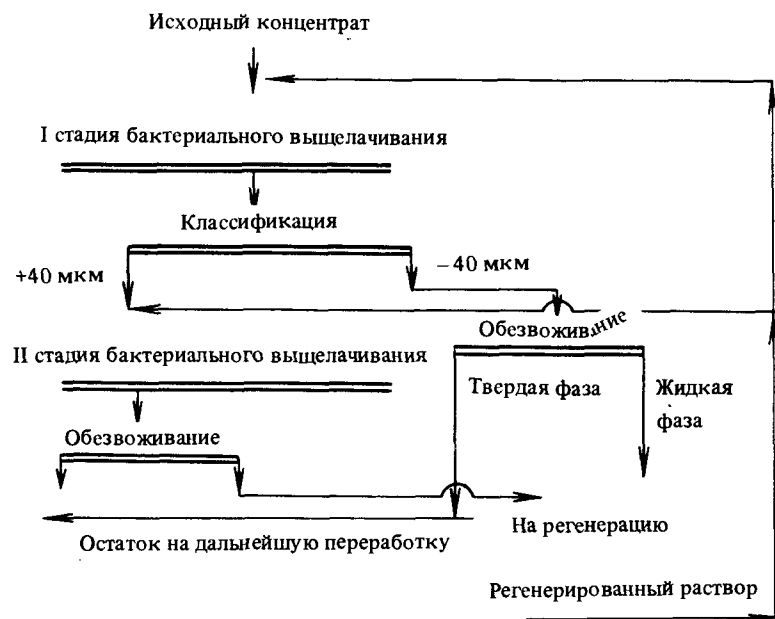


Рис. 4.9. Принципиальная схема двухстадийного бактериального выщелачивания золото-мышьякового концентрата с межстадийной классификацией остатка

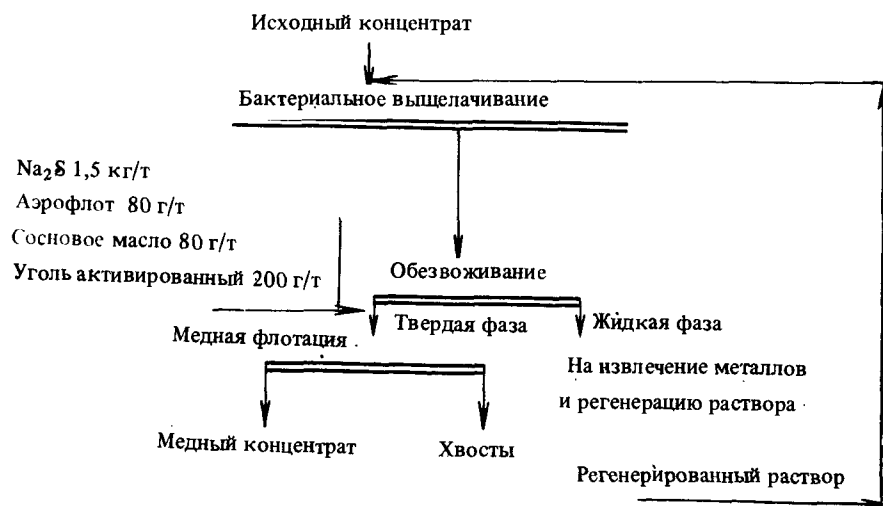


Рис. 4.10. Фрагмент принципиальной схемы переработки медно-цинковых руд



Рис. 4.11. Принципиальная схема двухстадийной противоточной промывки остатка бактериального выщелачивания арсенопиритного концентрата

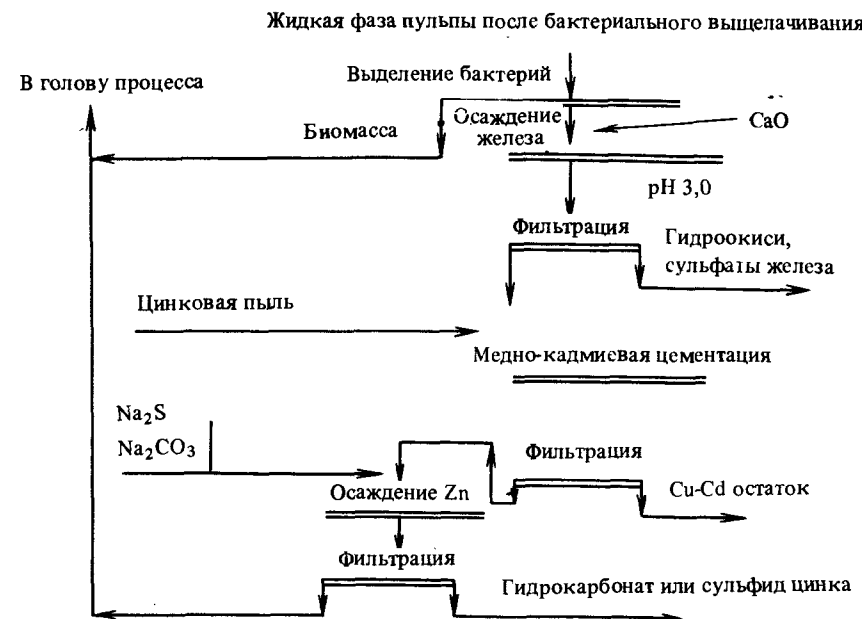


Рис. 4.12. Схема извлечения металлов из растворов после бактериального выщелачивания медно-цинковых концентратов

Таблица 4.5

Показатели флотации меди из остатка бактериального выщелачивания
медно-цинкового концентрата

Продукт	Выход, %	Содержание, %		Извлечение, %	
		Cu	Zn	Cu	Zn
Медный концентрат	41,5	19,4	3,22	89,5	74,3
Хвосты	58,5	1,64	0,79	10,5	25,7
Остаток выщелачивания (питание флотации)	100,0	9,0	1,8	100,0	100,0

4.6. ПОЛУПРОМЫШЛЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ЧАНОВОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ

Полупромышленные испытания проводятся в непрерывном режиме культивирования бактерий, когда создаются наиболее благоприятные условия для их жизнедеятельности. Для создания непрерывного потока пульпы устанавливается каскад аппаратов для выщелачивания. Конструкция аппарата типа „пачук“ представлена на рис. 4.13 [9, 14].

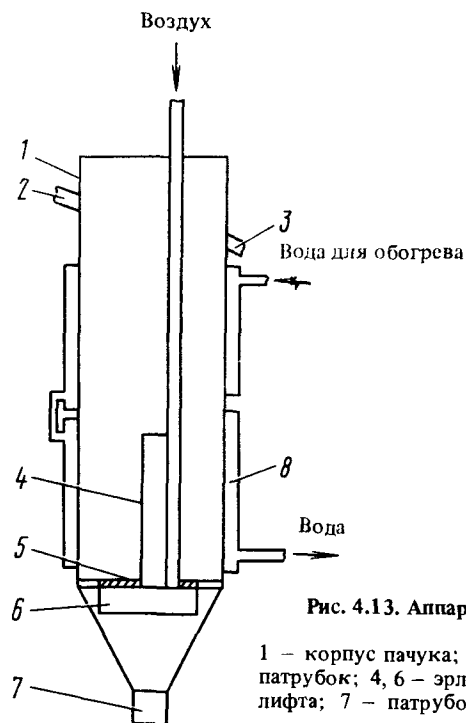


Рис. 4.13. Аппарат типа пачука для бактериального выщелачивания:

1 — корпус пачука; 2 — питающий патрубок; 3 — сливной патрубок; 4, 6 — эрлифт; 5 — крестовина для крепления эрлифта; 7 — патрубок для разгрузки пачука; 8 — теплообменник для обогрева пульпы

Начальный этап испытаний заключается в стабилизации параметров выщелачивания. Он включает подготовку необходимого количества бактериальной культуры, выращенной на сульфидном концентрате и адаптированной к условиям выщелачивания. Культивирование бактерий начинается в первом аппарате каскада, куда подают сульфидный концентрат (Т:Ж = 1:20–1:15) и питательную среду (см. 4.4.3). Активность окислительных процессов в аппарате определяют по количеству окисного железа, по величине pH и Eh. Проводят также постоянный контроль за количеством бактерий и их активностью. При достижении удовлетворительных результатов пульпа подается во второй аппарат каскада с минимальной скоростью потока D, равной, например, $0,05 \text{ ч}^{-1}$. При этой скорости потока заполняется весь каскад аппаратов. При этом непрерывно проводят контроль основных параметров процесса.

Ввод процесса в режим считается завершенным при стабилизации основных параметров процесса (pH, Eh, плотности пульпы, ионного состава жидкой фазы пульпы, количества бактерий и их активности).

В непрерывном режиме выщелачивание может осуществляться прямоточным или противоточным способом. При непрерывном прямоточном способе выщелачивания сульфидный концентрат и жидкая фаза поступают одновременно в первый аппарат, проходят последовательно все аппараты каскада и выгружаются из последнего аппарата. В случае противоточного выщелачивания сульфидный концентрат и жидкая фаза движутся навстречу друг другу. При прямоточном выщелачивании в аппаратах постепенно происходит накопление ингибирующих ионов и адаптация к ним бактерий. Поэтому активность бактериальных растворов не снижается. По противоточной схеме бактерии попадают сразу в неблагоприятные условия в среду с высокой концентрацией ингибиторов, и должно пройти некоторое время для их адаптации к этим условиям, что значительно снижает их активность в начале процесса. Кроме того, осуществление противоточного режима связано с необходимостью разделения твердой и жидкой фаз после каждого аппарата, что значительно усложняет весь технологический процесс.

Основными аппаратами установки бактериального выщелачивания (рис. 4.14) были пачуки объемом $0,2 \text{ м}^3$, расположенные каскадно двумя параллельными рядами по пять штук в каждом ряду (3 и 5). В зависимости от времени выщелачивания, определяемого характером перерабатываемого концентрата, используются либо оба ряда пачуков (время выщелачивания 120–140 ч) или один ряд (время выщелачивания 60–70 ч) при производительности установки по твердому 60–75 кг/сутки (300–400 л/сутки по пульпе). Последний пачук в одном ряду (10) не соединен с остальными и служит для получения и регенерации биомассы, подаваемой в голову процесса через чан 2. В этот же чан подается измельченный концентрат, который перемешивается с раствором при определенном значении pH и температуры.

В пачуках температура поддерживается автоматически на уровне 28–32°C циркуляцией горячей воды в рубашках. Пульпа по пачукам движется самотеком через сливные патрубки. Перемешивание пульпы и ее аэрация

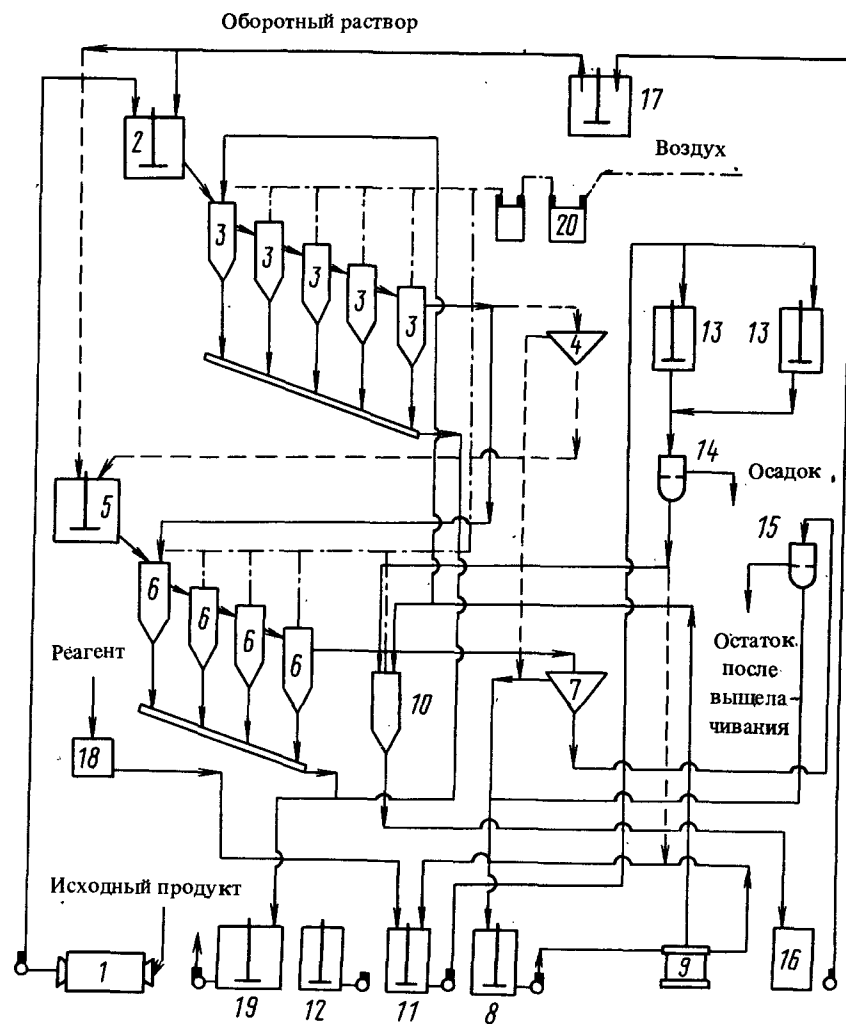


Рис. 4.14. Схема цепи аппаратов полупромышленной установки бактериального выщелачивания

осуществляются воздухом, подаваемым в эрлифты воздуходувкой при давлении $1,1 \cdot 10^5 - 1,2 \cdot 10^5$ Па.

Перед выщелачиванием исходный концентрат при необходимости измельчают в мельнице 1, а затем вместе с оборотным раствором из сборника 10 закачивают насосом в контактный чан 2.

Значение pH в этом чане поддерживается на уровне не выше 2,5 добавлением серной кислоты. Для обеспечения непрерывного и равномерного питания пачуков в контактном чане поддерживается 1,5–2-х суточный запас

пульпы. Из этого контактного чана, емкость которого составляет $0,9 \text{ м}^3$, пульпа эрлифтом подается непрерывно в первый пачук, откуда самотеком — во все остальные пачуки в этом каскаде.

Если время выщелачивания концентрата в этих пачуках достаточно, то из последнего пачука пульпа поступает на сгущение в конус, откуда сгущенный продукт идет на фильтрование, а слив конуса и фильтрат — на операцию осаждения металлов и регенерацию растворов. Эти растворы могут также без регенерации подаваться в голову процесса.

При необходимости более длительного выщелачивания пульпу из пятого пачука подают эрлифтом в первый пачук второго каскада аппаратов. Пульпа из последнего пачука этого каскада поступает на сгущение в обезвоживающий конус 4 или 7, сгущенный продукт из которого перекачивается на вакуум-фильтр 15. Остаток после фильтрования является готовым выщелоченным продуктом и направляется на дальнейшую переработку. Фильтрат соединяется со сливом конуса и направляется в чан 8, а затем в чан 11, где осуществляется очистка растворов от металлов и частично от сульфат-ионов путем подачи „известкового молока” до pH 3–3,1, которое готовится в смесителе 18. Пульпу с осадком перекачивают в чан-отстойник 13, где раствор декантируют, а осадок фильтруют на нутч-фильтре 14. Раствор и фильтрат поступают в пачук 10 для регенерации и последующего использования в процессе выщелачивания. Регенерированный раствор из пачука 10 подают в чаны для оборотных растворов 16 и 17, а из них — на приготовление пульпы в чан 2. В состав установки для выделения из раст-

Таблица 4.6

Перечень оборудования полупромышленной установки бактериального выщелачивания

Наименование	Объем, м^3	Количество
1. Мельница шаровая	—	1
2. Контактный чан	0,9	1
3. Пачук для выщелачивания	0,2	5
4. Конус обезвоживающий	0,3	1
5. Контактный чан	0,9	1
6. Пачук для выщелачивания	0,2	4
7. Конус обезвоживающий	0,3	1
8. Чан для выщелачивающих растворов	0,5	1
9. Сепаратор для выделения биомассы	—	1
10. Пачук для растворов с биомассой	0,2	1
11. Чан для очистки растворов	0,5	1
12. Чан резервный	0,5	1
13. Чан-отстойник	0,5	2
14. Вакуум-фильтр	0,06	1
15. То же	0,04	1
16. Чан для оборотных растворов	0,5	1
17. То же	0,9	1
18. Чан для разгрузки пачуков	0,9	1
19. Мешалка	0,03	1
20. Компрессор водокольцевой	—	2

воров биомассы включен сепаратор (9). Полученная биомасса может направляться сразу для приготовления пульпы в чан 2 или в пачук 10 для регенерации. После сепарации биомассы производят осаждение выщелоченных металлов в чане 11. При разгрузке установки пульпу из пачуков выпускают в чан 19 для нейтрализации и обезвреживания.

Установка позволяет вести процесс в две стадии с промежуточной заменой раствора (пунктирная линия), для чего пульпу из пачука 5 подают в конус 4. Слив конуса направляют в чан 8 для растворов, а сгущенный продукт перекачивают в контактный чан 5, где он смешивается с раствором, и пульпа подается на вторую стадию выщелачивания.

На установке автоматически регулируется температура пульпы и измеряется значение pH.

Перечень и краткая характеристика основного оборудования полупромышленной установки бактериального выщелачивания приведены в табл. 4.6. Оборудование установки может быть изготовлено из стали X18H10T (кислотостойкой) или титана.

4.6.1. Отделение растворов от твердых остатков

Пульпа после бактериального выщелачивания представляет собой суспензию, в которой твердые частицы имеют крупность от 0,5 до 100 мкм. Кроме этих частиц, в пульпе присутствуют более тонкие частицы крупностью 0,1–0,5 мкм, а также коллоидные частицы гидратов окислов железа, арсенатов и др., крупность которых не превышает 0,1 мкм, редко 1 мкм. Жидкая фаза пульпы имеет сложный химический состав, в ней, помимо различных химических соединений (до десятков граммов на литр), содержатся бактериальные клетки и органические продукты метаболизма. Большое количество клеток находится на поверхности твердых частиц. Все это в значительной мере влияет на процессы разделения твердой и жидкой фаз.

В лабораторных условиях, когда имеют дело с небольшими навесками материала, отделение фаз осуществляют фильтрованием суспензии на бумажном фильтре под вакуумом. Как правило, для этой цели применяют воронки Бюхнера. Окончательное удаление влаги из остатка после выщелачивания проводят сушкой.

В условиях непрерывного процесса бактериального выщелачивания разделение фаз должно быть также непрерывным. Оно проводится обычно в две стадии: первая стадия — сгущение и вторая — фильтрование или центрифугирование.

Сгущение пульпы производят в аппаратах, которые называются отстойниками, обезвоживающими конусами или сгустителями. Периодически действующие отстойники — это емкости или бассейны различного объема без перемешивающих устройств с нижней разгрузкой сгущенного материала и боковым сливом осветленного раствора.

Эти отстойники можно применять в том случае, когда процесс бактериального выщелачивания проводится в периодических условиях. Во всех

остальных случаях применяют сгустительные аппараты непрерывного действия, в которых расслоение пульпы осуществляется под действием силы тяжести. Это пирамидальные отстойники, сгустительные или обезвоживающие воронки (конусы) и радиальные сгустители.

Для определения необходимой площади сгущения вначале определяют скорость осаждения твердых частиц. Для этого пробу пульпы определяют

Рис. 4.15. Цилиндр для измерения скорости осаждения минеральных частиц

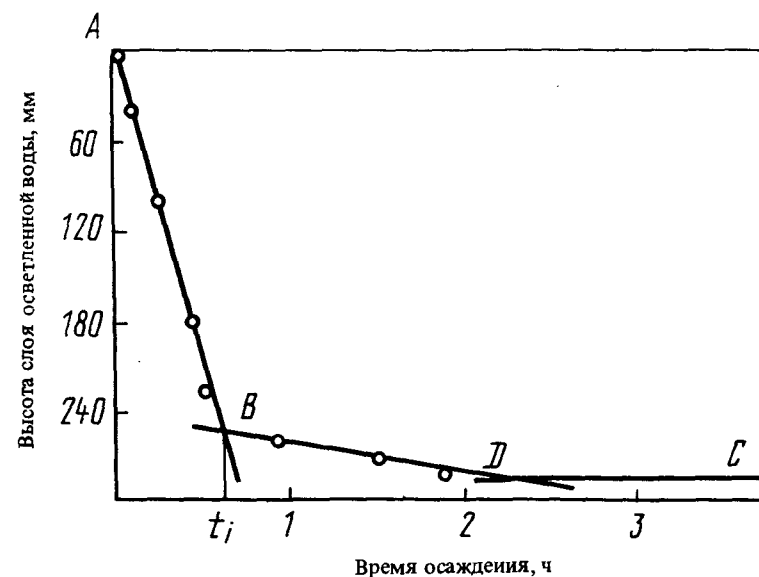
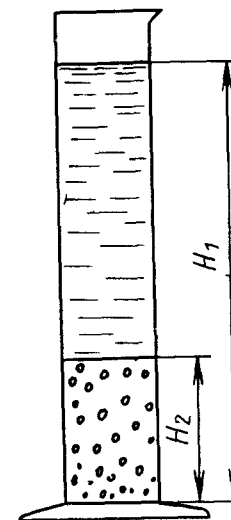


Рис. 4.16. Определение скорости осаждения пульпы в цилиндре

ного объема помещают в двухлитровый цилиндр, с внешней стороны которого наклеена вертикально узкая полоска миллиметровой бумаги. Пульпу в цилиндре перемешивают многократным переворачиванием цилиндра, который затем ставят на стол и включают секундомер. Как только в цилиндре появляется заметная граница между осаждающимся твердым и слоем осветленного раствора, на миллиметровой бумаге отмечают уровень осаждаемой оседающей массы твердого и отмечают по секундомеру продолжительность образования этого слоя. Затем скорость опускания границы твердого фиксируют через определенные промежутки времени и делают отметки на миллиметровой бумаге: сначала время оседания отмечают каждые несколько минут, а затем скорость оседания замедляется, и время отмечают каждые несколько часов. Продолжительность всего опыта должна быть не менее 24 ч. По результатам измерений строят график (рис. 4.15, 4.16), на котором по оси ординат откладывают высоту слоя осветленного раствора, а по оси абсцисс — время отстаивания в часах. Через точки, полученные на графике, проводят три прямые, которые соответствуют трем зонам сгущения в стустителе. Прямая АВ характеризует скорость свободного падения или скорость осветления, прямая BD характеризует зону уплотнения, и прямая DC соответствует зоне сжатия осадка. Переход из зоны осветления в зону сжатия отмечен точкой В, в которой пульпа при определенном времени отстаивания занимает объем V_1 , при отношении $Ж:Т = R_1$ (вес/вес). В точке D пульпа после отстаивания займет объем V_2 при $Ж:Т = R_2$. Значения объемов V_1 и V_2 определяют непосредственно по отметкам на цилиндре, тогда:

$$R_1 = \frac{V_1 \cdot \delta - P}{P \cdot \delta} \delta_{ж} \quad (4.14)$$

$$R_2 = \frac{V_2 \cdot \delta - P}{P \cdot \delta} \delta_{ж} \quad (4.15)$$

где δ — плотность твердого, г/см³;
 $\delta_{ж}$ — плотность раствора, г/см³.

Если высота ($H_1 - H_2$) слоя чистого раствора в точке В выражена в метрах за t_1 (24 ч), то скорость оседания равна:

$$V = \frac{24 (H_1 - H_2)}{t_1} \quad (4.16)$$

Тогда необходимая площадь сгущения будет равна:

$$S = \frac{R_1 - R_2}{\delta_{ж} \cdot V \cdot K_1} \quad (\text{м}^2 \text{ сутки}) / t, \quad (4.17)$$

где K_1 — коэффициент запаса, учитывающий неравномерность работы аппарата, равный 0,7–0,8.

По формуле (4.17) можно определять необходимую площадь сгущения как пирамидальных отстойников, так и радиальных стустителей.

Сгустительная воронка или конус представляет собой конический резервуар с углом 60°, вокруг которого расположен сливной кольцевой желоб. В центре конуса установлена труба для подачи исходного питания, в нижней части конуса имеется патрубком с краном для разгрузки сгущенного продукта.

Определение диаметра сгустительной воронки производится с учетом того, что скорость восходящего потока пульпы в кольцевом пространстве воронки не должна превышать скорости осаждения наиболее мелких частиц, которая определяется обычно по формуле Стокса для частиц менее 0,1 мм:

$$V_c = \frac{54,5 \cdot d^2 (\rho - 1)}{\mu} \quad \text{см/с}, \quad (4.18)$$

где d — диаметр частицы, см;
 ρ — плотность частицы, г/см³;
 μ — вязкость воды (0,02 пз).

Производительность воронки (конуса) по сливу будет:

$$Q_{сл} = \frac{\pi \cdot (D^2 - d^2)}{4K} V_c \quad \text{м}^3/\text{ч}, \quad (4.19)$$

откуда диаметр воронки:

$$D = \sqrt{\frac{4K \cdot V_{сл}}{\pi \cdot V_c} + d^2} \quad \text{м}, \quad (4.20)$$

где D — диаметр воронки, м;
 d — диаметр центральной трубы, м;
 V_c — скорость осаждения частиц, м/ч;
 K — коэффициент, равный 0,5–0,6.

Цилиндрические стустители являются наиболее производительными и удобными аппаратами для первой стадии обезвоживания. Они должны быть выполнены в кислотостойком исполнении. Плотность сгущенного продукта в них составляет обычно 50–60%.

При такой плотности выщелоченный продукт может уже направляться на фильтрование. На установках небольшой производительности фильтрование обычно осуществляется на вакуум-фильтрах и рамных пресс-фильтрах. И те, и другие фильтры периодического действия. Вакуум-фильтры имеют простое устройство, удобны в обслуживании, снабжены устройствами для промывки осадка. Они выпускаются в кислотостойком исполнении. Плотность отфильтрованной пульпы обычно равняется 50–60% твердого.

Рамные пресс-фильтры могут также работать с промывкой осадка. Особенно они приспособлены для фильтрации суспензии с малым содержанием тонкодисперсных частиц (шламов, осадков гидратов).

На установках большой производительности необходимо устанавливать

вакуум-фильтры непрерывного действия — барабанные или дисковые. Величина вакуума при фильтровании обычно составляет 500–650 мм рт.ст. Отдувка остатка осуществляется созданием избыточного давления 0,5–1 кгс/см².

4.6.2. Выделение металлов из растворов

В чановом бактериальном процессе выщелачивания использование оборотных растворов является одним из путей интенсификации процесса, так как позволяет многократно использовать адаптированные к пульпе клетки бактерий. Эта ступень заключается в удалении элементов из растворов и с выделением их в товарную продукцию. Таким образом переработка растворов после отделения их от твердой фазы должна включать удаление металлов из растворов, выделение активной биомассы и возврат ее в процесс.

Растворы при выщелачивании концентратов имеют сложный химический состав. Так, при выщелачивании золотомышьяковых концентратов содержание мышьяка в растворе может достигать 7–10 г/л, железа — 15–20 г/л. При выщелачивании медно-цинковых концентратов в растворе может содержаться до 2–4 г/л меди и до 20–25 г/л цинка.

Перед возвращением растворов в процесс необходимо выделить из них выщелоченные металлы, например, в виде труднорастворимых соединений.

4.6.3. Аппараты для чанового бактериального выщелачивания

Для бактериального выщелачивания обычно применяют такие аппараты, которые могут обеспечить хороший контакт между раствором и твердым субстратом в течение необходимого времени при оптимальных для выщелачивания условиях. К таким условиям относятся эффективное перемешивание, необходимая степень аэрации, возможность поддержания необходимой температуры и обеспечение большой производительности. Кроме того, эти аппараты должны быть достаточно простыми, дешевыми, а также надежными в работе, оснащены приборами для автоматического контроля и регулирования процесса.

При определении производительности аппарата, работающего в режиме периодического выщелачивания, учитывают требования к степени выщелачивания металла или к содержанию его в твердом остатке. При этом необходимое время выщелачивания определяют по кинетической кривой, которая выражает зависимость содержания выщелачиваемого металла в твердой фазе от времени. Зная полезную емкость аппарата V и продолжительность выщелачивания τ , можно определить производительность аппарата по пульпе:

$$W = \frac{V}{\tau}, \quad (4.21)$$

где V — эффективная емкость аппарата (мл);

τ — время выщелачивания.

Если известна полезная емкость аппарата и требуемая производительность по пульпе, то среднее время пребывания ее в аппарате можно определить по формуле:

$$\tau_{\text{ср}} = \frac{V}{W}. \quad (4.22)$$

В реакторах, работающих в непрерывном режиме, поступающая пульпа перемешивается достаточно быстро, и во всем объеме аппарата состав пульпы будет одинаков, однако время пребывания для некоторых частиц меньше, чем значение, данное в уравнении (4.22). Для снижения выхода из аппарата твердых частиц при недостаточном для выщелачивания времени аппараты соединяют последовательно в прямоточный каскад.

В качестве аппаратов для проведения процесса бактериального выщелачивания могут применяться различные реакторы и чаны с механическим или с пневматическим перемешиванием. Простейшим из этих аппаратов является пачук — аппарат с пневматическим зрлифтным перемешиванием, схема которого приведена на рис. 4.13. Пачук представляет собой цилиндрическую колонну с коническим днищем. В центре его установлена труба диаметром 1/5:1/10 диаметра пачука. В нижнюю часть этой трубы подается сжатый воздух, который перемешивается с пульпой и в виде пульповоздушной смеси поднимается по трубе. При этом происходит перемешивание пульпы и ее аэрация. Однако аэрация пульпы в пачуке недостаточна, т.к. крупные пузырьки воздуха быстро проходят через слой пульпы, не насыщая ее кислородом. Последнее является особенно важным при выщелачивании металлов из сульфидных концентратов в плотной пульпе при большой биомассе.

В этом отношении более эффективны аппараты с механическим перемешиванием и одновременной принудительной подачей воздуха. К этим аппаратам относятся мешалки и чаны различных конструкций. Механические мешалки бывают лопастные, пропеллерные и турбинные. Лопастные мешалки имеют, как правило, небольшое число оборотов и создают ламинарное движение пульпы, они хорошо перемешивают пульпу с тонкоизмельченными частицами, но плохо обеспечивают ее аэрацию, поэтому эти мешалки лучше применять на стадии подготовки пульпы к выщелачиванию. Значительно большее число оборотов имеют пропеллерные мешалки (более 500 об/мин), они способны перемешивать материалы грубого измельчения. Еще большее число оборотов имеют турбинные (импеллерные) мешалки, которые вызывают турбулентное движение пульпы. Они могут хорошо работать на грубоизмельченных материалах при большой плотности пульпы.

Однако в механических аппаратах недостаточна степень аэрации, поэтому в них необходимо дополнительно подавать воздух, который эффективно диспергируется мешалкой и равномерно распределяется по всему объему аппарата. Подача воздуха в них может осуществляться через специальные устройства — диффузоры, устанавливаемые в днищах, или через трубы, уложенные на дне аппарата.

В качестве аппаратов для выщелачивания металлов можно использовать обычные кислотостойкие химические реакторы, в которые должен также подаваться дополнительно воздух.

Все аппараты должны иметь устройства для обогрева находящейся в них пульпы. Ими могут быть водяные рубашки, как это показано на рис. 4.13 или другие теплообменные устройства, устанавливаемые в рабочем объеме аппарата. Поддержание необходимой температуры пульпы должно осуществляться автоматически.

4.6.4. Контроль процесса бактериального выщелачивания

Для правильного ведения процесса бактериального выщелачивания все основные технологические, химические и микробиологические параметры должны постоянно контролироваться.

Технологический контроль сводится к определению крупности исходного материала, плотности пульпы, скорости подачи пульпы, ее температуры, кислотности, расхода воздуха.

Крупность подаваемого на выщелачивание концентрата или продукта определяется ситовым анализом, плотность пульпы определяется взвешиванием пробы определенного объема.

Температура и кислотность пульпы и оборотных растворов определяются автоматически. Один или два раза в смену измеряют окислительно-восстановительный потенциал жидкой фазы в выщелачивающих аппаратах и контактных чанах. Расход воздуха измеряют ротаметрами при подаче его в выщелачивающие аппараты.

При химическом контроле определяют химический состав исходного концентрата или продукта, а также твердых продуктов выщелачивания. Для оперативного контроля полноты и скорости выщелачивания определяют содержание выщелачиваемого металла в растворе, например, меди или цинка в контактном чане и аппаратах для выщелачивания. Определение содержания выщелачиваемого металла производят, как правило, в твердой и жидкой фазах. Наряду с этим также должно осуществляться определение содержания в растворах двух- и трехвалентного железа, входящих в состав большинства сульфидов. Кроме того, по содержанию двухвалентного железа в жидкой фазе можно судить об активности происходящих окислительных бактериальных процессов. Отсутствие двухвалентного железа в растворе свидетельствует о том, что бактерии имеют высокую окислительную активность. При определении таких элементов, как железо и мышьяк, следует учитывать, что они в зависимости от кислотности среды могут присутствовать не только в растворенной форме, но и в осадке в виде окисленных соединений. Определение этих форм производят после подкисления раствора и их перевода в растворенное состояние.

При микробиологическом контроле определяют количество биомассы (количество клеток в единице объема) и активность бактерий в растворе или в пульпе. Определение биомассы можно проводить, наряду с методом предельных разведений, экспрессным центрифужным методом или

по белку, описанными в главе 3. Определение биомассы и ее активности производят не только в контактных чанах и аппаратах для выщелачивания, но и в оборотных растворах.

Результаты измерений всех параметров технологического процесса фиксируются в специальном сменном журнале.

В табл. 4.8 приведены основные контролируемые параметры процесса бактериального выщелачивания, место контроля и рекомендуемая частота их замера.

Т а б л и ц а 4.8

Основные контролируемые параметры
процесса бактериального выщелачивания

Параметры	Место контроля	Частота замера
Распределение частиц по крупности концентрата	Слив классификатора	Непрерывно или 1-2 раза в сутки
Производительность установки	Питание пачука 1	То же
Плотность пульпы	Контактные чаны, пачуки	То же
Кислотность	То же	То же
Температура	То же	То же
Биомасса	Контактные чаны, пачуки, оборотный раствор	1 раз в смену
Активность раствора	То же	То же
Содержание основных компонентов в исходном концентрате	Питание пачука 1	1 раз в сутки
Содержание основных компонентов в растворе	Контактные чаны, пачуки, оборотные растворы	То же
Содержание двух- и трехвалентного железа	То же	1 раз в смену
Содержание основных компонентов в конечных продуктах	Остатки фильтров, оборотные растворы	То же

4.6.5. Экономика процесса чанового бактериального выщелачивания

В связи с тем, что процесс чанового бактериального выщелачивания является сравнительно продолжительным (десяtkи часов), требуются большие емкости для выщелачивания. Естественно, это увеличивает капитальные затраты и повышает себестоимость переработки концентратов и, несмотря на явные преимущества его перед некоторыми другими способами, например пирометаллургическими, промышленное применение его должно быть экономически обосновано. Это обоснование производят в сравнении с известными способами, применяемыми в промышленности.

При расчете экономической эффективности метода бактериального выщелачивания следует учесть капитальные затраты на технологическое оборудование, здания и сооружения, эксплуатационные расходы, включа-

ющие стоимость основных реагентов и полное содержание цеха бактериального выщелачивания. Результатом технико-экономического расчета является определение стоимости переработки 1 т концентрата с применением процесса бактериального выщелачивания.

Ниже в качестве примера приведен расчет экономической эффективности бактериального выщелачивания упорного коллективного медно-цинкового концентрата в сравнении с процессом сульфатизирующего обжига с последующим выщелачиванием. Расчет произведен для установки с производительностью 500 тыс. т коллективного концентрата в год по технологии, разработанной в полупромышленных условиях.

Режим работы цеха следующий: непрерывный процесс производства, 330 рабочих дней в году, трехсменная работа.

Капитальные затраты

Необходимое количество оборудования и стоимость приведены в табл. 4.9.

Таблица 4.9

Расчет стоимости технологического и подъемно-транспортного оборудования

Наименование и краткая характеристика оборудования	Количество единиц	Цена за единицу, тыс. руб.	Общая стоимость, тыс. руб.
Контактный чан К4-2	1	20,4	20,4
Пачук для бактериального выщелачивания ($V = 500 \text{ м}^3$)	30	35	1050,0
Сгуститель кислотостойкий П-18К (без чана)	7	13,7	96,0
Насосы 6ПС-6	6	1,2	7,2
Фильтр БОУ-40	2	28,4	56,8
Компрессор К-50-61-2 и двигатель к нему СТД-3200-2	4	79,9	319,6
Вспомогательное оборудование	—	—	150,0
Итого:			1700
Трубопроводы, 10%			170
Металлоконструкции, 10%			170
Монтажные работы, 10%			170
Гуммирование			100
Транспортные накладные, расходы снабженческих организаций, 10%			170
Итого:			2480
Прочее неучтенное оборудование, 30%			720
Всего			3200

Стоимость технологического оборудования от всего оборудования обычно составляет 60%. Следовательно, общая стоимость оборудования составит 5400 тыс. руб., а с учетом внеобъемных затрат — $5400 \times 1,15 = 6200$ тыс. руб.

Таблица 4.10

Расчет стоимости зданий и сооружений

Здания и сооружения	Объем, м^3	Стоимость 1 м^3 , руб.	Общая стоимость, тыс. руб.
Отделение бактериального выщелачивания	11000	15,0	150,0
Компрессорная	4300	16,0	70,0
Отделение фильтрации, насосная, склады	—	—	200,0
Чаны для сгустителей	—	—	240,0
Прочие неучтенные сооружения	—	—	60,0
Итого:			720,0

Общая стоимость строительства зданий и сооружений с учетом внеобъемных затрат составит: $720 \times 1,3 = 940$ тыс. руб. (табл. 4.10).

Общая сумма капитальных затрат, связанных со строительством цеха бактериального выщелачивания, на технологическое и подъемно-транспортное оборудование составит: $6200 + 940 = 7140$ тыс. руб.

Эксплуатационные расходы. Расчет стоимости реагентов, необходимых для проведения процесса бактериального выщелачивания, представлен в табл. 4.11.

Таблица 4.11

Годовой расход и стоимость реагентов

Наименование материалов	Единица измерения	Годовой расход	Стоимость единицы	Сумма, тыс. руб.
Серная кислота техническая	т	2000	29,6	59,2
Известь гашеная (60% акт.)	т	50	15,0	0,75
Прочие и неучтенные, 10%				6,0
Транспортно-заготовительные расходы снабженческих баз, 15%				9,0
Всего				75,0

В табл. 4.12 приведены годовые эксплуатационные расходы на содержание цеха бактериального выщелачивания медно-цинкового концентрата.

Таблица 4.12

**Годовые эксплуатационные расходы на содержание
цеха бактериального выщелачивания**

Статьи расходов	Единицы измерения	Цена или норма	Количество	Сумма, тыс. руб.
Зарботная плата				
А. рабочих	чел.	2000	40,28	80,0
Б. ИТР	чел.	2800	6,4	16,8
Итого:				96,8
Начисления на зарплату и охрану труда	%	12	84,8	11,2
Итого по зарплате:				108,0
Материалы	—	—	—	75,0
Электроэнергия	тыс. кВт·ч	20,0	35000	350,0
Свежая вода	тыс. м ³	190,0	448	85,0
Амортизация зданий и сооружений	%	2,8	940	67,0
Амортизация оборудования	%	15,0	6200	930,0
Итого по амортизации				997,0
Текущий ремонт	%	50,0	940	470,0
Прочие и неучтенные	%	10,0	—	215,0
Всего:				2300,0

Годовые эксплуатационные расходы по цеху бактериального выщелачивания концентратов равны 2300,0 тыс. руб., что составит в пересчете на 1 т концентрата 4.6 руб.

Таблица 4.13

Показатели технико-экономических расчетов переработки концентратов

Наименование показателей	Единица измерения	Бактериальное выщелачивание, цементация, электролиз	Сульфатизирующий обжиг—выщелачивание, электролиз
Годовая производительность	тыс. т	500,0	500,0
Капитальные затраты	тыс. руб.	15700	18400
Эксплуатационные расходы	тыс. руб.	7650	8700
Приведенные затраты	тыс. руб.	10000	11460
Стоимость переработки 1 т концентрата	руб.	15,3	17,3

Расчеты показывают, что бактериально-гидрометаллургическая схема по сравнению со схемой обжиг-выщелачивание позволит снизить капитальные затраты на 2700 тыс. руб., приведенные на 1460 тыс. руб., стоимость переработки 1 т концентрата снизить с 17,3 до 15,3 руб. (табл. 4.13).

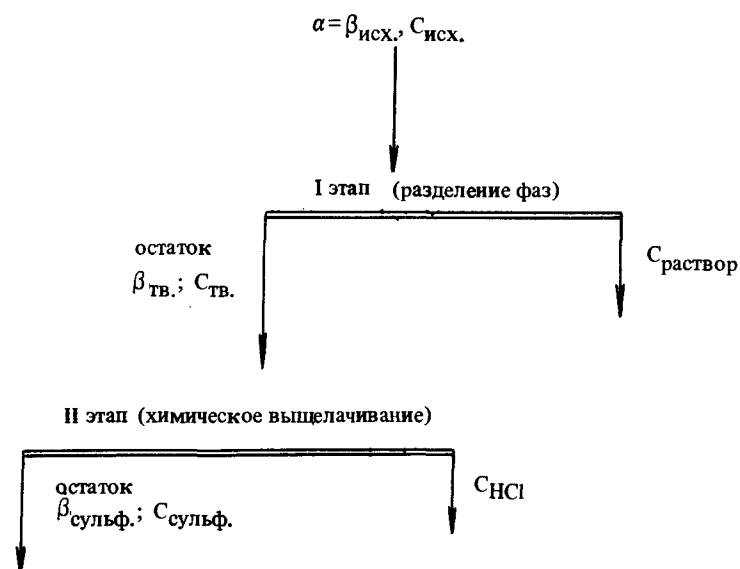
Эти данные позволяют сделать вывод об экономической целесообразности применения метода бактериального выщелачивания для переработки упорных медно-цинковых продуктов. Экономия от внедрения этого процесса составит примерно 1,5 млн. руб. в год по сравнению со схемой сульфатизирующий обжиг—выщелачивание.

4.7. ПОДГОТОВКА ПРОДУКТОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА. РАСЧЕТ БАЛАНСА МЕТАЛЛОВ

Для контроля и управления процессом бактериального выщелачивания в отобранных пробах определяют содержание тяжелых металлов, серы и других элементов в твердой и жидкой фазах пульпы. На основании полученных результатов химического анализа производят расчет распределения (баланс) компонентов между твердой и жидкой фазами пульпы. Результаты зависят от правильности отбора проб из емкостей, их подготовки к проведению химических анализов и правильности самих анализов.

Проба, отбираемая в процессе бактериального выщелачивания, должна быть представительной всей массе опробуемой пульпы как по составу жидкой, так и твердой фазы. На равномерность распределения твердой фазы по всей пульпе большое влияние оказывают следующие факторы: способ и интенсивность перемешивания, конструкция аппарата, крупность измельчения твердой фазы, разжижение пульпы и некоторые другие факторы. При выщелачивании, проводимом в пачуках с недостаточно интенсивным перемешиванием пульпы, твердая фаза может неравномерно распределяться по пачуку: крупные и тяжелые частицы пульпы могут находиться в донной части пачука, мелкие и легкие — в верхней. Поэтому опробование пульпы в процессе бактериального выщелачивания сульфидного продукта необходимо проводить при ее интенсивном перемешивании; частичные пробы, слагающие среднюю пробу, отбирают из верхней, средней и донной части пачука. При крупности 100% класса — 0,074 мм отбираемая средняя проба пульпы должна содержать не менее 15 г твердой фазы.

Способ обработки отобранных проб зависит от их состава, условий выщелачивания. В процессе выщелачивания некоторых минералов, например, арсенопирита, пирита и других могут образовываться малорастворимые и нерастворимые соединения железа, мышьяка, которые составляют вновь образуемую твердую фазу пульпы. Поэтому сульфидные продукты, подвергаемые бактериальному выщелачиванию, можно подразделить на две группы: образующих и не образующих осадки. К последней группе относятся, например, медноцинковые руды и концентраты. Способность к осадкообразованию сульфидного концентрата определяется эмпирически в каждом отдельном случае. Для этого отобранную пробу обрабатывают по схемам для осадкообразующих продуктов (рис. 4.17—4.19). По полученным



Условные обозначения:

- $\alpha = \beta_{\text{исх.}}, C_{\text{исх.}}$ — содержание целевого компонента в исходном продукте (%), (г/л);
- $\beta_{\text{сульф.}}, C_{\text{сульф.}}$ — содержание целевого компонента в сульфидной части пульпы (%), (г/л);
- $\beta_{\text{тв.}}, C_{\text{тв.}}$ — содержание целевого компонента в твердой фазе пульпы (%), (г/л);
- Сраствор — концентрация целевого компонента в жидкой фазе пульпы (г/л);
- СНСI — концентрация целевого компонента в растворе химического выщелачивания (г/л).

Рис. 4.17. Схема обработки проб для химического анализа

результатам анализов делают заключение о способности к осадкообразованию данного сульфидного концентрата.

При подготовке к проведению химических анализов пробы сульфидных концентратов подвергают операции разделения фаз (рис. 4.15). Пробы от осадкообразующих продуктов дополнительно подвергают кислотной обработке с целью растворения образовавшихся в процессе бактериального выщелачивания осадков (рис. 4.19).

Разделение фаз пульпы производят центрифугированием или фильтрованием. Для более полного удаления остатков жидкой фазы, содержащей растворенные металлы, кек дважды промывают водой. Объем промывной воды, добавляемой на операции перемешивания, должен быть равным или кратным объему жидкой фазы в пробе пульпы. Кек после промывки взвешивают, высушивают при температуре 80–85°C, снова взвешивают и по результатам взвешивания определяют его влажность:

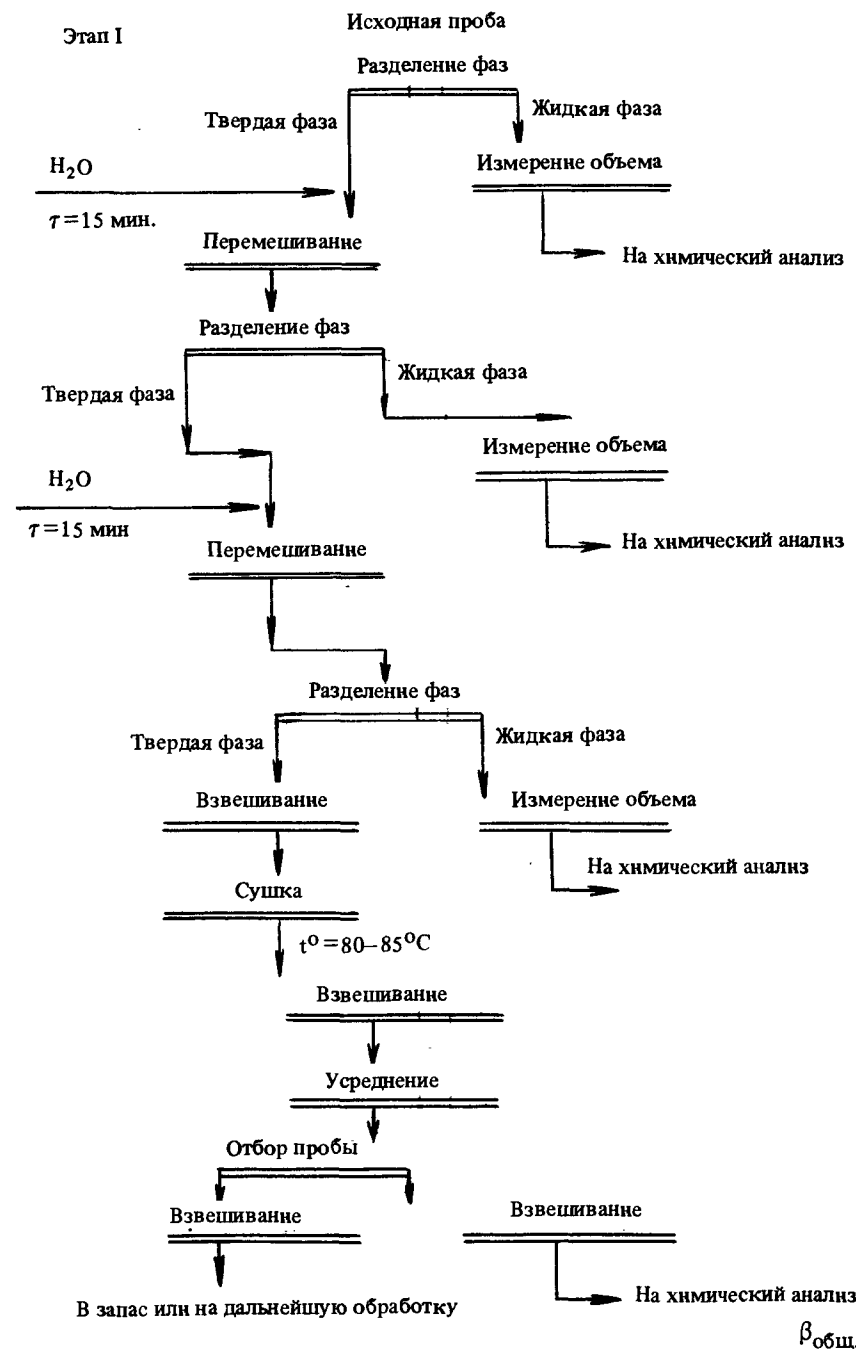


Рис. 4.18. Обработка проб после бактериального выщелачивания

Этап II

Солянокислотное выщелачивание

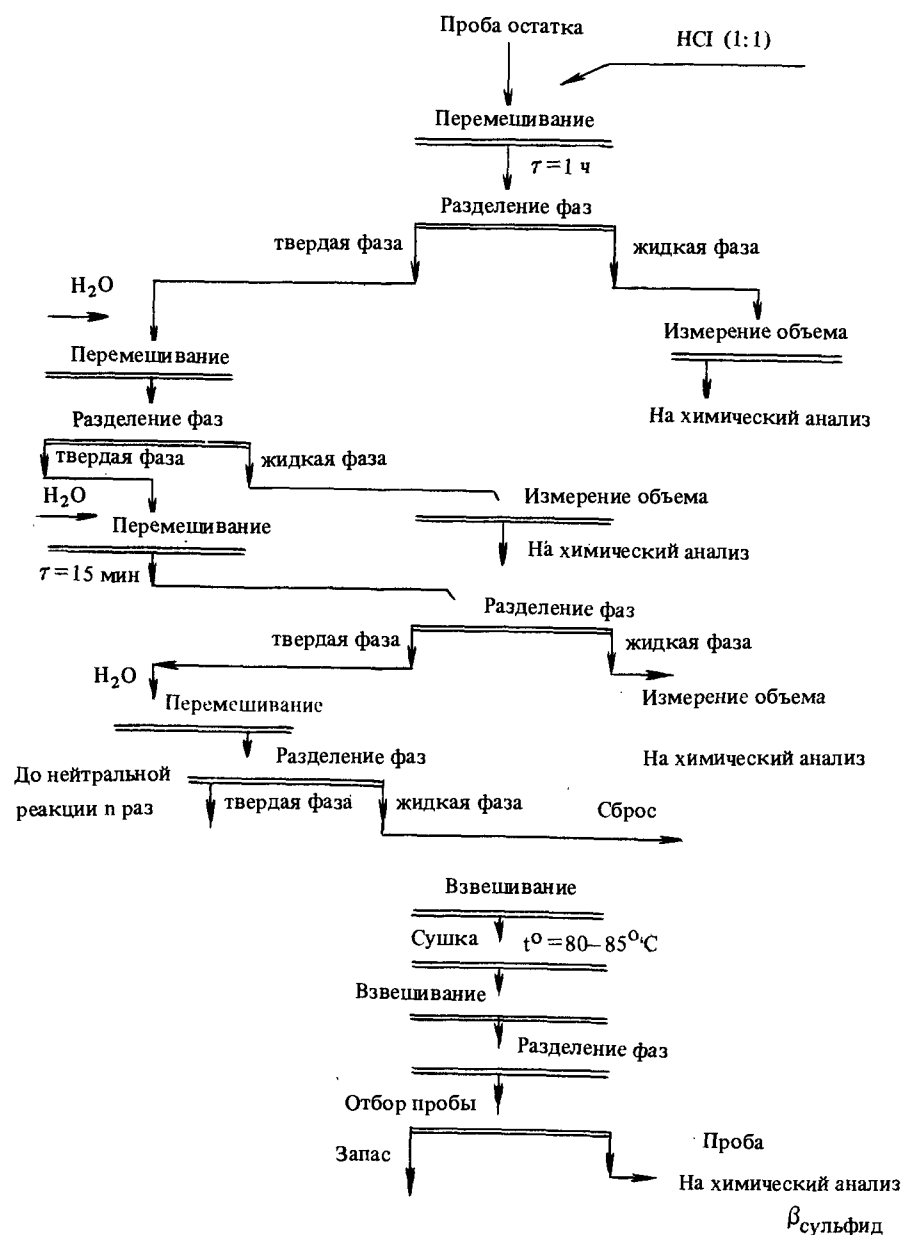


Рис. 4.19. Солянокислотное выщелачивание проб после бактериального выщелачивания

$$W = \left(1 - \frac{m_2}{m_1}\right) \cdot 100\%, \quad (4.23)$$

где m_2 — масса сухого остатка (г);
 m_1 — масса влажного остатка (г);
 W — влажность остатка (%).

Затем остаток усредняют, отбирают среднюю пробу [13] для определения содержания целевого металла в твердой фазе пульпы. При этом в случае осадкообразующего продукта определяется общее содержание целевого металла в сульфидной и вновь образуемой твердой фазах пульпы, а при обработке продукта, не образующего осадка, определяется содержание целевого металла только в сульфидной форме.

Твердую фазу пробы, обработанную вышеуказанным способом, подвергают солянокислотному выщелачиванию с целью растворения вновь образуемых осадков. При проведении солянокислотного выщелачивания необходимо добавлять соляную кислоту к выщелачиваемому осадку в таком количестве, чтобы не изменилось разжижение вновь образуемой пульпы по сравнению с исходной. Объем добавляемой соляной кислоты определяется по уравнению:

$$V_6 = \frac{m_4}{m_2} \left(V_1 + \frac{m_1 \cdot W}{100}\right), \quad (4.24)$$

где m_4 — масса пробы для химического выщелачивания (г);
 V_6 — объем соляной кислоты (мл) (см. рис. 4.19).

Солянокислотное выщелачивание производят в колбах Эрленмейера на качалке при интенсивном встряхивании в течение 1 ч (рис. 4.19), после чего пульпа подвергается операции разделения фаз. В жидкой фазе анализируется содержание целевого металла, а твердая фаза подвергается многократной промывке до нейтральной реакции. В первых двух (или больше) промывных водах определяется содержание целевого металла. Промытая проба сушится при температуре 80–85°C, усредняется, от нее отбирается средняя проба для определения остаточного содержания целевого металла в сульфидной форме.

По результатам химических анализов рассчитывается распределение (баланс) целевого металла (металлов) между жидкой, твердой и вновь образуемой твердой фазами пульпы. Расчет баланса целевого металла (металлов) основывается на том допущении, что в процессе бактериального выщелачивания объем жидкой фазы пульпы не изменяется. Поэтому концентрации целевого металла в исходной пульпе равна сумме его концентраций (выраженных в одних размерностях) во время выщелачивания в жидкой, твердой и вновь образуемой твердой фазах пульпы:

$$C_{\text{исх.}} = C_{\text{р-р}} + C_{\text{HCl}} + C_{\text{сульф.}} \quad (4.25)$$

Условные обозначения см. рис. 4.17.

Для пересчета содержания целевого металла (%) в твердой фазе пульпы в концентрацию (г/л) используется уравнение:

$$C = \frac{\gamma \cdot \beta \cdot d}{10 \cdot R}, \quad (4.26)$$

где γ — выход сульфидного концентрата (по твердому) (%);
 β — содержание целевого металла в сульфидном концентрате (%);
 d — плотность жидкой фазы исходной пульпы (г/см³);
 C — содержание целевого металла в пульпе (г/л);
 R — разжижение исходной пульпы (ед.).

Заменяя в уравнении (4.25) значения $C_{исх.}$ и $C_{сульф.}$ на $\beta_{исх.}$ и $\beta_{сульф.}$ из уравнения (4.26) получаем:

$$\frac{100 \cdot \alpha \cdot d}{10 \cdot R} = C_{p-p} + C_{HCl} + \frac{\gamma_{сульф.} \cdot \beta_{сульф.} \cdot d}{10 \cdot R}. \quad (4.27)$$

$\alpha = \beta_{исх.}$ — содержание металла в исходной пульпе.

Из уравнения (4.27), получив искомое уравнение для расчета выхода сульфидного концентрата:

$$\gamma_{сульф.} = \frac{100 \cdot \alpha \cdot d - C_{p-p} \cdot 10 \cdot R - C_{HCl} \cdot 10 \cdot R}{\beta_{сульф.} \cdot d} \quad (4.28)$$

По известному выходу извлечения целевого металла в сульфидный концентрат определяют по формуле:

$$\epsilon_{сульф.} = \frac{\gamma_{сульф.} \cdot \beta_{сульф.}}{\alpha}, \quad (4.29)$$

а в жидкую фазу $100 - \epsilon_{сульф.} = \epsilon_{p-p}$,

где $\epsilon_{сульф.}$ — извлечение металла в сульфидный концентрат (%);

ϵ_{p-p} — извлечение металла в жидкую фазу (%).

В случае осадконеобразующего продукта $C_{HCl} = 0$, уравнение (4.28) переписывается в виде:

$$\gamma_{сульф.} = \frac{100 \cdot \alpha \cdot d - C_{p-p} \cdot 10 \cdot R}{\beta_{сульф.} \cdot d} \quad (4.30)$$

При наличии в сульфидном концентрате невыщелачиваемого компонента, например золота, выход этого концентрата можно определить по изменению в нем содержания золота до и после выщелачивания,

$$\gamma = \frac{100 \cdot \alpha_{Au}}{\beta_{Au}}, \quad (4.31)$$

где: α_{Au} — содержание золота в исходном концентрате (г/т);
 β_{Au} — содержание золота в выщелоченном остатке (г/т).

Таблица 4.14

Пример записи расчета баланса металлов

Наименование операции	γ %	β_{Zn} %	C_{Zn} г/л	β_{Cu} %	C_{Cu} г/л	E_{Zn} % тв.ф.	E_{Zn} % ж.ф.	E_{Cu} % тв.ф.	E_{Cu} % ж.ф.
Поступает на 1 стадию Исходная пульпа	100,0	16,0	0,0	10,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0
Выходит из 1 стадии Выщелоченная пульпа	70,0	10,0	18,0	9,9	6,14	43,75	56,25	69,35	30,70
Поступает на 2 стадию Выщелоченная пульпа 1 стадии	70,0	10,0	18,0	9,9	6,14	43,75	56,25	69,35	30,70
Выходит из 2 стадии Выщелоченная пульпа	62,0	5,0	25,8	9,0	8,84	19,38	80,62	55,8	44,2

Рекомендуемая форма регистрации параметров бактериального часового выщелачивания
(на примере концентрата, содержащего пирит и арсенопирит)

Дата и время	№ сосуда	Жидкая фаза											
		pH	Eh	Fe, г/л			As, г/л			SO ₄ ²⁻ , г/л	m*, г/л	A**, г/л·ч	Fe, %
				3+	2+	Σ	5+	3+	Σ				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

Твердая фаза

As, %	S ⁰ , %	Выход, %	Fe, %	As, %	Au, г/г	S ²⁻ , %	m*, г/г	A*, г/л·ч	As, %	Fe, %	Au, %
15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26

Новообразованная твердая фаза

Выход	As, %			Fe, %			S ⁰ , %	As, %	Fe, %	S ⁰ , %
	5+	3+	Σ	3+	2+	Σ				
27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37

Оборотные растворы

Объем за 24 ч, л	As, г/л			Fe, г/л			SO ₄ ²⁻ , г/л	m*, г/л	A**, г/л·ч
	5+	3+	Σ	3+	2+	Σ			
38	39	40	41	42	43	44	45	46	47

Экспериментальные условия

% твердого в пульпе	скорость протока, л/л·ч ⁻¹	t°С	потребление воздуха, л·мин ⁻¹	обороты мешалки, об/мин	исходное кол-во пульпы в сосуде, л	кол-во пульпы в конце процесса, л	остаток, кг	влажность остатка, %	объем титранта, л	кол-во до-бавленной свежей воды, л
48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58

* Концентрация бактерий в растворе (на твердой фазе пульпы): г/л (г/г).

** Окислительная активность бактерий (г/л·ч).

Твердая фаза

Жидкая фаза

ЛИТЕРАТУРА

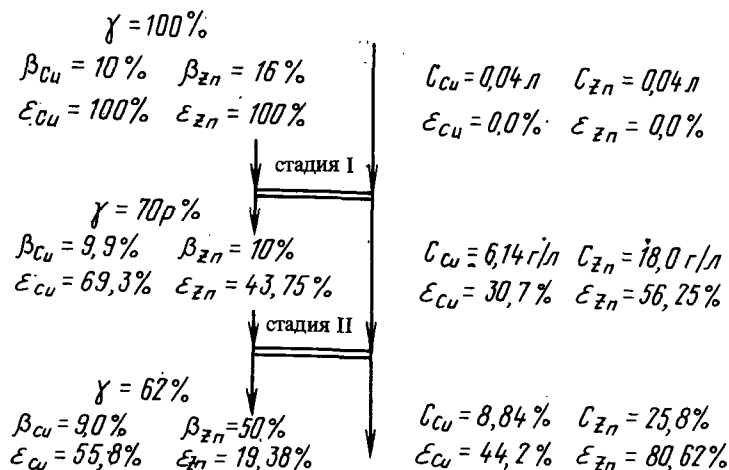


Рис. 4. 20. Схема двухстадийного выщелачивания Cu-Zn концентрата:

Cu - 10%, Zn - 16%, R = 5, d = 1,0 г/см³

Выход сульфидного концентрата может быть определен как отношение сульфидной массы в остатке к таковой в исходном концентрате:

$$\gamma = \frac{100 \cdot m_{\text{прод}}}{m_{\text{исх.}}} \quad (4.32)$$

где $m_{\text{исх.}}$ — масса концентрата до выщелачивания (г), (кг);

$m_{\text{прод.}}$ — масса остатка после выщелачивания (г), (кг).

При выщелачивании полиметаллических концентратов рассчитывают баланс по всем металлам в цикле выщелачивания. Данные расчета заносят в таблицу или изображают графически в виде качественно-количественной схемы (рис. 4.20, табл. 4.14).

Рекомендуется условия эксперимента, результаты химических анализов ежедневно отбираемых проб и расчеты баланса металлов представлять в виде таблицы. Примером такой таблицы может служить табл. 4.15, составленная для случая выщелачивания арсенопирит-пиритного золотосодержащего концентрата.

1. Батырбекова С.А., Илялетдинов А.Н., Польшаный И.Р., Камалов М.Р., Вестн. АН КазССР, 1974, № 12, 67
2. Бергер Г.С., Орел М.А., Попов Е.Л., Полупромышленные испытания руд на обогатимость. Наука, М., 1984, 199 с.
3. Головкин Э.А., Розенталь А.К., Седельников В.А., Суходоров В.М., Химическое и бактериальное выщелачивание медно-никелевых руд. Наука, М., 1978, 87 199 с.
4. Каравайко Г.И., Микробиологические процессы выщелачивания металлов из руд, Обзор проблемы, Центр международных проектов ГКНТ, М., 1984, 87 с.
5. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И., Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд, Наука, М., 1972, 248 с.
6. Ковров Б.Г., Денисов Г.В., Седельников С.М., Культура Thiobacillus ferrooxidans на электрической энергии, Наука, Новосибирск, 1983, 124 с.
7. Кулебакин В.Г., Бактериальное выщелачивание сульфидных минералов, Новосибирск, Наука, 1979, 287 с.
8. Ляликова Н.Н. В сб.: Применение бактериального метода выщелачивания цветных металлов из забалансовых руд. Ин-т Цветметинформации, 1968.
9. Польшкин С.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Технология бактериального выщелачивания цветных и редких металлов, Недра, М., 1982, 287 с.
10. Польшкин С.И., Адамов Э.В., Панин В.В., Гришин С.И., В кн.: Физические и химические методы обогащения полезных ископаемых, Наука, М., 1982, 267 с.
11. Польшкин С.И., Каравайко Г.И., Таужиянская З.А., Панин В.В., Цветная металлургия, 1969, № 6, 35.
12. Польшкин С.И., Панин В.В., Каравайко Г.И., Адамов Э.В. В кн.: Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов. М.В. Иванов (ред.), Пушкино, 1976, 115.
13. Хан Г.А., Опробование и контроль технологических процессов обогащения, Недра, М., 1979, 253 с.
14. Шиврин Г.Н., Стрижко В.С., Технологические расчеты процессов и оборудования золотоизвлекательных заводов, Красноярск, 1976, 92 с.
15. Bruynesteyn, A., Lawrence, R.W., Vizsolyi, A., and Hackl, R., In: Recent Progress in Biohydrometallurgy, G. Rossi and A.E. Torma (Eds.), Cagliari, Italy, 1983, 151.
16. Chakrabarty, N., and Murr, L.S., Biotechnol. Bioeng., 1979, 21, 16.
17. Duncan, D.W., and Trussell, P.C., Can. Metallurg. Quarterly, 1964, 3, No. 1, 43.
18. Guay, R., and Silver, M., Can. J. Microbiol., 1975, 21, No. 3, 281.
19. Livesey-Goldblatt, E., Norman, P.H., and Livesey-Goldblatt, D.R., In: Recent Progress in Biohydrometallurgy, G. Rossi and A.E. Torma (Eds.), Cagliari, Italy, 1983, 627.
20. Mizoguchi, T., Izaki, K., Takahashi, H., and Okabe, T., Kogaku Zosshi, 1970, 73, No. 8, 1811.
21. Norris, P.R., and Kelly, D.P., FEMS Microbiol. Letters, 1978, 4, No. 1, 143.
22. Torma, A.E., Am. Inst. Min. and Petr. Eng., New York, 1972, 1.
23. Torma, A.E., and Subramanian, K.N., Int. Journal of Mineral Processing, 1974, 125.

ПОДЗЕМНОЕ И КУЧНОЕ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ. ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ В ОТВАЛАХ

5.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Подземное бактериальное выщелачивание (выщелачивание в месте залегания руды) является совокупностью специальных операций для извлечения ценных металлов из рядовых руд подземных выработок растворами, содержащими микроорганизмы; причем содержание ценного компонента в руде может изменяться от бортового (бортовым называется такое среднее содержание металла в рядовой руде, ниже которого добыча становится нерентабельной) [50] до так называемого забалансового. Типичные примеры последнего – порода, остающаяся в выработанном подземном забое, обычно перемешанная с обрушенной вскрышной породой, или бедные части рудного тела при открытых методах добычи.

Выщелачивающие растворы закачиваются в рудную породу и просачиваются сквозь нее; после того, как металлы переходят в растворы, последние собираются и подаются насосом в установку, где производится извлечение металлов. Бактериальное выщелачивание в отвалах используется для удаления металлов из бедных руд (иногда неправильно называемых „пустой породой” или „отходами”). Обычно это вскрышные породы с низким содержанием металла в открытых горных выработках, т. е. часть рудного тела с содержанием металла ниже бортового, которая удаляется, чтобы обеспечить доступ к более богатым частям месторождения.

Взорванная порода складывается в отвалы вблизи карьера. Орошающие растворы, содержащие микроорганизмы, подаются на верхушку отвала и, просачиваясь через толщу рудной массы, выщелачивают содержащиеся в ней металлы. Вытекающие из-под отвала растворы, содержащие металлы, собираются в отстойники, а затем подаются на установки для извлечения металлов.

При кучном бактериальном выщелачивании дробленая (иногда до заданных размеров) рядовая руда располагается правильными слоями, называемыми „горизонтами”, на специально подготовленных площадках, образуя кучи. Вершина этих куч орошается растворами, содержащими микроорганизмы, таким же образом и с теми же целями, что и при выщелачивании в отвалах. Растворы, содержащие выщелачиваемые металлы, собираются и перерабатываются в большинстве случаев так же, как и при выщелачивании в отвалах. С помощью одного из этих трех методов или их комбинации мо-

гут быть успешно переработаны как урановые руды, так и руды, содержащие пириты или другие сульфиды металлов, добыча и обогащение которых общепринятыми методами (например, флотационным или чановым бактериальным выщелачиванием) являются нерентабельными по следующим принципам: а) низкое содержание основного металла; б) тонкое взаимное прорастванение минеральных компонентов; в) сложный характер минералов рудной породы; г) малый объем месторождения.

Подземное и кучное бактериальное выщелачивание, как и выщелачивание в отвалах, отличается от химического метода выщелачивания тем, что выщелачивающие растворы и раздробленная рудная порода содержат микроорганизмы, которые интенсифицируют процесс выщелачивания. Несмотря на то, что рассмотренные методы выщелачивания применяются к сульфидсодержащим рудам различного состава и поэтому отличаются друг от друга по многим параметрам, у этих методов много общих технологических особенностей, которые обсуждаются ниже.

На практике выщелачивание измельченной рудной породы применялось уже давно; но только в нашем столетии ученые попытались оптимизировать этот процесс. Интерес к выщелачиванию сильно возрос в 50-е годы, после того, как была обнаружена каталитическая роль микроорганизмов в растворении минералов и пород. Следующим логическим шагом явилась разработка адекватных моделей для экстраполяции результатов, полученных на небольших лабораторных и полупромышленных установках, созданных для моделирования промышленных процессов. Как и в других областях горнорудного и химического производства, первые модели были полумпирическими и очень простыми. С течением времени их заменяли все более сложные и усовершенствованные модели, которые продолжают совершенствоваться, хотя накопленных знаний уже достаточно для того, чтобы довольно точно оценить эффективность новой установки. Наиболее сложные модели, основанные на кинетике бактериального выщелачивания минеральных зерен, представляют, в основном, теоретический интерес и используются для экстраполяции результатов чанового выщелачивания. Для правильной оценки и применения таких моделей необходимо учитывать все факторы, влияющие на бактериальное выщелачивание измельченной руды.

5.2. ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ

Для количественной оценки результатов бактериального выщелачивания независимо от его типа используется понятие – эффективность выщелачивания.

Чем больше металла извлекается из руды, тем выше степень извлечения и, следовательно, эффективность процесса. Процентное отношение количества растворенного металла к количеству металла, находящегося в руде, называется извлечением металла (R_M); процентное отношение степени извлечения металла в данном промышленном процессе к максимальной степени извлечения при оптимальных условиях (например, на лабораторной или экспериментальной установке) называется кинетической эффективностью.

стью (E_K); эффективность бактериального выщелачивания (E_B) — это произведение извлечения металла на кинетическую эффективность:

$$E_B = R_M \cdot E_K \quad (5.1)$$

Величины R_M и E_K изменяются от 0 до 1; E_B тоже изменяется от 0 до 1.

Степень извлечения металлов (R_M) зависит от множества условий, важнейшими среди которых являются:

а) выщелачивающие растворы, содержащие микроорганизмы, должны соприкасаться с максимально высвобожденной из включающей породы поверхностью выщелачиваемого минерала;

б) необходимо максимизировать поверхность минерала, соприкасающегося с выщелачивающими растворами;

в) необходимо обеспечить доступ газов, необходимых для метаболизма микроорганизмов (O_2 и CO_2) и окислительного процесса (O_2), к максимально большей части поверхности выщелачиваемого минерала.

Первое условие может быть количественно выражено как „степень вскрытия” (R_W):

$$R_W = \frac{\Sigma A_a}{\Sigma A} \quad (5.2)$$

где ΣA_a — общая площадь поверхности вскрытых минералов, содержащих выщелачиваемый металл при данной крупности выщелачиваемого материала π_i (например, рядовой руды при выщелачивании на месте залегания);

ΣA — общая площадь поверхности минералов при такой крупности выщелачиваемого материала π , которая соответствует полному высвобождению выщелачиваемого минерала из рудной породы или других минералов.

Второе условие может быть количественно выражено как коэффициент проницаемости перколяции (R_P) с помощью уравнения.

$$R_P = \frac{\Sigma A_w}{\Sigma A_a} \quad (5.3)$$

где ΣA_w — площадь поверхности выщелачиваемого минерала, соприкасающаяся с выщелачивающими растворами;

ΣA_a — имеет то же значение, что и в уравнении (5.3).

Количественное выражение для третьего условия можно записать следующим образом:

$$\text{степень оксигенации (кислородообеспечение)} \quad R_O = \frac{\Sigma A_O}{\Sigma A_w} \quad (5.4)$$

где ΣA_O — площадь поверхности минерала, соприкасающаяся с таким объемом кислорода, который необходим для окисления сульфидов металла.

ΣA_w — имеет то же значение, что и в уравнении (5.3).

Таким образом, в общем виде можно записать:

$$R_M = k(x, y, z, \dots) R_W R_P R_O \quad (5.5)$$

где $k(x, y, z)$ — коэффициент, учитывающий влияние температуры, окислительно-восстановительного потенциала, характера рудной породы и т. п., которые в данном анализе подробно не рассматриваются.

Подставляя в (5.5) соответствующие выражения из (5.2), (5.3) и (5.4), получаем:

$$R_M = k(x, y, z, \dots) \frac{\Sigma A_O}{\Sigma A} \quad (5.6)$$

Таким образом, для успешного проведения бактериального выщелачивания необходимо обеспечить доступ кислорода к частицам минерала.

5.3. БАКТЕРИАЛЬНОЕ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ ДРОБЛЕННОЙ РУДНОЙ ПОРОДЫ

Для достижения оптимальной эффективности бактериального выщелачивания рудной породы независимо от того, остается ли она в забое или вывозится из шахт и карьеров в кучи и отвалы, необходимо создать определенные условия:

- 1) создать наиболее благоприятные условия для роста бактерий;
- 2) обеспечить максимально полный контакт выщелачивающих растворов, газов и микроорганизмов с кристаллической решеткой окисляемых минералов;
- 3) полно и беспрепятственно удалить ионы металлов из растворов выщелачивания;
- 4) обеспечить равенство потока выходящих растворов, содержащих растворенные металлы, потоку растворов, закачиваемых на выщелачивание; сбор растворов необходимо производить в специальные отстойники.

Каждое из этих условий рассмотрено ниже.

5.3.1. Создание оптимальных условий для роста микроорганизмов

До настоящего времени при промышленном применении бактериального выщелачивания рассматривалось воздействие серо- и/или железобактерий на сульфиды металлов (железа). Как показано в главе 1, рост микроорганизмов зависит от физических и химических факторов.

5.3.1.1. Температура

Температура является самым важным физическим фактором, хотя при промышленном использовании бактериального выщелачивания трудно воздействовать на естественный уровень температуры. Тем не менее, на подготовительной стадии работ очень важно оценить возможный диапазон изменения температуры внутри дробленой рудной породы.

Прежде всего, необходимо различать температуру окружающей среды, где ведутся разработки, с ее суточными и, особенно, сезонными колебаниями.

ми, и температуру внутри измельченной рудной породы. Показано, что бактериальное окисление пирита и халькопирита с помощью *T. ferrooxidans* максимально при 35 °С, в то время, как при 20 °С в некоторых случаях оно было незначительным; минимальное окисление наблюдалось при 65 °С для пирита и при 55 °С для халькопирита [42, 43, 120, 139]. Таким образом, природные факторы, видимо, имеют большое значение для каталитического действия бактерий рода *Thiobacillus*, хотя исследованы они пока недостаточно.

На подготовительной стадии работ необходимо тщательно проанализировать две ситуации, которые часто встречаются в промышленных условиях. Во-первых, шахта может быть расположена в районах, где зима длится несколько месяцев и температура снижается гораздо ниже 0 °С. Показано, что даже при таких условиях можно проводить подземное выщелачивание и выщелачивание в отвалах [5, 6, 48, 102, 142, 159]. Известно также то, что даже, если температура воздуха, зимой опускается до -5 °С, а температура выщелачивающего раствора, проходящего через отвал, достигает 2 °С; то температура вытекающего продуктивного раствора в течение всего года равна 11 °С [159]. Для местности, где расположен рудник Сан-Валентино ди Предуа, характерны сильные снегопады с октября по май, частые снижения температуры зимой до -25 °С, а летняя температура не превышает 15 °С. Установлено, что температура воздуха в шахте — круглый год 8 °С, температура воды — от 6 до 7 °С [142]. На шахте Денисон (Онтарио, Канада) было обнаружено, что от температуры в шахте в значительной степени зависит скорость окисления железа, содержащегося в пирите, и это влияет на эффективность бактериального выщелачивания во время зимних месяцев. Однако, в этот период температура в подземных стволах никогда не падает ниже 10–12 °С [48]. Можно с уверенностью сказать, что в шахтах естественным образом поддерживается стабильная температура на более высоком уровне, чем на поверхности; поэтому вполне рентабельным оказывается подземное выщелачивание рециркулирующими растворами, температура которых может даже повышаться благодаря теплу, выделяемому при окислении сульфидов металлов. Некоторые авторы полагают, что постоянная температура продуктивного раствора связана с термостатным эффектом рудной массы, но необходимо принимать во внимание и тепло, генерируемое экзотермическим окислением сульфидов [159]. Известно, что в некоторых точках отвалов в каньоне Бингам температура поднимается до 60–80 °С, а растворы выщелачивания прогреваются до 48 °С, причем количество клеток *T. ferrooxidans* на 1 см³ раствора в них пренебрежимо мало [24]. Также известно то, что в некоторых точках внутри отвалов на шахте Чино температура достигала 63 °С [34]. Лабораторными экспериментами по выщелачиванию пиритосодержащей медной руды из рудников Коппер Маунтейн показана зависимость бактериальной активности от температуры [99]. Поэтому при проектировании отвалов в опытно-промышленных разработках было предусмотрено нагревание выщелачивающих растворов до 21 °С продуванием пара через форсунки, расположенные в поддоне насоса. Когда температура зимой снизилась до 4,5–10 °С, результаты лабораторных исследований были перенесены на опытно-промышленный от-

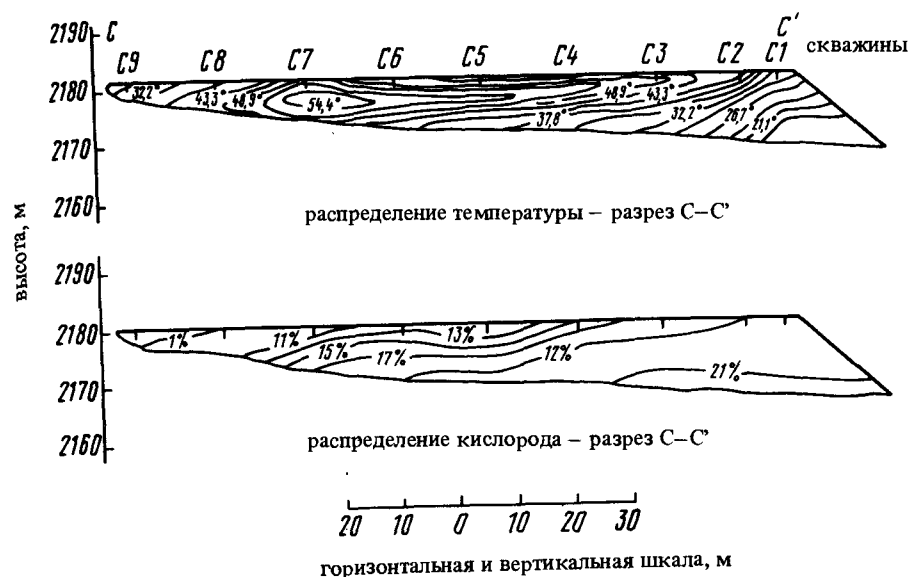


Рис. 5.1. Поперечное сечение экспериментального отвала „Мидас“ на руднике компании „Юта Коппер Дивижн“ в Кеннекоте. Профили температуры (°С) и кислорода были получены измерениями, сделанными в concentric установленными обсадными трубах в скважинах (C1–C9), пробуренных в отвале

вал, где было отмечено отсутствие бактериальной активности. Подогрев растворов во время выщелачивания на другом опытном отвале привел к повышению температуры в пиритной зоне до 18–24 °С, в результате чего бактериальная активность восстановилась. Более того, бактериальная активность не уменьшилась даже во время самых холодных месяцев, когда температура внутри отвала снизилась до среднего значения около 15,5 °С. Расчеты показали, что с учетом выделения тепла при окислении пирита отвал высотой в 60 м обеспечивает себя теплом [99]. Хотя сами расчеты в работе не приведены, этот вывод имеет важнейшее значение, т. к. показывает, что высота измельченной рудной массы является критическим параметром при оценке возможности саморазогрева.

Можно сделать вывод, что при данных химических и физических свойствах дробленой рудной массы существует критический предел, ниже которого саморазогрев, возможно, не имеет места.

Было проведено крупное исследование температурных изменений в одном из промышленных отвалов (на рис. 5.1 приведены примеры температурных профилей [52]. Допуская только вертикальную конвекцию воздуха и используя метод конечных разностей, авторы построили одномерную модель процесса выщелачивания внутри отвала на основе смешанной кинетики, характерной для модели усадки керна. Оказалось, что после соответствующего масштабирования эта модель хорошо отражает процесс

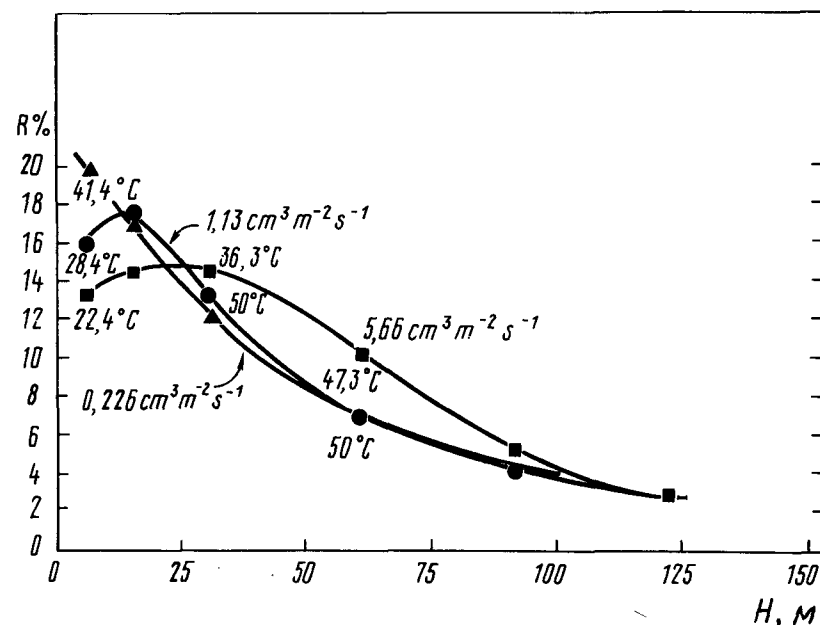


Рис. 5.2. Скорость выщелачивания (R) как функция от высоты отвала (H) при различной интенсивности орошения. Для условий, существующих на большинстве участков выщелачивания, оптимальная высота — от 12 до 21 м. Большая интенсивность орошения, отрицательно сказывающаяся на выщелачивании небольших отвалов, может дать хорошие результаты на отвалах высотой около 23 м

выщелачивания в исследуемом отвале. Таким образом, были убедительно подтверждены ранее разрозненные данные и наблюдения, что позволило сделать некоторые выводы:

- 1) воздушная конвенция играет важную роль в процессе выщелачивания измельченной рудной массы;
- 2) зоны измельченной руды, где происходят экзотермические окислительные реакции, становятся источниками тепла, поэтому с течением времени отвалы нагреваются, и любая модель выщелачивания должна учитывать температурную зависимость этого процесса;
- 3) высота измельченной рудной массы, ее проницаемость и скорость подачи выщелачивающего раствора решительным образом влияют на степень выщелачивания металлов из руды.

Известен способ построения и подробный анализ модели, включающей воздушную конвенцию, тепловой баланс, кинетику смешанного окисления, зависящую от температуры, и бактериальный катализ, а также процесс опробования [51]. Позднее была разработана более сложная модель, учитывающая как вертикальный, так и горизонтальный воздушный поток [54]. На основе этих результатов авторы определили величину оптимальной высоты измельченной рудной породы — от 15 до 30 м (рис. 5.2), подтверждая

более рассчитанное значение высоты. Эта модель позволила сделать несколько практических рекомендаций для работы с отвалами высотой выше 60 м; например, проницаемость должна быть максимальной, а орошение более интенсивным, чем в более низких отвалах, особенно в горячих зонах.

5.3.1.2. Микроорганизмы

Опубликованные данные свидетельствуют о том, что выщелачивание меди наблюдается и при температуре выше 50°C [4, 6, 9, 24, 43, 80]. По мнению авторов, это объясняется тем, что химическое выщелачивание более активно протекает при высоких температурах, поэтому оно преобладает над биологическим выщелачиванием. Однако, открытие термофильных железобактерий, способных окислять сульфиды металлов при температуре выше 50°C , что наблюдалось несколькими исследователями в высокотемпературных зонах отвалов [35, 38, 85], в термальных источниках [36, 37, 80] и в комплексных сульфидных рудных телах [6, 36, 80], поставило под сомнение такое объяснение.

Для выяснения этой проблемы были проведены эксперименты на больших колонках, которые моделировали процесс бактериального выщелачивания в отвалах. Большие колонки были снабжены приборами для непрерывного контроля температуры, что позволило построить профили температуры нескольких зон внутри дробленой рудной породы. Эти эксперименты показали, что температура равномерно поднимается до 55°C одновременно с уменьшением популяции *T. ferrooxidans*, снижением pH и увеличением потребления кислорода, а также с увеличением содержания меди в продуктивном растворе и скорости окисления Fe^{2+} в Fe^{3+} [53, 127, 130]. По мнению авторов, эти данные могут служить косвенным доказательством существования термофильной бактерии, которая обеспечивает выделение тепла, окисление и растворение сульфидов меди. Являясь катализатором экзотермического процесса окисления руды, этот микроорганизм, возможно, регулирует скорость реакции, изменяя температуру таким образом, чтобы обеспечить оптимальную эффективность катализа в результате оптимизации метаболизма. Такой механизм обратной связи может обеспечить наблюдаемое постоянство температуры. Отсюда, однако, не следует, что только термофильные бактерии хорошо развиваются внутри отвалов. Известно, что при промышленном выщелачивании микроорганизмы бывают очень разнообразны, что продемонстрировано в табл. 5.1 для отвалов на руднике Влайков Врых в Болгарии и в табл. 5.2 и 5.3 для отвалов на руднике Сан-Валентино ди Преда в Италии [71, 82, 85, 142]. Вероятно, что существование температурного градиента внутри дробленой горной породы приводит к появлению многих экологических ниш, обеспечивающих существование различных видов, их интеграцию и одновременное участие в процессе выщелачивания.

При планировании новых объектов бактериального выщелачивания дробленой горной породы необходимо учитывать присутствие в отвалах сульфатвосстанавливающих бактерий [85]. Эти микроорганизмы указывают на существование бескислородной восстановительной среды внутри

Таблица 5.1.

Микроорганизмы, обнаруженные в меднорудном отвале [85]

Группы микроорганизмов	Таксономическое положение
Тиобациллы	<i>T. ferrooxidans</i> <i>T. thiooxidans</i> <i>T. thioparus</i> <i>T. denitrificans</i>
Серные и фототрофные бактерии	Бесцветные Зеленые Красные
Железобактерии	<i>Gallionella</i> <i>Leptothrix</i>
Бактерии, восстанавливающие сульфаты	<i>Desulfovibrio</i> и другие
Гетеротрофные бактерии	<i>Bacillus</i> <i>Aerobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Caulobacter</i>
Мицелиальные грибы и дрожжи	<i>Cladosporium</i> <i>Penicillium</i> <i>Trichosporon</i> <i>Rhodotorula</i>
Микроскопические водоросли и простейшие	<i>Ulotrix</i> <i>Amoeba</i> <i>Euglena</i> <i>Eutopia</i>

Таблица 5.2

Количество жизнеспособных клеток *T. ferrooxidans* и *T. thiooxidans* в твердых и жидких пробах, отобранных с разных участков рудника Сан-Валентинно ди Предуа (Италия)

Бактерии и кислотность	Количество клеток в 1 литре в 6 разных пробах						
	А	Б	В	Г	Д	Е	Ж
<i>T. ferrooxidans</i>	10^3	2×10^3	2×10^3	8×10^2	5×10^4	5×10^4	5×10^4
<i>T. thiooxidans</i>	10	10	20	8	10^2	10^2	10^2
pH	2.8	3.8	3.6	3.8	Нет данных	Нет данных	Нет данных

Таблица 5.3

Количество жизнеспособных гетеротрофных бактерий в жидких пробах, отобранных с различных участков рудника Сан-Валентинно ди Предуа (Италия)

Бактерии	Количество колониеобразующих единиц в 1 л пробы			
	А	Б	В	Г
<i>Pseudomonas</i> spp (<i>maltophilia</i> , <i>putida</i> , <i>stutzeri</i> , <i>vesicularis</i> , etc.)	3×10^3	10^6	10^6	10^4
<i>Enterobacter</i> sp.	$< 10^2$	9×10^3	5×10^4	6×10^2
<i>Achromobacter</i> sp.	$< 10^2$	2×10^2	2×10^2	5×10^2
<i>Caulobacter</i> sp.	$< 10^2$	2×10^2	3×10^2	$< 10^2$
<i>Alcaligenes</i> sp.	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	2×10^2
<i>Bacillus</i> sp.	$< 10^2$	2×10^3	5×10^3	9×10^2
Неидентифицированные грамм-отрицательные подвижные бактерии	5×10^2	7×10^3	7×10^3	10^2
Неидентифицированные грамм-положительные подвижные кокки	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$

Во всех жидких пробах присутствовали мицелиальные грибы в концентрации от 70 до 600 КОЕ/л. Ни в одном образце не были обнаружены анаэробные бактерии.

дробленной горной породы, которая замедляет скорость процесса выщелачивания. При этих условиях может иметь место химическое осаждение ионов металлов, и бактерии, восстанавливающие сульфаты, например, *D. desulfuricans* могут ускорить переход ионов сульфатов металла, включая сульфат меди, в сульфиды. Подобное явление переосаждения меди наблюдалось на стенках траншей в отвалах в Канане [56].

Разнообразные микроорганизмы в значительной степени могут либо замедлять, либо ускорять процесс бактериального выщелачивания. В этой связи особенно интересно взаимодействие микробов при бактериальном выщелачивании сульфидов никеля и меди [163, 165]. Авторы предполагают, что если выращивать вместе микроорганизмы *Thiobacillus* и *Beijerinckia*, то первые могут фиксировать двуокись углерода, а вторые — молекулярный азот, которые необходимы в тех культуральных средах, где эти элементы отсутствуют. Короче говоря, эти две бактерии должны обмениваться соединениями азота и углерода. Доказательством такого мутуализма является то, что *T. ferrooxidans* в 5 раз быстрее растет в смешанной культуре, чем в чистой, а извлечение меди ускоряется в три раза. Кроме того, реакции окисления протекают быстрее в смешанной культуре.

Однако на этот счет имеются противоречащие данные [85]. Так, сообщается, по крайней мере, о трех нежелательных явлениях, связанных со смешанной культурой бактерий:

1. Конкуренция за имеющийся кислород и другие полезные ионы, причем последние осаждаются на поверхности рудных минералов.

2. Использование живых клеток *T. ferrooxidans* в качестве питательных веществ другими видами: на некоторых участках отвалов во Влайков Врх (Болгария) было обнаружено особенно большое количество амёб (до 500 на см³) и простейших, которые питаются *T. ferrooxidans*.

3. Ингибирование роста *T. ferrooxidans* органическими соединениями, выделяемыми другими микроорганизмами, такими как *Caulobacter*.

Таким образом, для оценки эффективности бактериального выщелачивания, необходимо знать, какие микроорганизмы присутствуют в изучаемой дробленой рудной породе, подвергающейся выщелачиванию. Прогноз и контроль состава микрофлоры в отвале затруднен там, где нет достаточных экспериментальных данных. Однако было показано, что существует несколько путей модификации состава микрофлоры во время промышленных операций, например, регулирование величины pH и Eh выщелачивающего раствора, изменение состава выщелачивающего раствора или выращивание штаммов микробов в лаборатории с использованием методов генной инженерии [85]. Эти генетические модификации должны улучшать как способность микроорганизмов к бактериальному выщелачиванию, так и их адаптацию к окружающей среде; в результате они должны вытеснить „дикие” штаммы *T. ferrooxidans*.

Наконец, имеются данные о том, что микроорганизмы могут удалять полностью или частично металл из растворов выщелачивания: так, в одном из забоев шахты Денисон микроскопические грибы адсорбировали уран настолько полно, что он не был обнаружен в растворах после выщелачивания [48].

5.3.1.3. Питательные вещества и токсичные элементы

Из курса общей микробиологии хорошо известно, что для роста микроорганизмов необходимы определенные химические вещества. Для *T. ferrooxidans* большинство этих веществ установлены и входят в состав таких классических сред, применяемых в экспериментах по бактериальному выщелачиванию, как, например, среда Летена [108] и среда Сильвермана и Лундгрена 9К [154]. Хотя эти среды используются исследователями во всем мире, их состав не всегда отвечает оптимальным условиям роста [122, 156]. Известно, что основные соли культуральной среды могут стать токсичными, если их концентрация превышает определенный уровень, который в некоторых случаях такой же, как в известной среде 9К [154].

Иногда на концентрацию некоторых солей в выщелачивающем растворе воздействуют химические вещества, используемые при разработке месторождений. Типичным примером служит рудник Денисон, где при подготовке забоя использовались взрывчатые вещества на основе нитрата аммония, что привело к высокой концентрации соединений азота в шахте [48].

Поэтому при подготовке питательной среды рекомендуется тщательно проанализировать воды, используемые для выщелачивающего раствора, и вести постоянный контроль за ними, а также проводить в лабораторных условиях подготовку штаммов бактерий, применяемых при выщелачивании. Подобные эксперименты позволят обнаружить токсичные для бактерий соединения или элементы.

5.3.1.4. Аэрация

Необходимым условием успешного бактериального выщелачивания является эффективная аэрация дробленой горной породы.

Более того, как уже отмечалось, внутри дробленой горной породы может образовываться преимущественно восстановительная среда, вызывающая осаждение меди из растворов выщелачивания. Этого можно избежать, если все зоны, даже самые труднодоступные, будут хорошо аэрированы. Рекомендуется чередовать в определенной последовательности периоды орошения и осушения (как подробно показано ниже).

Поступление кислорода к участкам внутри дробленой горной породы, где проходят реакции окисления, осуществляется посредством двух транспортных механизмов: диффузией через взаимосвязанные пустоты гранул, которые можно считать порами огромной псевдочастицы, или растворением в выщелачивающем растворе, как показано Харрисом [90].

Максимальная растворимость O₂ в воде при 35°C равна 8 г·м⁻³, что составляет 0,25 моль·м⁻³; количество меди, извлеченной из халькопирита на один моль O₂ меньше, чем 2:8,5 = 0,23523 моля, что соответствует 14,95 г Cu. Таким образом, количество меди, высвобожденной в реакции 8 мг O₂ с CuFeS₂, не превышает 0,0037 г [90]. Следовательно, если весь растворенный в выщелачивающем растворе кислород был бы использован на окисление халькопирита, то концентрация меди в растворе за один оборот не превысила бы 0,0037 кг·м⁻³.

На практике концентрация меди в растворах, естественным образом вытекающих из выщелачиваемых отвалов, на два порядка больше, чем цифра, приведенная выше, поэтому очевидно, что большее количество кислорода, чем растворенное в выщелачивающем растворе, должно достичь участков окисления, а это возможно только при диффузии кислорода через толщу дробленой горной породы. То есть, диффузия является основным механизмом подачи кислорода внутрь измельченной горной породы. Аук и Уодсворт [18] указывают, что скорость дренажа в значительной мере влияет на скорость диффузии кислорода через крупнокусковую руду; там же вводится понятие „ограниченной скорости дренажа” (ОСД), т. е. такой скорости истечения выщелачивающего раствора из дробленой рудной массы, при которой на единицу поверхности кусков породы равной крупности поступает одинаковое количество кислорода. Это понятие очень важно, потому что для достижения ОСД и сформулированного выше условия понадобится равный отрезок времени. Учет этого критерия совершенно необходим для правильного распределения во времени различных фаз орошения и осушения крупнокусковой рудной породы, т. к. при осушении аэрация улучшается, хотя и не всегда последовательно. В устройстве многих отвалов

предусматриваются различные методы аэрации. Например, на руднике Бьютт, Монтана (США) в так называемых „палеобразных“ отвалах воздух со скоростью $0,283 \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ под давлением до 828 кПа продували через пять полихлорвиниловых нагнетательных трубок диаметром 100 мм с отверстиями диаметром 1,6 мм, отстоящими друг от друга на 750 мм [141].

Было также обнаружено, что в отсутствии микроорганизмов извлечение меди из бедных порфировых руд прямо пропорционально количеству кислорода, прореагировавшего с рудой [39]. Кроме того, эти данные подтверждают важность чередования периодов орошения и осушения, что неоднократно отмечали исследователи [93]. В целом ряде работ подчеркивается важная роль достаточной аэрации для эффективности выщелачивания [26, 88, 89, 102, 126, 140, 159].

5.3.2. Контакт растворов и микроорганизмов с поверхностью минералов

В разделе 5.2 было показано, что эффективность бактериального выщелачивания пропорциональна степени вскрытия, степени смачивания (перколяции) и степени кислородообеспечения (оксигенации). Поэтому при подготовке к бактериальному выщелачиванию дробленой рудной породы необходимо создать такие условия, чтобы эти три параметра были максимальными.

5.3.2.1. Факторы, определяющие степень вскрытия рудных минералов

Рудные минералы обычно встречаются в пустой породе в форме прожилок, скоплений и вкраплений. В первичных рудах последняя форма является наиболее частой. Во вторичных сульфидах (зоны вторичного сульфидного обогащения) встречаются как вкрапления, взаимопрорастания минералов, так и образования, подобные прожилкам. Их появление связано с отложением сульфидов из просачивающихся растворов в естественные плоскостные трещины. Скопления сульфидных минералов встречаются только в самых богатых зонах неразрабатывавшихся ранее месторождений.

Все частицы руды контактируют с выщелачивающим раствором, если соблюдается хотя бы одно из следующих условий:

- порода содержит настолько много соединенных друг с другом пустот и естественных трещин, что все частицы руды хотя бы частично выходят на поверхность этих пустот или

- выщелачивающие растворы реагируют с участками породы, отделяющими соседние частицы руды, растворяя их.

Пористость. Большой объем ценных сведений о степени естественной вскрытости породы дают данные о ее пористости.

Поры в природе представляют собой щели между гранулами, способные поглощать воду. Пористость породы, обозначаемая безразмерным параметром n , представляет отношение общего объема пор к общему объему породы [140]:

$$n = \frac{V_p}{V_t}, \quad (5.7)$$

где V_p — объем пор в V_t .

V_t — общий объем породы.

Пористость пород бывает очень различной. Она почти нулевая в таких породах как молодой гранит, диабаз, габбро и мрамор, увеличивается до 40% и выше в некоторых известняках и туфах, достигает максимума 52,94% в рыхлых зернистых почвах, например, пористость обычного песчаника равна 15% [22, 73, 81]. Для вулканических пород также характерна высокая пористость, т. к. в них сохраняются отверстия, где проходили вулканические газы; однако система пор в вулканических породах не всегда хорошо взаимосвязана [81].

Пористость молодой вулканической породы редко превышает 1–2%, но по мере выветривания увеличивается до 20% и выше.

Однако, только микроскопический и минералогический анализы значительных по размеру образцов породы позволят оценить степень естественной вскрытости и возможность ее увеличения (путем искусственного выщелачивания с помощью кислотных растворов), а также определить, соответствует ли распределение крупности частиц дробленой породы желаемой степени вскрытия.

5.3.2.2. Проницаемость и степень трещиноватости

Очевидно, что степень вскрытия недробленой породы обычно слишком низка для того, чтобы выщелачивание было рентабельным. Исключение составляют урансодержащие песчаники. Поэтому в большинстве случаев породе надо раздробить, хотя бы с помощью взрывов. Однако удовлетворительная степень вскрытия является необходимым, но недостаточным условием для эффективного выщелачивания. Как было показано в разделе 5.3.1.4, воздух и выщелачивающие растворы должны иметь доступ даже к самым отдаленным труднодоступным участкам дробленой рудной породы. Для количественной оценки дробленой горной породы, с этой точки зрения, необходимо определить значения величин проницаемости и естественной трещиноватости породы.

Проницаемость можно определить как „способность пород пропускать жидкости“ [145]. Проницаемость породы целиком определяется ее пористостью, но пористая порода не обязательно проницаема. Проницаемость не прямо пропорциональна пористости, но зависит от размера пор, общего объема порового пространства и, особенно, от взаимосвязанности пор. Для оценки проницаемости необходимо знать взаимосвязь пор и трещин. Дробленую рудную породу можно рассматривать, по мнению Харриса [90], который одним из первых разработал модель бактериального выщелачивания для этого типа пород, как агрегат рыхлых, более или менее пористых частиц со своим собственным распределением по размеру (в соответствии

с „условием макрочастиц”) или как одну гигантскую „псевдочастицу” со своей собственной сложной сетью пор. Поэтому необходимо учитывать два значения пористости: пористость отдельных частиц и одной гигантской „псевдочастицы”. Сходным образом проницаемость будет разной в зависимости от того, рассматривается ли отдельная частица или вся дробленая горная масса.

Скорость истечения жидкости через поровые ходы описывается законом Дарси, которому подчиняется большинство пор, в том числе и дробленая горная порода. Были предложены два аналитических выражения этого закона. Первое выражение применяется в случае, когда протекающая жидкость является водой при постоянной температуре (около 20°C), и имеет следующий вид:

$$q_x = K \frac{dh}{dx} A, \quad (5.8)$$

где q_x — скорость потока в направлении x ($L^3 \cdot T^{-1}$);

h — гидростатический напор с размерностью (L);

A — площадь сечения, нормальная для x (L^2);

K — коэффициент проницаемости, имеющий размерность скорости ($m/ч$ или cm/c).

Когда температура значительно отклоняется от 20°C, или когда рассматриваются другие жидкости, закон Дарси может быть записан:

$$q_x = \frac{K}{\mu} \frac{dp}{dx} A, \quad (5.9)$$

где p — давление жидкости (равное $g \cdot \rho \cdot h$) с размерностью $F \cdot L^{-2}$ ($кг \cdot м^{-2}$);

μ и ρ — вязкость (с размерностью $F \cdot L^{-2} \cdot T$) ($кг \cdot м^{-2} \cdot ч$) и плотность жидкости, соответственно;

g — ускорение свободного падения.

Для воды при 20°C $\mu = 1,005 \cdot 10^{-3} N \cdot c \cdot m^{-2}$, $\rho = 1 кг \cdot м^{-3}$,
 $g = 9,81 м \cdot c^{-2}$.

Для этой формы закона Дарси коэффициент K не зависит от свойств жидкости. Он имеет размерность площади (например, квадратные метры или квадратные сантиметры). Перед введением Международной системы единиц (СИ) [74, 166] проницаемость обычно выражалась в единицах дарси: 1 дарси = $9,87 \cdot 10^{-9} см^2$. В табл. 5.4 [140] приводятся типичные значения проницаемости для воды при 20°C; 1 дарси соответствует примерно $10^{-3} см \cdot c^{-1}$.

Из уравнений (5.8) и (5.9) получаем:

$$k = \frac{\rho \cdot g}{\mu} K. \quad (5.10)$$

Таблица 5.4.

Проницаемость некоторых горных пород (по [140])

Породы	К ($см \cdot c^{-1}$) для пород при просачивании воды (20°C)	
	Лаборатория	Полевые испытания
Песчаник	$3 \cdot 10^{-3} - 8 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-3} - 3 \cdot 10^{-8}$
Глинистый сланец	$10^{-9} - 5 \cdot 10^{-13}$	$10^{-8} - 10^{-11}$
Известняк	$10^{-5} - 10^{-13}$	$10^{-3} - 10^{-7}$
Базальт	10^{-12}	$10^{-2} - 10^{-7}$
Гранит	$10^{-7} - 10^{-11}$	$10^{-4} - 10^{-9}$
Кристаллический сланец	10^{-8}	$2 \cdot 10^{-7}$
Трещиноватый сланец	$1 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-4}$	—

В горнорудном деле k называется коэффициентом проницаемости (перколяции) и используется чаще, чем K . Для воды при 20°C можно записать:

$$k_{20°C} = \frac{1,00 \cdot 9,81}{1,005 \cdot 10^{-3}} K_{20°C} = 9761,2 \cdot K_{20°C} \quad (5.11)$$

В зависимости от коэффициента перколяции породы разделяются на непроницаемые ($k < 1,16 \cdot 10^{-6} м \cdot c^{-1}$), слабо проницаемые ($1,16 \cdot 10^{-6} < k < 116 \cdot 10^{-6} м \cdot c^{-1}$), среднепроницаемые ($116 \cdot 10^{-6} < k < 5,8 \cdot 10^{-3} м \cdot c^{-1}$) и высокопроницаемые ($k > 116 \cdot 10^{-3} м \cdot c^{-1}$) [73].

Было установлено, что предельно низкий коэффициент проницаемости для выщелачивания находится в интервале от $2 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-6} м \cdot c^{-1}$ [55].

Определение проницаемости играет большую роль в оценке рентабельности подземного выщелачивания. Знание проницаемости позволяет определить, будут ли жидкости и газы естественным образом проходить через рудное тело или необходимы взрывные работы, чтобы проницаемость стала достаточной для эффективного выщелачивания. Более того, эффективность взрывных работ, улучшающих ток жидкости в непроницаемых породах, легко оценить, зная проницаемость. Проницаемость измеряется или лабораторным анализом образцов породы, или в ходе полевых испытаний. Наиболее удобные полевые тесты можно разделить на три категории: при постоянном гидростатическом напоре, при переменном напоре и исследовании методом нагнетания [55, 132]. Однако необходимо указать на одно важное расхождение между значениями проницаемости, полученными в лабораторных и в полевых условиях. Причина такого расхождения обычно лежит в наличии регулярно повторяющихся систем трещин и разломов по всей рудной массе. Примеры приведены в табл. 5.4. Поэтому лабораторные

и полевые измерения должны сопровождаться оценкой параметра, характеризующего степень естественной и/или вызванной (например, взрывными работами) трещиноватости породы.

5.3.2.3. Количественные характеристики трещиноватости породы

Рудные породы на месте залегания можно классифицировать по степени трещиноватости, что является необходимым условием для правильного планирования процессов биовыщелачивания. За последние годы во всем мире достигнуты большие успехи в области классификации рудной массы по структурным характеристикам. Удобны для использования классификации, изложенные в ряде руководств [21, 27, 28, 107, 116, 176]. Система классификации Биснавского содержит числовой параметр — „Оценка рудной породы” (ОРП), который оценивает характер породы, используя индекс Дизра „Оценка качества породы” (ОКП) [63, 98]. Последний учитывает относительное количество трещин и деформаций, наблюдаемое в кернах. На практике ОРП кажется более удобным для расчета прочности пород при строительстве тоннелей, выводится он сложнее, чем индекс Дизра, поэтому мы подробнее рассмотрим последний.

Индекс ОКП наиболее легко вычисляется как процент общей длины керна, полученного колонковым буром с алмазным наконечником, залегающего в монолитных участках более 0,1 м.

$$\text{ОКП} = 100 \cdot \frac{\sum_{i=1}^n l_i}{L} \quad (5.12)$$

где l_i — длина i -того участка скважины, превышающего 0,1 м,

n — количество участков монолитной породы длиной более 0,1 м,

L — длина буровой скважины, на которой определяется ОКП.

Если вместе с ОКП учитывать количество трещин (J_n) причем последнему параметру можно приписать численные значения (см. табл. 5.5), как предлагается Бартоной и др. [21], то отношение ОКП/ J_n будет описывать структуру породы и давать приблизительные размеры частиц или блоков.

Индекс трещиноватости (J_n)

Таблица 5.5

А. Массивная порода, отсутствие или небольшое количество трещин	0,5–1,0
Б. Одна система трещин	2
В. Одна система трещин, плюс случайные трещины	3
Г. Две системы трещин	4
Д. Две системы трещин, плюс случайные трещины	6
Е. Три системы трещин	9
Ж. Три системы трещин, плюс случайные трещины	12
З. Четыре или более систем трещин, плюс случайные трещины, сильное растрескивание, „сахарный кубик”, и т. п.	15
И. Измельченная порода, подобная земле	20

5.3.2.4. Индексы степени дробления породы

Естественная проницаемость и степень вскрытия большинства пород вулканического происхождения, с которыми часто связаны залежи сульфидов меди, обычно очень низкие, и доступ выщелачивающих растворов к частицам минерала затруднен. Для подземного выщелачивания часто бывает необходимо дальнейшее дробление породы на месте залегания с помощью взрывов. При кучном выщелачивании дробление осуществляется в дробильной установке. Специальным случаем выщелачивания на месте залегания является бактериальное выщелачивание, которое проводится в выработанных забоях и даже в новых горнорудных выработках. При дроблении породы взрывом с последующим измельчением оба эти процесса необходимо очень тщательно планировать, так как их стоимость может оказаться решающей при оценке рентабельности выщелачивания в целом [96]. Для проведения буровзрывных работ залежь разрабатывается традиционным способом так, чтобы буры имели доступ к местам расположения шпуров. На подготовительной стадии рекомендуется точно оценить стоимость такой традиционной разработки. Буровзрывные работы могут быть очень дорогими, поэтому необходимо учесть все связанные с ними факторы. Два из них, требующие наибольших затрат, связаны с бурением шпуров и взрывчатыми веществами, то есть с потреблением взрывчатых веществ на единицу объема или массы взрывающей породы. Для оценки затрат на бурение шпуров были введены индексы буримости. Одним таким индексом является широко распространенная шкала буримости, разработанная Протодьяконовым [136, 145], получившая название коэффициента прочности породы. Полуэмпирические методы определения геометрии шпуров и круговых схем расположения подробно описаны в руководствах, упомянутых в библиографии [49, 78, 106, 134]. При выборе взрывчатых веществ необходимо учесть, что акустическое сопротивление породы (произведение плотности

на скорость звука) должно быть близко по значению акустическому сопротивлению взрывчатого вещества (произведение плотности на скорость взрыва). Хороший пример правильной организации буровзрывных работ для подземного бактериального выщелачивания приведен в отчете о руднике Эгню Лейк. Желанное распределение частиц раздробленной породы по размеру было достигнуто сочетанием правильной геометрии шпуров (расстояние между шпурами и диаметр) с выбором наиболее подходящих взрывчатых веществ [105]. В табл. 5.6 приведены параметры буровзрывных работ в Эгню Лейк. Расхождение между измеренными и теоретическими значениями сопротивления объясняется, в основном, тем, что при вычислениях не учитываются реальные условия шпура, где находится взрывчатое вещество.

Фактор, связанный с взрывчатыми веществами, весьма успешно использовался в реализованных на ЭВМ моделях расчета стоимости подземного выщелачивания как функции от характера взрыва и параметров месторождения [151]. В самом общем случае, когда рудное тело покрыто вскрышей толщиной x и известна толщина рудной зоны y , предполагается, что

Таблица 5.6

Характеристика породы и взрывчатых веществ,
использованных для ее дробления на руднике Эгню Лейк [105]

Взрывчатое вещество	Плотность, кг·м ⁻³	Скорость м·с ⁻¹	Давление при взрыве, МПа	Давление передавае- мое породе, МПа	Используй- мая бризан- тная энер- гия, %	Акустическое сопротивле- ние, кг·м ⁻² ·с ⁻¹ × 10	
						расчетное	измеряемое
Нитрогель * Гидромекс М-210**	1000	4960	271	455	53	4,96	2,0
	1520	6640	631	970	70	10,09	3,0
Пауэрмекс 500*** Пауэрмекс 300*** Порода	1200	4000	400	650	61	4,80	2,43
	1200	4000	490	650	62	4,80	2,15
	Не опреде- лено	—	—	—	—	—	10,60

* Нитрогель — взрывчатое вещество, содержащее TNT [77].

** Гидромекс М-210 — гелеобразное взрывчатое вещество на основе TNT [77].

*** Пауэрмекс 500 и 300 — два гелеобразных детонанта [77, 105].

этот фактор возрастает с увеличением глубины рудной зоны в соответствии с уравнением:

$$P = \alpha + \beta (x + y), \quad (5.13)$$

где α и β — эмпирические коэффициенты.

Необходимо указать, что эти коэффициенты могут быть найдены по величинам, входящим в их аналитические формулы (как α и β в уравнении 5.13) с помощью полевых испытаний, проводимых по стандартным методам, описанным в литературе, или на основе прошлого опыта с аналогичными типами пород.

Как правило, при выщелачивании в отвалах стоимость дробления равна нулю, так как в отвалы поступает вскрышная порода, которая должна быть удалена, чтобы обеспечить доступ к руде. Поэтому буровзрывное дробление входит в стоимость добычи. В этом случае бактериальное выщелачивание есть не что иное как использование дарового материала, не предъявляющего никаких требований к размеру кусков породы.

При кучном выщелачивании ситуация совершенно иная. В этом случае бактериальное выщелачивание является процессом извлечения металла, проводимом биохимическими методами на рядовой руде, который заменяет традиционные методы обогащения руды. Поэтому абсолютно необходимо добиваться максимальной эффективности бактериального выщелачивания, а значит и максимальной степени вскрытия и извлечения металлов. Обычно буровзрывное дробление не обеспечивает необходимой крупности, поэтому руда затем поступает в дробилки, расположенные вблизи места добычи. Необходимо отметить, что измельчение обычно приводит к появлению мелких частиц (шламов) размером — 3 мм (при кучном выщелачивании — менее 3 мм), причем их количество может становиться очень большим в зависимости от типа породы. Как будет подробно описано в разделе 5.3.2.5, большое количество мелких частиц может отрицательно влиять на коэффициент перколяции и, возможно, снижать степень извлечения металла. Следовательно, лучше отсеять мелкие частицы и извлечь из них металл другими методами (например, чановым выщелачиванием, флотацией с последующей пирометаллургической обработкой концентрата). В этих условиях стоимость дробления и просеивания входит в общую стоимость бактериального выщелачивания. Опыт показывает, что стоимость грохочения прогнозируется с достаточно высокой степенью точности. Однако, количество энергии, необходимое для дробления определенного типа породы с разным распределением частиц по размеру, трудно оценить непосредственно, и аналитические способы пока не разработаны. Существует, правда, полуэмпирическая модель, разработанная в начале 50-х годов американским технологом Ф. К. Бондом [29], которая дает довольно точный прогноз относительно количества энергии, затрачиваемой на дробление данной породы. Предлагается использовать специально изготовленную лабораторную шаровую или стержневую мельницу, действующую строго определенным образом, чтобы найти так называемый „индекс работы” (W_i), т. е. энергию в кВт·ч, необходимую для измельчения 1 малой тонны (907 кг) руды с размером частиц от теоретически бесконечного до такого, чтобы

80% частиц по весу прошло через сито с квадратными отверстиями в 100 мкм.

Энергия, выраженная в киловатт-часах ($\text{кВт} \cdot \text{ч}^{-1}$) на малую тонну породы, необходимая для дробления руды с разными размерами частиц, от таких, 80% которых проходит через квадратные отверстия размером F одного сита, до таких, 80% которых проходит через квадратные отверстия размером f другого сита, вычисляется по следующему уравнению:

$$E = 10W_i \left(\frac{1}{f} - \frac{1}{F} \right) \quad (5.14)$$

5.3.2.5. Продвижение выщелачивающего потока внутри раздробленной породы и факторы на него влияющие

В предыдущих разделах было показано, что эффективность выщелачивания в большой степени зависит от методов дробления породы, гранулометрических характеристик раздробленной породы (мелкие частицы могут заполнять пустоты между более крупными частицами, что нарушает процесс выщелачивания) и от состояния породы (например, выветривание руды ведет к образованию шламов). Кроме того, снижение проницаемости рудной массы приводит к уменьшению эффективности выщелачивания, так как некоторые зоны рудного массива могут оказаться изолированными от выщелачивающих растворов.

На основе вышесказанного и данных по руднику Чино в штате Нью-Мексико [92] была предложена модель процесса выщелачивания внутри раздробленной породы, использующая распределение расстояний между наиболее вероятными путями продвижения раствора [92, 143]. Данные по руднику Чино были получены с помощью так называемого метода исследования $\gamma - \gamma$. Гамма-лучи от источника, помещенного в скважину, пробуренную в отвале, бомбардируют стенки скважины и отражаются от них, сталкиваясь с атомами породы. Количество отраженных γ -лучей статистически связано с плотностью атомов породы, окружающей источник. При данной интенсивности излучения, известном расстоянии между источником и детектором и при определенной геометрии стенок количество γ -лучей, достигающих детектор, пропорционально плотности рудной массы в исследуемых отвалах. В том случае, если большая часть растворов оказывается в зонах отвалов с низкой плотностью, т. е. в наиболее вероятных путях продвижения (каналах), методом $\gamma - \gamma$ можно определить локализацию их центров. Отношение между распределением индексов центральной линии и распределением частиц по размеру для исследуемого образца в случае рудника Чино составило 30:1. Указанный метод успешно используется в лабораторных экспериментах по выщелачиванию в колоннах. Это отношение полезно знать при подготовке выщелачивания в раздробленной рудной породе, особенно в кучах и отвалах, где породы бедны и эффективность выщелачивания должна быть наибольшей.

Аналогичные исследования на отвалах в Рам Джангле (Австралия) [61] показали значительный диапазон изменения плотности (от 1150 до 2000

$\text{кг} \cdot \text{м}^{-3}$) вследствие изменений влажности породы, связанных с атмосферными осадками. Выяснилось, что растворы долгое время удерживаются в породе. Во время сухого сезона обезвоживается от 0,1 до 1,5 м поверхностного слоя породы.

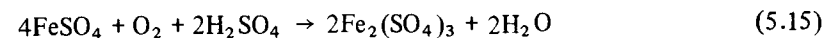
На опытно-промышленной установке изучалась неравномерность скорости потока растворов через раздробленную рудную породу [131]. Продвижение потока внутри экспериментального отвала зависело от скорости потока на единицу площади поверхности. Было показано, что для малых скоростей потока ($< 300 \cdot 10^{-6} \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$) распределение потока, как функция от скорости потока, является неустойчивым. Раствор проникает по узким потокам, хорошо смачивая только ограниченную часть раздробленной рудной породы. Для высоких скоростей потока ($> 500 \cdot 10^{-6} \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$) распределение потока является более стабильным и полным, а скорость потока почти не влияет на распределение жидкости.

Из-за относительно слабой разработки этой важной темы пока не сформулированы принципы подготовки рудной породы к эффективному бактериальному выщелачиванию. Однако уже можно оценить ущерб, который связан с неправильной подготовкой руды. И в самом деле, гетерогенный поток раствора может не достичь значительных объемов породы, что приведет к потерям извлекаемого ценного компонента.

Одной из самых важных реакций в процессе выщелачивания является окисление Fe^{2+} в Fe^{3+} ; последний — активный окислитель, участвующий в растворении некоторых медных руд. Во время выщелачивания двухвалентное железо подается в раздробленную породу или образуется в ней тремя путями [177]:

- 1) Рециркуляцией раствора из установки для извлечения металла.
- 2) Восстановлением Fe^{3+} во время окисления сульфидов и некоторых других минералов.
- 3) Растворением железосодержащих руд.

Окисление Fe^{2+} в Fe^{3+} осуществляется, в основном, кислородом и бактериями и зависит на практике от большого числа параметров. Закисное железо окисляется в присутствии бактерий в соответствии с реакцией:



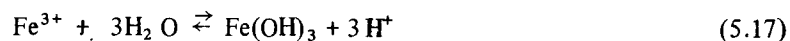
При комнатной температуре эта реакция подчиняется следующему уравнению кинетики [95]:

$$-\frac{d \ln(\text{Fe}^{2+})}{dt} = k_b P_{\text{O}_2} + k_t (\text{Fe}^{2+}) P_{\text{O}_2}, \quad (5.16)$$

где k_b и k_t также могут быть зависимы от концентрации ионов сульфата и водорода.

Скорость реакции является величиной второго порядка относительно концентрации двухвалентного железа и величиной первого порядка по отношению к концентрации кислорода или парциальному давлению. Хотя

скорость реакции и зависит от величины pH, на нее мало влияют колебания pH ниже 1,5 [155]; однако при pH выше 2 в сульфатных растворах скорость реакции быстро увеличивается с ростом pH. Этот вывод справедлив для химического процесса окисления Fe^{2+} . Ионы трехвалентного железа мало растворимы в водных растворах, еще меньше, чем ионы двухвалентного железа. Когда его содержание повышается либо благодаря окислению Fe^{2+} в Fe^{3+} , либо из-за повышения pH, трехвалентное железо гидролизует в соответствии с уравнением (5.17) и достигается новое состояние равновесия



На самом деле реакции могут быть более сложными, например, могут образовываться гидроокислы или коллоидные окислы с выпадением в осадок более или менее сложных солей. Эти соединения трехвалентного железа растворяются очень медленно, особенно после „старения“, и могут покрывать коркой поверхность медной руды, замедляя процесс ее выщелачивания. Кроме того, они могут частично или полностью перекрывать щели между кусками породы или поры, меняя путь тока выщелачивающих растворов.

В опубликованном подробном обзоре, посвященном равновесиям в водных растворах, содержащих ионы двух- и трехвалентного железа, а также ионы сульфатов [26], подчеркивается важность величины pH в выщелачивающем растворе для образования осадков. Окислительно-восстановительный потенциал выщелачивающего раствора внутри раздробленной руды в значительной степени зависит от соотношения между двух- и трехвалентным железом ($[Fe^{3+}] / [Fe^{2+}]$), поэтому его целесообразно измерять. До настоящего времени постоянный контроль за величиной окислительно-восстановительного потенциала в выщелачивающем растворе проводился на опытно-промышленном предприятии во Влайков Врыхе (Болгария), а также на ряде предприятий в СССР [5, 6, 85, 102].

На одном из отвалов в Канане [56], где после пяти лет эксплуатации была вырыта траншея глубиной 23 м, осмотр стенок траншеи позволит выявить толстые слои сульфатов меди и железа, в особенности, ярозита, гетита, гематита и халькантита. Этим отложениям способствуют водонепроницаемые слои глины и преимущественно восстановительная среда в глубине раздробленной породы. Известны аналогичные результаты, достигнутые при экспериментальном бактериальном выщелачивании на двух опытно-промышленных меднорудных отвалах объемом 1200 т [99].

Очевидно, трудно изменить условия внутри раздробленной рудной породы; их можно улучшить, удаляя железо из раствора осаждением в отстойниках, частично заменяя богатые железом растворы пресной водой и, наконец, регулируя pH растворов.

На важность тщательного контроля за содержанием железа и значением pH выщелачивающих растворов в промышленных условиях указывают Аук и Уодсворт [18]. Эти авторы выделили химические и физические параметры, связанные с химическим выщелачиванием раздробленной породы [39].

Их результаты, полученные при лабораторных исследованиях для двух порфировых медных руд, можно считать действительными и для других процессов, например, бактериального выщелачивания. Авторы исследовали зависимость скорости извлечения меди, железа и компонентов породы, а также значение таких факторов, как потребление кислоты, скорость проникновения выщелачивающих растворов в раздробленную массу породы и влияние крупности выщелачиваемых частиц, скоростей стока, величины pH и температуры на потребление кислорода. Были показаны существенные различия в кинетике извлечения меди, железа и элементов породы (магния, кальция и алюминия). Извлечение меди в раствор происходит, когда выщелачивающие растворы проникают в поры, каналы, соединяющие внешнюю поверхность частиц с минеральными зернами, рассеянными по породе (рис. 5.3). Стенки этих пор покрыты основными сульфатами железа. Сульфидные частицы являются источником меди и/или железа; в то же время они вызывают закупорку промежутков между частицами, блокируя прохождение растворов и замедляя развитие каналов. Следовательно, для того, чтобы произошло выщелачивание, растворы должны соприкасаться с сульфидными частицами, а это может произойти только в том случае, если выщелачивающие растворы достаточно кислые, чтобы перевести в раствор оса-

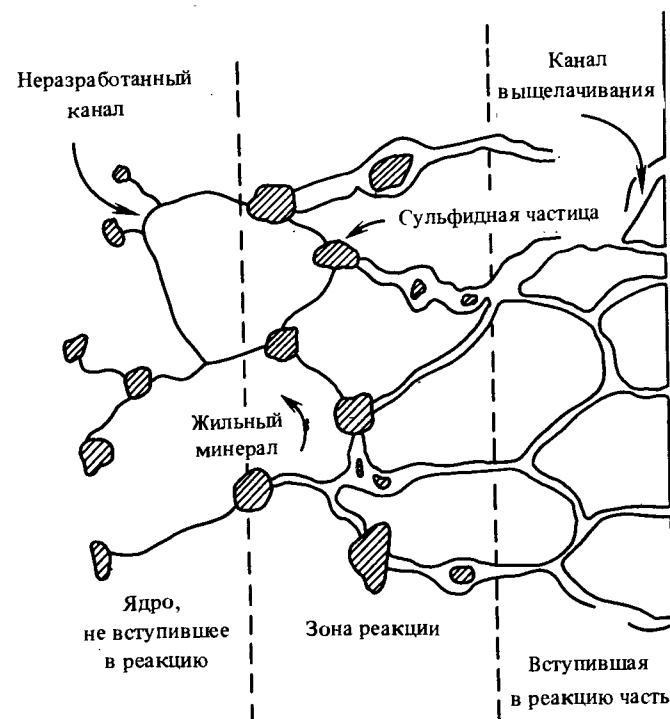


Рис. 5.3. Схема образования каналов и реакции для вступающей в реакцию частицы руды

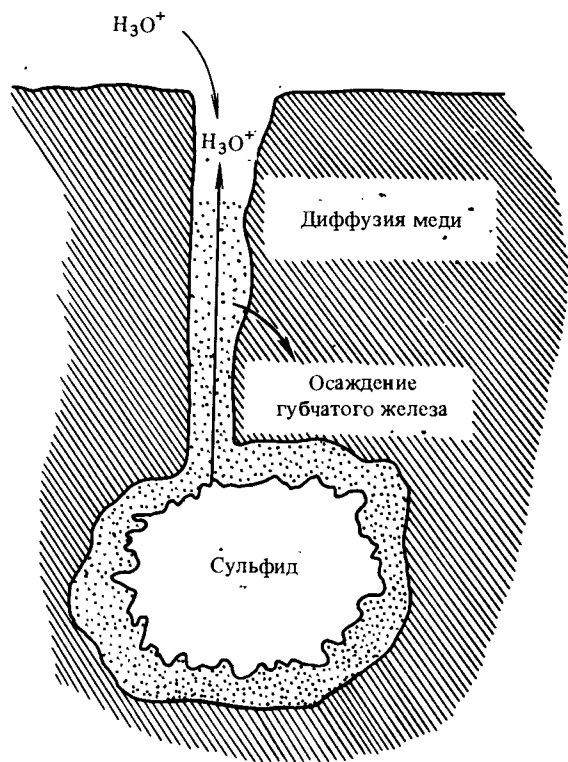


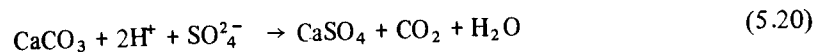
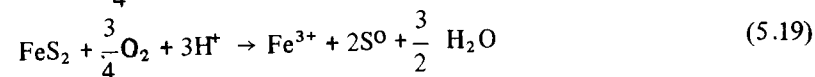
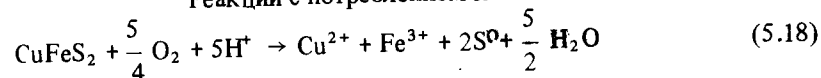
Рис. 5.4. Пример процесса выщелачивания сульфидных частиц

док основного железа, блокирующий канал (рис. 5.4). Вследствие этого выщелачивающий раствор обогащается трехвалентным железом, которое затем участвует в извлечении меди. Растворяемая медь в конце концов диффундирует через оставшийся пористый основной осадок, блокирующий канал, в выщелачивающий раствор, этот раствор образует водную пленку вокруг частицы породы, содержащей канал. Однако, как только pH начинает превышать 2.5 или 2.6, процесс значительно замедляется: при низких значениях pH скорость растворения солей превалирует над скоростью их образования, что делает pH одним из важнейших параметров в цикле выщелачивания. Растворение элементов породы происходит, вероятно, по путям прохождения выщелачивающих растворов, зависящим от степени дробления. Геометрия этого процесса совершенно отлична от распределения пор, ведущих к сульфидным частицам.

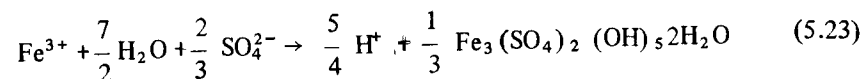
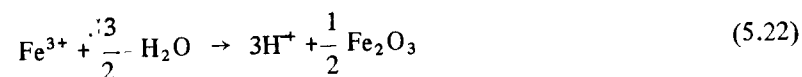
При выщелачивании халькопирита сначала наблюдается снижение pH выщелачивающего раствора, затем оно стабилизируется при значениях около 1.9 [32]. Этот буферный эффект, характерный для систем выщелачивания, ведет к равновесию в стационарных условиях протекания H_3O^+ -зависимых

реакций, в которых участвуют и сульфиды металлов и элементы породы. Браун и др. [32] подчеркивают важность ниже описанных буферных реакций, связанных с выщелачиванием халькопирита:

Реакции с потреблением кислоты:



Реакции с выделением кислоты:



Из уравнений (5.22) и (5.23) ясно, что образуются гематит и ярозит, причем последний в очень больших количествах, что и наблюдается в рассматриваемых промышленных процессах.

5.4. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Прежде, чем приступить к конкретной разработке деталей процесса бактериального выщелачивания, необходимо провести предварительные исследования и испытания, чтобы оценить его рентабельность и оптимальные технико-экономические условия осуществления.

Специальные исследования часто определяются выбранным методом выщелачивания, а испытания, в основном, универсальны. С помощью этих испытаний оценивается пригодность руды к бактериальному выщелачиванию и определяются параметры этого процесса: кинетика растворения и извлечение полезного компонента, связанные с распределением по размеру частиц в раздробленной рудной породе, скорость и периодичность орошения, оптимальная температура, потребление серной кислоты, состав питательного вещества. Эти испытания проводятся в колбах и на качалках, в эрлифтных перколяторах, в колонках и на опытных отвалах; они подробно обсуждаются в разделах 3.1.2. — 3.1.5. главы 3.

Для всех трех методов выщелачивания необходимы исследования минералогического и химического состава руды, они описаны в разделе 3.1.1. главы 3. Другие виды исследований, необходимые для двух конкретных методов выщелачивания, будут описаны при их обсуждении.

5.5. ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ НА МЕСТЕ ЗАЛЕГАНИЯ

Истощение богатых зон известных месторождений заставляет горнорудные компании искать новые залежи и в то же время развивать новые методы разработки тех участков старых залежей, где содержание ценного компонента ниже бортового.

Бортовое содержание определяется как „такое содержание ценного компонента, которое позволяет покрыть расходы от производства до реализации конечного продукта, включая амортизационные расходы и получение минимальной прибыли” [86], и используется для разграничения руды и пустой породы или как наиболее низкое содержание ценного компонента, при извлечении которого может быть обеспечено получение максимальной прибыли [171]. Однако на некоторых залежах низкое содержание минерала и/или малые запасы делают нерентабельной эксплуатацию обычными методами. На этих залежах удобно применять выщелачивание, в том числе и бактериальное.

Процесс этот очень прост и, как указывает Роуз [144], продолжается в естественных условиях уже миллионы лет. При обнажении сульфидных руд на них воздействуют атмосферный кислород, вода и микроорганизмы, приводя к образованию, а затем к растворению окисленных продуктов. Подземное выщелачивание можно проводить в подземных забоях или в ранее не разрабатывавшихся месторождениях (рис. 5.5), либо после применения традиционных методов добычи (рис. 5.6). В последнем случае дальнейшее применение традиционных методов может оказаться нерентабельным и опасным вследствие обрушения боковой породы и/или низкого содержания ценного компонента и/или неустойчивости горных выработок. С точки зрения перевода металлов в раствор и необходимого оборудования эти два случая не отличаются друг от друга, но они требуют различных подготовительных работ. Этот же тип выщелачивания может применяться для залежей или частей залежей, выходящих на поверхность, вместо обычных методов добычи в карьере.

Необходимо подчеркнуть следующее:

1) подземное бактериальное выщелачивание, в целом, не сильно отличается от непосредственного химического подземного выщелачивания; микроорганизмы только катализируют или ускоряют химический процесс;

2) промышленное использование этих методов ограничивалось эксплуатацией тех медных и урановых месторождений, где известные методы доизвлечения металлов были нерентабельными;

3) невозможно точно прогнозировать эффективность подземного выщелачивания, так как отсутствуют надежные методы для определения содержания ценного компонента и запасов руды до и после выщелачивания.

После открытия *T. ferrooxidans* в начале 50-х годов было предпринято несколько полупромышленных испытаний по биовыщелачиванию меди и урана. Медь выщелачивали на Дегтярском руднике в Советском Союзе [158], на руднике Майами в Аризоне [76], на карьере Кимбли в Неваде [157] и на шахте Косака в Японии [161]. В более позднее время выщелачиванию подверглись два не разрабатывавшихся ранее месторождения:

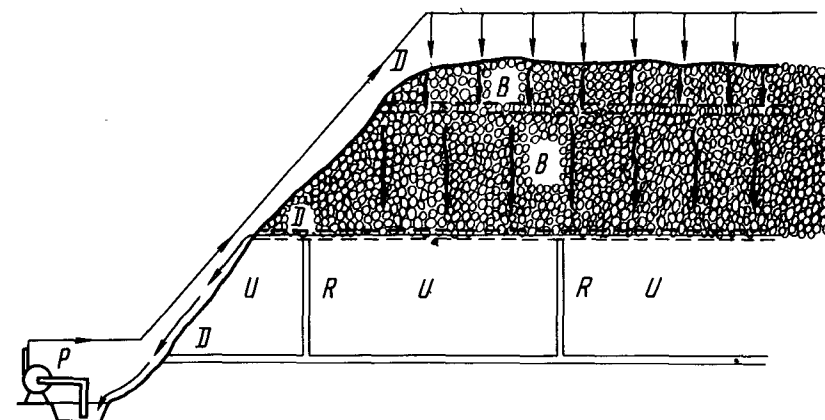


Рис. 5.5. Схема выщелачивания на месте залегания неразработанных ранее жильных рудных тел. Продольный разрез:

D — штольны; B — раздробленная руда; U — неразработавшаяся руда; R — восстающие выработки; P — насос

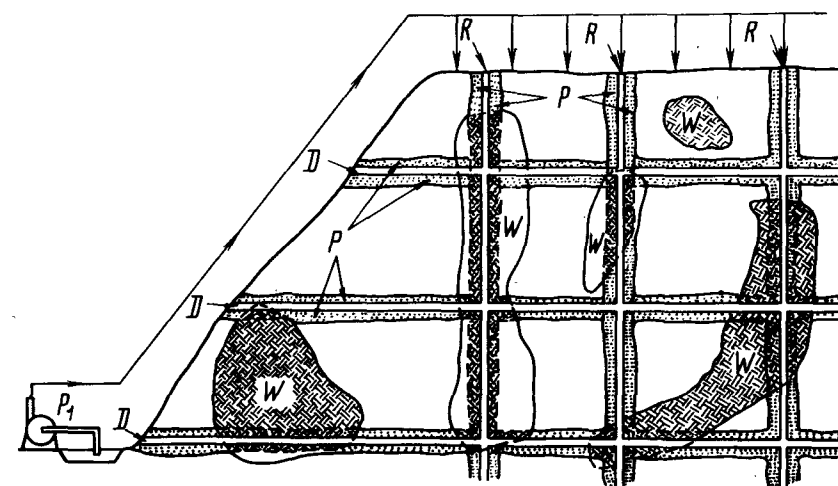


Рис. 5.6. Схема выщелачивания на месте залегания выработанных жильных рудных тел. Продольный разрез:

D — штольны; R — восстающие выработки; P — колонки; W — выработанное пространство; P₁ — насосы

Олд Релайабл в Аризоне и Биг Майк в Неваде, причем проницаемость породы увеличивали буровзрывным дроблением [57, 119]. В начале 80-х годов успешное опытно-промышленное выщелачивание в подземных блоках было проведено на руднике Ганпаудер, Квинсленд (Австралия), где рядовая руда в количестве 55.000 тонн, состоящая из халькозина, халькопирита и

пирита с небольшим количеством сульфидов меди во вмещающей породе песчанике, аркозовом песчанике и кварците, дробилась буровзрывным способом [47]. В течение первых шести месяцев извлечение меди составило приблизительно 33%. Недавно было проведено опытное выщелачивание залежей окиси меди [59] и осуществлено опытное подземное выщелачивание на трех рудниках со сложными сульфидными рудами в Европе: в Авоке (Ирландия) при финансовой поддержке Европейского сообщества [46, 168], в Раммельсберге на руднике с истерпанными сложными сульфидными рудами (ФРГ) [109] и в Северной Италии при поддержке Национального научно-исследовательского совета Италии, на руднике с халькопиритсодержащими рудами. Из-за застоя на рынке на этом руднике были прекращены работы по добыче, флотации и обогащению в начале 70-х годов [142]. Подземное выщелачивание на двух урановых рудниках — Стэнрок (Онтарио, Канада) [67, 123—125] и Питч (Колорадо, США) [121] позволило получить несколько сотен тонн урана. В 1970 году был проведен эксперимент на неразработавшейся залежи урана на руднике Эгню Лейк (Канада) [105, 147, 149 169], но опубликованных данных о нем мало.

Все эти эксперименты позволили лучше понять технологию этого процесса.

Применение подземного выщелачивания, в том числе и бактериального, зависит от различных факторов, связанных с геологическими и топографическими свойствами залежи, местными метеорологическими и гидрологическими условиями и с определенными механическими свойствами вмещающей породы и руды. Геологические и топографические свойства включают:

- 1) локализацию с точки зрения орографии;
- 2) форму и размеры залежи;
- 3) литологию и минералогический состав руды и пустой породы.

Топографические особенности могут в большой мере влиять на рентабельность промышленного выщелачивания. Например, чтобы обеспечить доступ к глубоко залегающему рудному телу, необходим хотя бы один шахтный ствол, оборудованный подъемными механизмами, что ведет к значительно большим капитальным вложениям и расходам на эксплуатацию, в то время как для разработки рудного тела, залегающего выше топографической поверхности земли, достаточно штолен. При оценке рентабельности подземного выщелачивания необходимо учитывать такой важный фактор, как сочетание топографических и гидрологических параметров, среди которых особое место занимает уровень грунтовых вод (т. е. геометрическая поверхность, ниже которой грунт насыщен водой, в простейшем случае, когда грунт однороден и непрерывен — это плоскость).

Выщелачивающие растворы подаются в залежь следующими способами:

- 1) „нисходящая” перколяция или просачивание под воздействием силы тяжести: выщелачивающий раствор обтекает поверхность частиц, не затопляя их. Это дает возможность газовой фазе диффундировать через жидкую пленку, обволакивающую частицы.
- 2) Затопление горной породы: ток выщелачивающих растворов может быть либо „восходящим”, либо „нисходящим”, но в этом случае может на-

рушаться режим аэрации. Затопление может оказаться единственным приемлемым методом, как указывает Брунштейн [40], когда нет доступа к раздробленной рудной массе, например, в небольших забоях, наполненных рудой. В лабораторных исследованиях с эрлифтными перколяторами были проанализированы четыре режима перколяции, включая выщелачивание смачиванием и затоплением [137]. Было показано, что непрерывный контакт выщелачивающего раствора с рудой в режиме циркуляция/затопление улучшает переход металла в раствор при перколяции. Эти результаты противоречат данным Брунштейна [40] о том, что затопление затрудняет доступ необходимого количества кислорода ко всей раздробленной рудной массе. Возможно, это расхождение только кажущееся, так как аэрация выщелачивающего раствора в эрлифтных перколяторах отличается от того, что происходит в массе раздробленной руды в реальном забое.

3) Опрыскивание поверхности обнаженных стен в забоях водной струей, с помощью водосточных желобов, а также дождевальными установками и распылителями.

Очевидно, первый способ применим только в случае раздробленной (буровзрывным способом или гидроразрывом) горной породы. Выщелачивающий поток не должен попадать в пройденные ранее штольни, стволы и другие пустоты. Если на поверхности этих пустот еще остается значительное количество руды, можно применять способ 2. Во всяком случае, необходим тщательный гидрологический анализ литосферной зоны, устанавливающий положение уровня грунтовых вод и позволяющий оценить возможное загрязнение грунтовых вод и потери продуктивного раствора.

Уодсворт [172] предлагает различать три основных типа систем выщелачивания в зависимости от положения уровня грунтовых вод. К типу 1 принадлежат части залежей, выходящие на поверхность, либо находящиеся на дне карьеров, а также месторождения внутри литосферы, но над уровнем грунтовых вод (рис. 5.7). Тип 2 (рис. 5.8) включает рудные тела, расположенные частично или целиком ниже уровня грунтовых вод, но не настолько глубоко, чтобы были неприменимы традиционные или скважинные методы добычи. Залежи типа 3 (рис. 5.9) расположены настолько ниже уровня грунтовых вод, что традиционные методы добычи часто становятся нерентабельными.

Месторождения типа 1 можно выщелачивать любым из перечисленных способов, причем сохраняются сходные гидрологические и химические условия.

Подземное выщелачивание месторождений типа 2 может потребовать предварительной разработки залежи, например, проходки ствола или наклонных штолен и штреков. Через эти подземные выработки руда дробится буровзрывным способом до размеров, пригодных для выщелачивания. Если на подземных работах заняты люди, необходимо искусственно понизить горизонт грунтовых вод с помощью обычной системы дренажа, например, водоотливных штреков или насосов. Для предотвращения потерь продуктивного раствора горизонт грунтовых вод должен быть ниже, чем отстойник насоса, выкачивающего продуктивные растворы. Они не должны попадать в природную водную систему, чтобы не загрязнять водоносный слой и предотвратить потери ценного компонента.

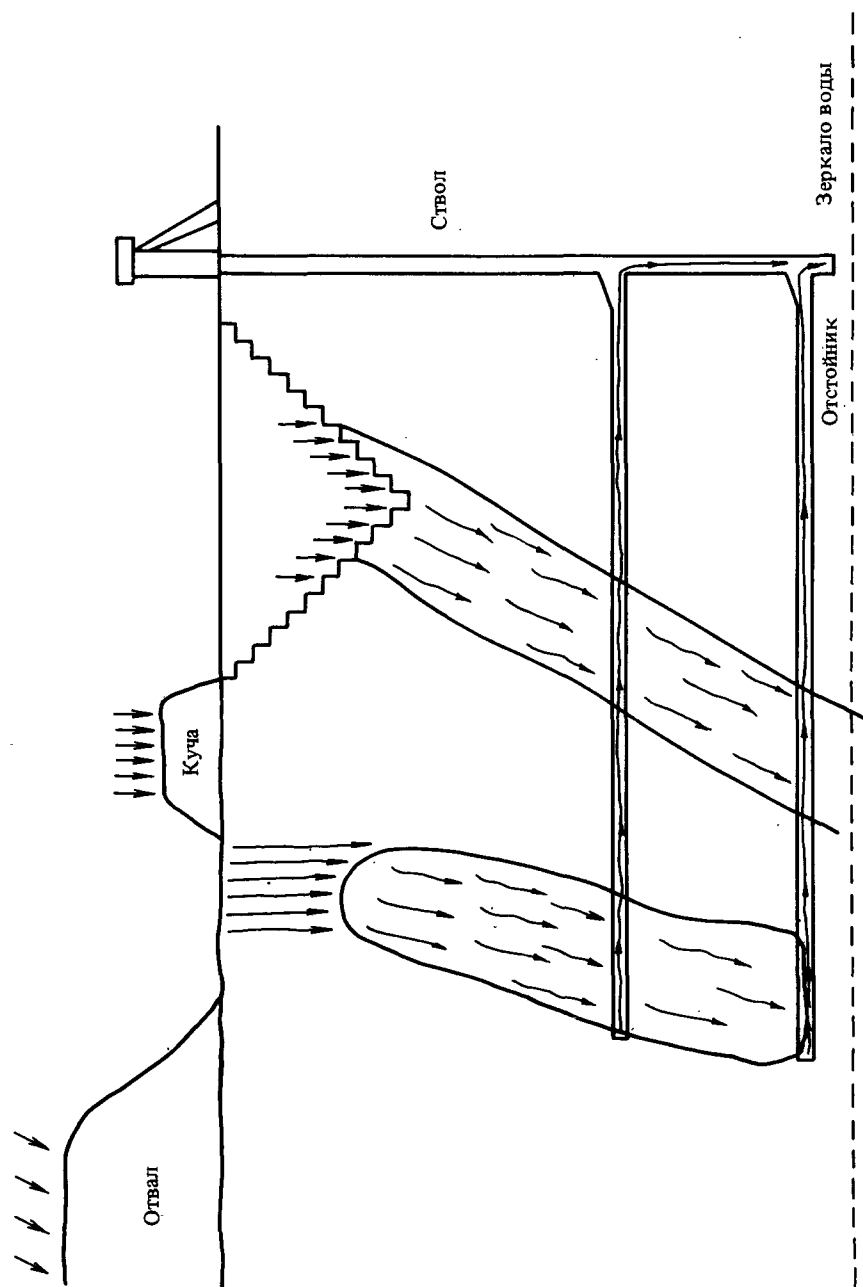
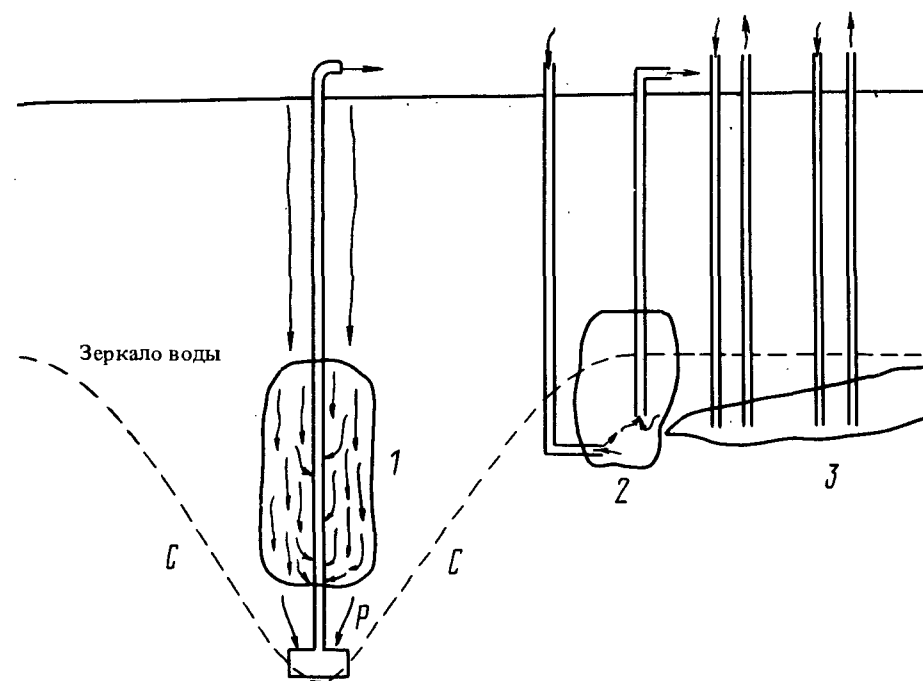


Рис. 5.7. Первый тип выщелачивания на месте залегания по классификации Уодсворта: рудные тела расположены над зеркалом воды



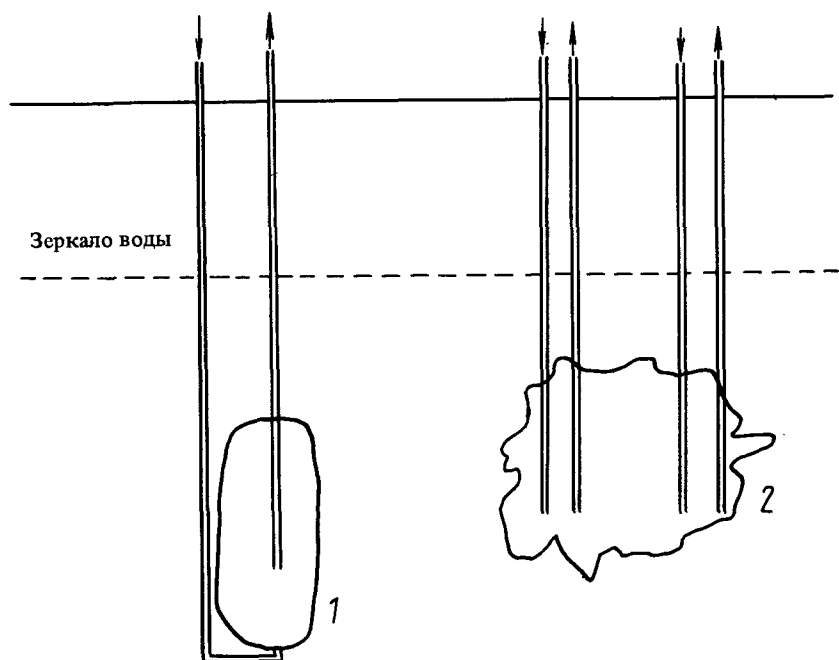
В рудных телах типа 1 и 2 проницаемость достигается либо буровзрывным методом, либо применением химических реагентов, либо гидроразрывом. Рудные тела типа 3 обладают высокой изначальной трещиноватостью

Рис. 5.8. Второй тип выщелачивания на месте залегания по классификации Уодсворта: рудные тела расположены на средней глубине под зеркалом воды

Трудности могут возникнуть, если грунтовые воды частично или полностью соленые (например, из-за близости моря); при смешивании соленой воды с выщелачивающими растворами могут возникнуть условия, подавляющие рост бактерий.

Ниже подробно обсуждаются проблемы, возникающие при выщелачивании залежей типа 3, которые исследовались как промышленными, так и научными организациями.

Что касается метеорологических условий, то температура воздуха может влиять и на рост микроорганизмов, и на стоимость эксплуатации. Некоторые рудники расположены высоко в горах или/и в высоких широтах, где температура воздуха остается ниже 0°C на протяжении нескольких месяцев в году. При этих условиях бактериальное выщелачивание в открытых карьерах может вообще приостановиться в холодные месяцы, так как поверхностные воды замерзают. Во всяком случае, приходится предусматривать соответственный нагрев всех установок, где из продуктивных растворов извлекаются ценные компоненты. В подземных шахтах ситуация другая, иногда экономически более выгодная. Подземные выработки обыч-



Необходимая трещиноватость в рудных телах типа 1 достигается химически или гидроразрывом. В рудных телах типа 2 трещиноватость достигается буровзрывным методом (с применением либо химических, либо ядерных зарядов) или гидроразрывом

Рис. 5.9. Третий тип выщелачивания на месте залегания по классификации Уодсворта: рудные тела расположены на большой глубине ниже зеркала воды

но являются естественными термостатами, и температура в забоях сохраняется постоянной круглый год. Во время самых холодных месяцев поверхностные воды, попадающие в шахту через отверстия, замерзают, и их приток прекращается, но в подземных забоях, даже на глубине в несколько десятков метров, продолжается циркуляция раствора. В некоторых случаях, когда в выработанных забоях и туннелях, пройденных в твердой породе, много свободного места, а также при наличии хорошей вентиляции в этих пустотах можно расположить установку для извлечения металла, например, желоба для цементации меди [142].

Важное значение имеют форма и размеры рудного тела. Чем правильной и компактней форма рудного тела, тем более равномерен контакт выщелачивающих растворов с раздробленной рудной массой. Сравнительно бедное жильное месторождение, толщиной не более 5 м, размером по простиранию и в глубину в несколько сот метров, потребует больше точек подачи раствора, чем компактное рудное тело.

Орографические параметры также очень важны, так как выщелачиваю-

щие растворы обычно продвигаются вниз. Они собираются в самом глубоком из доступных участков залежи и затем выкачиваются на поверхность для извлечения из раствора ценных компонентов.

Чем глубже расположена залежь, тем больший гидростатический напор должен преодолевать насос для обеспечения циркуляции раствора, следовательно, тем выше потребление энергии на единицу массы извлеченного металла. Сила, необходимая для нагнетания $Q \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ жидкости при полном динамическом напоре H , рассчитывается по формуле [104]:

$$P = \frac{Q \cdot H \cdot \rho}{\eta}, \quad (5.24)$$

где ρ — плотность жидкости;

η — подача насоса.

Общий динамический напор представляет собой сумму динамической высоты всасывания, плюс гидростатический разгрузочный напор, плюс скоростной напор, плюс потери в скорости на выходе, плюс напор, необходимый для преодоления фрикционных потерь в разгрузочной скважине.

Для приблизительных расчетов по формуле (5.24) вместо H можно использовать полный гидростатический напор, т. е. расстояние по вертикали от поверхности продуктивного раствора в растворосборнике до точки самоизлива в разгрузочных скважинах.

Понятно, что затраты на перекачивание растворов увеличиваются с глубиной. Энергия, необходимая для откачки 1 м^3 воды при геометрическом напоре в 100 м, теоретически равна $0,972 \text{ MJ}$, а практически достигает почти $1,44 \text{ MJ}$ [128]. Учитывая, что продуктивные растворы при подземном выщелачивании должны содержать около $3 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$ меди, становится ясно, что глубина может стать непреодолимым экономическим препятствием. При подземном небактериальном выщелачивании урана на объекте Эль Мескито выщелачивающие растворы выкачиваются с глубины 100 м при скорости потока от $38 \cdot 10^{-3}$ до $57 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ [44].

Литологический и минералогический состав руды, а также рудной породы влияет на успех выщелачивания. Присутствие сульфидов металлов, особенно пиритов, обычно свидетельствует о среде, благоприятной для роста бактерий рода *Thiobacillus*, а присутствие молибдена, который отличается очень высокой токсичностью по отношению к этим микроорганизмам, замедляет их рост. При контакте с карбонатными рудными породами величина pH выщелачивающих растворов может превысить 2,35 [117], оптимальную для роста *Thiobacillus*, при pH выше 4,0 рост микроорганизмов практически прекращается. Такого нежелательного повышения pH можно избежать, увеличивая кислотность выщелачивающих растворов; однако эта операция может стать слишком дорогостоящей.

Химическое взаимодействие кислотных выщелачивающих растворов с некоторыми типами пород также может привести к нежелательным последствиям. Вскрышные породы часто содержат тонкие слои глины и ила, которые могут забивать проходы между кусками породы и внутри них, затрудняя проникновение выщелачивающих растворов через рудную массу. Это

часто наблюдается, например в случае порфировых монзонитов и измененных гранитов. Известны серьезные отрицательные последствия, обусловленные присутствием листовых силикатов в микротрещинах рудной породы [68].

Еще одним важным фактором является естественное выветривание, которое влияет на проникновение растворов в породу [172]. Выветривание может либо ускорить, либо замедлить растворение, в зависимости от размера частиц. Иногда ускоренное выщелачивание может приводить к уменьшению размера частиц и образованию глинистого шлама.

Важную роль играют тектонические и механические свойства породы: со времени своего образования рудные тела обычно проходят те же ступени тектонической эволюции, что и литосфера, в которой они были сформированы. То есть, они подвергаются всем деформациям, передаваемым через земную кору. Структурная геология учит, что, если возмущение распространяется по земной коре, оно разрушает самые слабые (кристаллические) участки. Нарушения представляют собой более или менее протяженные плоскости сдвига, или „сбросы”, вдоль которых происходят относительные смещения или „дислокации”, величиной от нескольких сантиметров до тысяч метров. Кроме того, наблюдается истинное дробление или „тектонизация” породы, подверженной деформациям. Разломы в рудном теле могут затруднять процесс выщелачивания: в случае сбросов выщелачивающий раствор начинает преимущественно проходить по плоскостям трещин, как было показано на опытно-промышленных объектах [157]. В этом случае растворы минуют соседние зоны минерализации и могут совсем исчезать в сбросах, которые ведут себя как карстовые воронки. Это ведет к невосполнимым потерям ценного компонента. Аналогичные проблемы возникают при сильном локальном растрескивании более или менее протяженных участков рудной залежи, что приводит к появлению нерегулярной системы трещин, куда просачивается выщелачивающий раствор. Присутствие глины в трещинах может еще более осложнить ситуацию. С другой стороны, как известно, успех подземного выщелачивания зависит от доступа выщелачивающих растворов ко всей рудной массе [25]. Выщелачивание наступает только при непосредственном контакте растворов с рудой, который обуславливается необходимой степенью вскрытия и доступности. Доступность можно оценивать, учитывая несколько параметров, например, степень измельчения, объем и форму, а следовательно, удельную поверхность и размер зерен, содержание ценного компонента во вмещающей породе, а также пористость и проницаемость руды и вмещающей породы. Особенно неблагоприятные условия возникают при незначительной пористости руды и большой пористости вмещающей породы, в этом случае выщелачивающие растворы просачиваются через вмещающую породу, не попадая в коллектор.

Очевидно, что неподготовленная порода сложна для подземного выщелачивания; при дроблении породы, однако, необходимо учитывать размер и форму образующихся кусков. Таким образом, методы анализа руд, описанные в разделе 5.3.2.4, дают возможность достичь желаемой эффективности выщелачивания.

5.5.1. Бактериальное выщелачивание выработанных рудных залежей на месте залегания

Первые и на сегодняшний день единственные попытки бактериального выщелачивания на месте залегания с получением товарной продукции, которые дают надежную информацию о производственном процессе, были предприняты, за исключением рудника в Ганпаудере, для разработки рудных тел, которые по критериям традиционных горнодобывающих методов считаются выработанными. Организация работ на упомянутых ранее рудниках в Дегтярске (СССР) [158], в Косаке и Цучихате (Япония) [161], а также в Майами, Аризоне [76] является примером применения метода нисходящей перколяции к рудным телам типа I в соответствии с классификацией Уодсворта [172]. На руднике в Дегтярске (рис. 5.10) выщелачивающие растворы готовились в специальном прудке — регенераторе, в который подавался воздух. Затем растворы закачивались по полиэтиленовым трубам в нагнетательные скважины, после чего они начинали просачиваться сквозь блоки руды, лежащие над выработанными забоями и соответствующими шпольшями и штреками. Продуктивные растворы поступали по дренажному колодцу в растворосборник 10, откуда они подавались на поверхность насосами. Затем растворы поступали на лимниграфную установку 11, где определяли концентрацию микроорганизмов, и в прудок-отстойник 12, где происходило осаждение оставшихся в суспензии твердых частиц, и, наконец, в цементационные желоба 13, где медь извлекалась осаждением. Оработанный раствор поступал обратно в регенерационный прудок и на орошение руды.

В Косаке на участках, подлежащих выщелачиванию, порода сначала подвергалась дроблению буровзрывным методом с использованием обычных взрывчатых веществ. Затем через скважины, пробуренные в стенках штолен и штреков, закачивались выщелачивающие растворы (рис. 5.11). В Цучихате медные минералы вкраплены в виде тонких прожилок в туфовой третичной брекчии и риолите. По всей видимости, порода была весьма пористой и легко проницаемой, поскольку выщелачивающие растворы подавались через обрушившиеся участки на поверхности и верхние штреки. Глубина шахты была около 400 м, и продуктивные растворы собирались в растворосборники, снабженные насосами и расположенные на разных уровнях.

Бактериальное выщелачивание руды, оставшейся после выработки с разделением на блоки, успешно применяется на шахте в Майами, Аризоне (США), начиная с 1941 года. На этой шахте добыча руды в забоях традиционными методами велась с 1910 по 1959 год. При добыче руды с разделением на блоки [19] из рудного тела выделяются своего рода призмы, каждая призма представляет собою отдельный блок, и руда ослабляется по краям проходкой отрезных восстающих, которые определяют его границы и придают ему прочность целика. Стороны блоков могут быть более 50 м в длину. Иногда для того, чтобы облегчить отбой руды по краям, приходится соединять отрезные восстающие выработки камерами. Одновременно подготавливается основание блока проходкой сети штолен и ортов

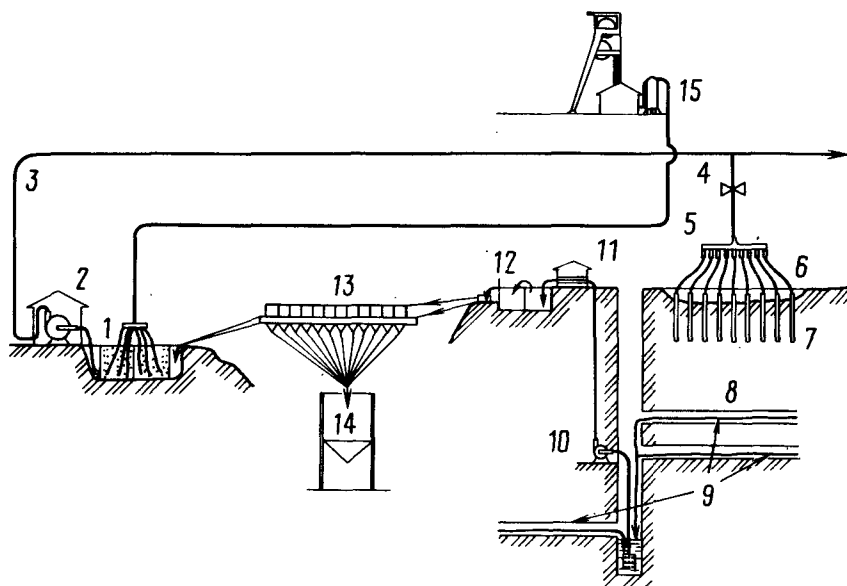


Рис. 5.10. Бактериальное выщелачивание на руднике Дегтярский:

1 - аэрация рециркулирующего раствора; 2 - насосная станция; 3 - распределительный трубопровод для подачи растворов; 4 - клапан; 5 - разветвленный трубопровод; 6 - трубопровод; 7 - нагнетательные скважины; 8 - рудное тело; 9 - дренажные желоба; 10 - насос для подачи продуктивных растворов; 11 - лимниграфная установка; 12 - отстойник; 13 - желоб для осаждения; 14 - бункеры для цементной меди; 15 - компрессорная станция

для создания системы опоры из столбов руды. Когда эти столбы взрывают, весь блок подрезается снизу и обрушивается под силой тяжести. В идеальном случае при обрушении в блоке образуются разломы и трещины, и руда принимает вид больших кусков. При падении куски руды измельчают друг друга до размера, позволяющего выпускать руду через рудоспуски (рис. 5.12). Обрушение руды продолжается до тех пор, пока содержание в ней ценного компонента не станет менее бортового, однако и в оставшейся породе содержание металла все еще может быть значительным.

В данном случае выщелачивающие растворы легко проникают в породу, поскольку она раздроблена и продолжает измельчаться.

Медь в рудном теле месторождения в Майами содержится в количестве 0,2–1,0% и представлена, в основном, окисленными формами, которые являются трудными для переработки традиционным способом. Выщелачиваемая порода состоит из столбов руды, раздробленной при выемке с разделением на блоки, руды, оставшейся между первоначальными выпускными отверстиями, использовавшимися для выпуска обрушенных блоков, и частей рудного тела, которые не разрабатывались из-за низкого содержания ценного компонента. Поскольку вмещающая порода является весьма твер-

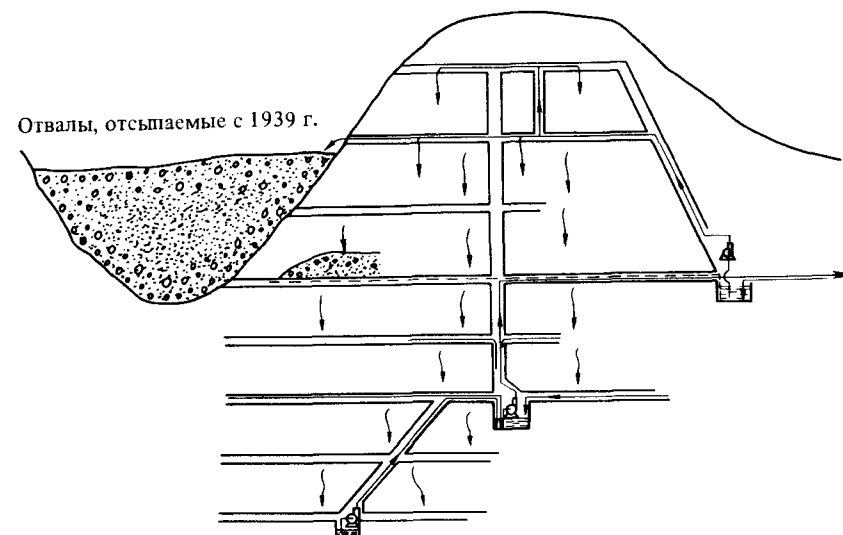


Рис. 5.11. Блок-схема бактериального выщелачивания на месторождении в Мотояме, рудник Косака майн

дой, потери продуктивных растворов были незначительными: в 1962 году оборот выщелачивающего раствора составил 91%, а в 1963 – 93% [138] при содержании меди $1,8 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$ и скорости рециркуляции $12,62 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$. Потери из-за испарения сейчас составляют около 10%, что ниже, чем на первых стадиях процесса, так как со временем увеличивалось насыщение породы растворами.

В 1977 году выщелачивающие растворы, которые либо разбрызгивались, либо закачивались через поверхность обрушившегося дна карьера, должны были просачиваться через толщу раздробленной породы высотой 183 м. причем последние 46 м представляли собой смесь медной руды с более высоким содержанием ценного компонента и жильной породы. Выщелачивающие растворы просачивались с поверхности до растворосборных галерей, расположенных на глубине 300 м, за три-четыре недели. Продуктивный раствор поступал в растворосборник и оттуда выкачивался на поверхность и подавался на установку извлечения меди экстракцией. К 1970 году на руднике в Майами было добыто методом выщелачивания в месте залегания около 130 тыс. т. меди [76]. Ожидается, что по окончании проекта общее извлечение меди превысит 50%.

Не известны примеры выщелачивания выработанных рудных тел затоплением. Было только сообщено [138] о решении медной компании „Анаконда“ применить этот метод в будущем, так как ею была сделана успешная попытка по извлечению меди из вод, которые затопили две глубокие шахты во время пятимесячной забастовки в 1935 году.

Урановый рудник в Стэнроке [125], где рудное тело принадлежит к типу I, является типичным примером выщелачивания разбрызгиванием раст-

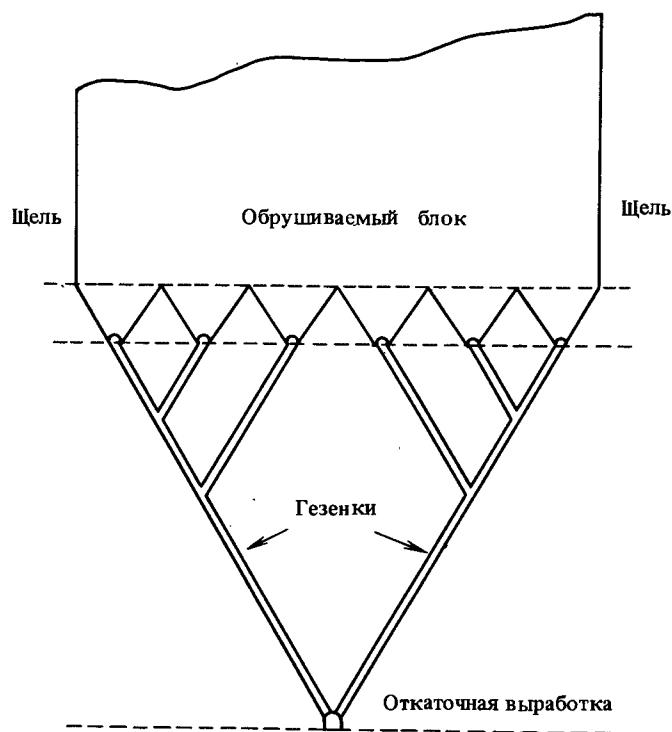


Рис. 5.12. Блок-схема метода подземной выработки с разделением на блоки (вертикальный разрез)

вора по поверхности старых забоев. Данное месторождение является частью большой плоской залежи, имеющей средний угол падения 15° . Это способствует медленному стеканию выщелачивающих растворов к более низким участкам, где расположены растворосборники. Собранные растворы выкачиваются на поверхность. Двое рабочих за смену могли полностью оросить два смежных выработанных забоя с помощью резиновых шлангов диаметром 50 мм, снабженных заостренными пожарными соплами. Длина забоев была от 45 до 75 м при общей площади в среднем $500-700 \text{ м}^2$. Орошение забоев было скорее циклическим, чем непрерывным, т. е. периоды орошения чередовались с периодами осушения продолжительностью от 3 до 4 месяцев, в течение которых микроорганизмы образовывали больше растворимого железа. Выработанные забои на руднике в Милликене выщелачивались аналогичным образом. Здесь месторождение представляет собою залежь с углом падения от 10 до 30° , состоящую из конгломерата гальки, сцементированной материнской породой, содержащей урановые минералы, и 4–6 % сульфидов, в основном, железа. Добыча руды традиционным способом была прекращена в августе 1964 года, когда в 100 выработанных забоях был проведен в промышленном масштабе эксперимент по бактериальному выщелачиванию. Только за один год из выщелачивающих

Таблица 5.7

Извлечение урана бактериальным выщелачиванием на рудниках в районе Эллиот Лейк (Онтарио, Канада).
Руда: кварцевый конгломерат с пиритизированной (от 10 до 15% пирита) серицитовой осевой;
урановые минералы: браннерит, уранинит, коффинит и тухолит.

Название рудника	Персонал, занятый под землей, число	Производство урана, кг/месяц	Средняя температура под землей, $^\circ\text{C}$	Промывка стен забоя	Содержание U_3O_8 в продуктивном растворе, $\text{кг}\cdot\text{м}^{-3}$	Оптимальная продолжительность цикла смачивания, месяцы
Стэнрок	6	4 536	18	П.в.д.	От 0,14 до 0,45	От 3 до 4
Денисон	4	Не ук.	Не ук.	П.в.д.	0,07	Не ук.
Милликен	8	4 800	$> 18^*$ 14^{**}	П.в.д.	0,06	3

Не ук. — не указано.

П.в.д. — промывка под высоким давлением.

* — летнее время.

** — зимнее время.

растворов общим объемом 356000 м^3 было извлечено 58 т урана при средней его концентрации в растворе $0,135 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$. Растворы собирались на нижнем горизонте шахты и выкачивались оттуда в три этажа, каждый приблизительно в 330 м, при общем геометрическом напоре в 1000 м [75]. На урановом руднике в Стэнроке в 1967 году в 1200 забоях при средней площади 557 м^2 ежемесячно добывалось по 6,8–7,3 т U_3O_8 [70]. Бактериальное выщелачивание было также успешно применено на урановом руднике в Денисоне, где выщелачивающие растворы разбрызгивались с помощью газонных разбрызгивателей, и всего один оператор контролировал процесс в 12 забоях [70]. Результаты, полученные на этих рудниках, приведены в табл. 5.7.

5.5.2. Выщелачивание неразработанных рудных тел в естественном залегании

Для этого типа месторождений первоначальная стадия разработки направлена на то, чтобы сделать рудную массу проницаемой для выщелачивающих растворов и газов. Необходимое дробление руды может быть проведено различными способами, в зависимости от механических свойств породы рудного тела и местных ограничений по защите окружающей среды. Наиболее традиционный способ — применение химических взрывчатых веществ в сочетании с хорошо известными видами подземной выемки, такими как выемка с разделением на блоки или подэтажная. В этом случае рудник должен оборудоваться в соответствии с условиями, принятыми для горнодобывающих работ, буровзрывные бригады должны иметь доступ ко всему рудному телу. Бурение глубоких скважин, при котором использу-

ются внутрискважинные буры для прокладки шпуров диаметром до 200 мм [103], может значительно повысить экономичность этой операции.

Принятию решения об использовании этого вида подземных выработок должно предшествовать исследование механических свойств породы. Например, при выработке с разделением на блоки обычно оцениваются кривые „частоты кумулятивной трещиноватости” породы для оценки возможности обрушения [91]. Кривые частоты трещин получают измерением длины керн породы, полученного бурением, на котором трещины расположены с определенным интервалом. Затем подсчитывается общая, кумулятивная длина, которая выражается в процентах от длины скважины, и строится график. Эти кривые, таким образом, отражают структурную слабость породы, которая важна с точки зрения обрушения, через так называемый „коэффициент пористости”.

Рабб [138] сообщает что медная компания „Анаконда” применила такую систему на одной из шахт в Южной Америке, хотя, вероятно, там использовалось только химическое выщелачивание. Первоначально половина исходного рудного тела, представляющего собой растворимую в воде окись меди с низким содержанием ценного компонента, была разработана обычным способом с разделением на блоки и использовалась для кучного выщелачивания на поверхности. Эта частичная разработка привела к интенсивному образованию разломов и трещин в оставшейся части рудного тела, что позволило начать подземное выщелачивание; на самом деле, на каждую тонну выпущенной руды приходилось приблизительно 2,5 т „полностью раздробленной” породы и 6,5 т высокой степени раздробления. Выщелачивающие растворы, потери которых во вмещающую породу составили от 10 до 15%, эффективно дренировались по системе восстающих выработок, которые были частью системы засыпки руды при выработке с разделением на блоки. Ожидается, что через несколько лет извлечение достигнет 65%.

В любом случае дробление буровзрывным методом при подготовке к выщелачиванию на месте залегания должно не только обеспечить необходимый гранулометрический состав, но и привести к максимальной трещиноватости, гарантирующей легкое проникновение выщелачивающих растворов.

Когда месторождение имеет выходы на поверхность с высоким содержанием ценного компонента в верхней части, этот участок может быть сначала отработан обычным открытым способом, а затем забалансовые руды могут быть подвергнуты выщелачиванию в месте естественного залегания. Такая последовательность была применена на руднике Биг Майк, расположенном в 30 милях от Уиннемакки (рис. 5.13) [173]. После того, как было вскрыто 350 тыс. т пустой породы, открытым способом было добыто 100 тыс. т 10%-ной рядовой медной руды, в результате чего образовался карьер, по борту которого осталось около 600 тыс. т забалансовой руды.

Испытания по выщелачиванию на месте залегания были проведены на 500 тыс. т руды из этого остатка, он был раздроблен с использованием 200 т обычных взрывчатых веществ, загруженных во взрывные скважины 146, 230 и 250 мм в диаметре, общей длиной 6 300 м. В среднем на 1 тонну рядовой руды приходилось по 330 г взрывчатки. Куски породы при среднем размере в 230 мм образовали отвал на дне карьера. Выщелачивающие рас-

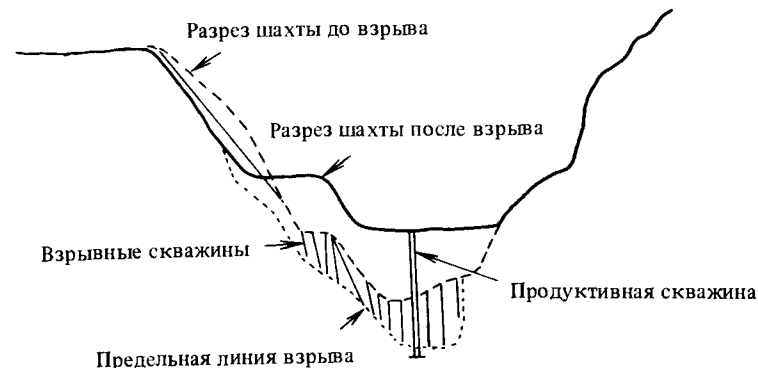


Рис. 5.13 Рудник Биг Майк: поперечный разрез шахты до и после взрыва

творы разбрызгивались по всей площади через разбрызгиватели, в которые растворы подавались по трубам из полихлорвинила (диаметром 50 мм); выщелачивающие растворы просачивались вниз и собирались там в шахте, расположенной по центру, и затем откачивались на поверхность насосом, расположенным на глубине 50 м.

В течение первого года эксплуатации скорость потока орошающего раствора составила $12,6 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ при содержании меди $2,0 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$.

Аналогичная процедура была применена для использования забалансовых руд на руднике Олд Рилайабл, Аризона (США) [115, 148]. Месторождение представляло собой почти вертикальную „брекчиевую трубу”, содержащую около 4 миллионов тонн рядовой руды. Содержание в руде халькозина, халькопирита, малахита, халькантита и хризоколлы составляло 0,8%. Вмещающая порода содержала лавы, относящиеся к меловому периоду, которые были пронизаны и минерализованы так называемым „Копер Крик” гранодиоритом. Рудное тело, залегающее у подножия хребта, имело размеры 180 м в длину, 90 м в ширину и 150 м в глубину относительно его выходов. Порода была раздроблена взрывом 2000 т обычного взрывчатого вещества АСТН, заложеного в минные штольни длиной 1800 м. Минные штольни были проложены на трех уровнях: одна у основания рудного тела, вторая — на 30 м выше, и третья — на 50 м выше, чем вторая. Заряды взрывчатого вещества на всех уровнях были детонированы одновременно, однако на среднем уровне воспламенение произошло через 0,10 с после воспламенения на верхнем уровне, а на нижнем — через 0,15 с после среднего.

Средний размер кусков руды составил 270–300 мм. Раздробленная руда была расположена террасами с помощью гусеничных тракторов; были сделаны уступы высотой 6 метров и шириной от 4,5 до 45 м. Выщелачивающие растворы подавались центробежными насосами по магистральному трубопроводу диаметром 150 мм, от которого отходили распределительные трубы диаметром 50 мм. Выщелачивающие растворы разбрызгивались че-

рез форсунки, установленные на распределительных трубах на расстоянии 12 м между ними, на площади в 2,3 га при расходе растворов $69 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$, что эквивалентно $3,04 \cdot 10^{-6} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$. Режим потока установился приблизительно через 6 месяцев, и продуктивные растворы содержали $2 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$ меди. К декабрю 1973 года ежедневное извлечение меди составило 10 т.

Проблема выщелачивания неразработанных рудных тел в месте залегания рассматривается в трех работах [57, 58, 59], где приводятся данные по предварительному исследованию характеристик руды, проектированию и роли буровзрывных работ при использовании обычных взрывчатых веществ, а также оценка достигаемого дробления руды.

В данных работах рассматриваются рудник Эмералд Айл, находящийся недалеко от Кингмена, Аризона, и принадлежащий компании „Эль Пасо Майнинг энд Миллинг“, и шахта Сьеррита, принадлежащая корпорации „Дюваль“, расположенная в Тусоне, Аризона, где медь представлена хризокolloй. Хотя хризокolloй и не поддается бактериальному выщелачиванию, сам подход к проблеме и полученные данные представляют интерес для проектов по бактериальному выщелачиванию для аналогичных месторождений, в которых медь представлена в виде сульфидов. По этой причине мы рассмотрим некоторые из интересующих нас аспекты.

Для прогнозирования извлечения меди авторы воспользовались математической моделью и сделали попытку установить корреляцию между извлечением меди и распределением крупности частиц в раздробленной породе и даже технологическими параметрами взрывов. На руднике Эмералд Айл указанные исследования проводились для оценки процесса выщелачивания $3 \cdot 10^6$ т руды, находящейся под 60 м покрывающего пласта, и 200 тыс. т руды, находящейся на дне карьера, где добыча была прекращена из-за неблагоприятного стоимостного коэффициента. Для карьеров приня-

Таблица 5.8

Физические свойства породы на руднике Эмералд Айл

Свойство	Зона	
	А	Б
Пористость, %	20,6	16,3
Плотность, $\text{кг} \cdot \text{м}^{-3}$	2290,0	2280,0
Проницаемость, Дарси*	Не ук.	0,65
Продольная скорость, $\text{м} \cdot \text{с}^{-1}$	2430	2850
Крутящая скорость, $\text{м} \cdot \text{с}^{-1}$	1260	1530
Прочность на сжатие, МПа	17,924	Не ук.
Прочность на разрыв, МПа	0,496	Не ук.
Модуль Юнга, МПа	5860	Не ук.

Не ук. — не указано.

*1 Дарси соответствует потоку в $1 \text{ см}^3 \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ при градиенте давления $10^5 \text{ Па} \cdot \text{см}^{-1}$

то учитывать коэффициент вскрыши по количеству добытого минерала [167]. Стоимостной коэффициент определяется следующим образом: из стоимости ценного компонента в тонне руды вычитают стоимость добычи тонны руды и относят к стоимости вскрыши одной тонны отходов [133].

Физические свойства породы в месте залегания приведены в табл. 5.8, а результаты испытаний, полученные на керновых пробах до и после взрывов, в табл. 5.9.

На руднике Сьеррита дроблению был подвергнут блок выходящего на поверхность рудного тела площадью около 400 м^2 , глубиной 33 м и объемом 13000 м^3 . Характеристики керновых проб, полученных до и после взрыва, приведены в табл. 5.10.

После взрыва на разных участках были получены различные величины проницаемости. В зоне А до взрыва величина проницаемости изменялась в пределах от 0 до $2 \cdot 10^{-3} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$, а после взрыва коэффициент фильтрации уменьшился и варьировал в пределах от 10^{-4} до $0,8 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$. Испытания по

Таблица 5.9

Определение механических свойств породы с помощью керновых проб на руднике Эмералд Айл

Свойство	Единица измерения	Зона				
		А		Б		
		До взрыва	После взрыва	До взрыва	После первого взрыва	После второго взрыва
Извлечение керна	%	86	35	93	83	67
ОКП*	%	65	11	70	40	31
Средний размер (50% w)	10^{-3} м	163	< 25	163	78	38
Максимальный размер	10^{-3} м	660	229	838	500	406

* Оценка качества породы Диаметр буровой колонки 50 мм.

Таблица 5.10

Определение механических свойств породы с помощью керновых проб на руднике Сьеррита

Характеристики	До взрыва	После взрыва		
Расстояние между скважинами, м	—	7,5	6,0	4,5
Извлечение керна, %	98	79	52	37
Определение качества породы, %	37	24	10	10
Средний размер (50% w), 10^{-3} м	66	48	23	15
Максимальный размер, 10^{-3} м	838	280	229	229

Таблица 5.11
Результаты опытного выщелачивания на руднике Эмералд Айл

	Зона А ₁	Зона А ₂
Выщелачиваемая руда, т	13 605	90 700
Сортность руды — медь, %	1,0	1,0
Продолжительность выщелачивания, дни	117	190
Средняя продолжительность рабочего цикла, ч/день	20,5	23,2
Выщелачивающий раствор:		
pH	1,18	1,10
Медь, кг·м ⁻³	0,147	0,091
Железо, кг·м ⁻³	8,5	—
Продуктивный раствор:		
Скорость, м ³ ·с ⁻¹ ·10 ⁻³	3,62	7,31
pH	1,3	—
Медь, кг·м ⁻³	0,562	0,646
Железо, кг·м ⁻³	6,2	—
Производительность по меди, кг	13 154	64 411
Полное извлечение меди, %	9,67	7,10
Суточное извлечение меди, %·10 ⁻³ /день	82,65	37,37

выщелачиванию на месте залегания были ограничены зоной А, где на двух смежных участках проводились две отдельные операции (табл. 5.11.). В зоне А₁ находилось 13 тыс. т руды, а в зоне А₂, где взрывные работы не проводились, — 100 тыс. т. Это позволило провести сравнение между эффективностью выщелачивания неподготовленной породы и породы, предварительно раздробленной буровзрывным методом. Характеристики механических свойств породы, приведенные в табл. 5.9 и 5.10, указывают на корреляцию между ОКП и средним размером частиц, что говорит об информативности данного параметра при оценке дробления руды для целей выщелачивания. В зоне А₁, где руда была раздроблена, эксперимент по выщелачиванию длился 117 дней, а в зоне А₂, где взрывные работы не проводились, — 190 дней. Полученные для двух зон результаты приведены в табл. 5.11. Показано, что влияние предварительного дробления руды буровзрывным методом было достаточно большим, чтобы гарантировать дробление руды и в зоне А₂ в случае возобновления выщелачивания.

Через 17 недель в зоне А₁ извлечение меди составило 10%, а в зоне А₂ 7% только через 27 недель. В одной из этих двух работ [58], описывающих данный эксперимент, сделана попытка подсчитать извлечение меди через распределение гранул по размеру в соответствии с программой для ЭВМ, составленной Мадсоном и др. для исследования кинетики процесса [118].

Однако сопоставление расчетных и экспериментальных данных показало неточность этой методики: реальное извлечение было значительно ниже расчетного из-за ограничений модели и из-за того, что в керновых пробах возникли дополнительные разломы во время бурения, что привело к относительному уменьшению размера частиц. Тем не менее, данная попытка инте-

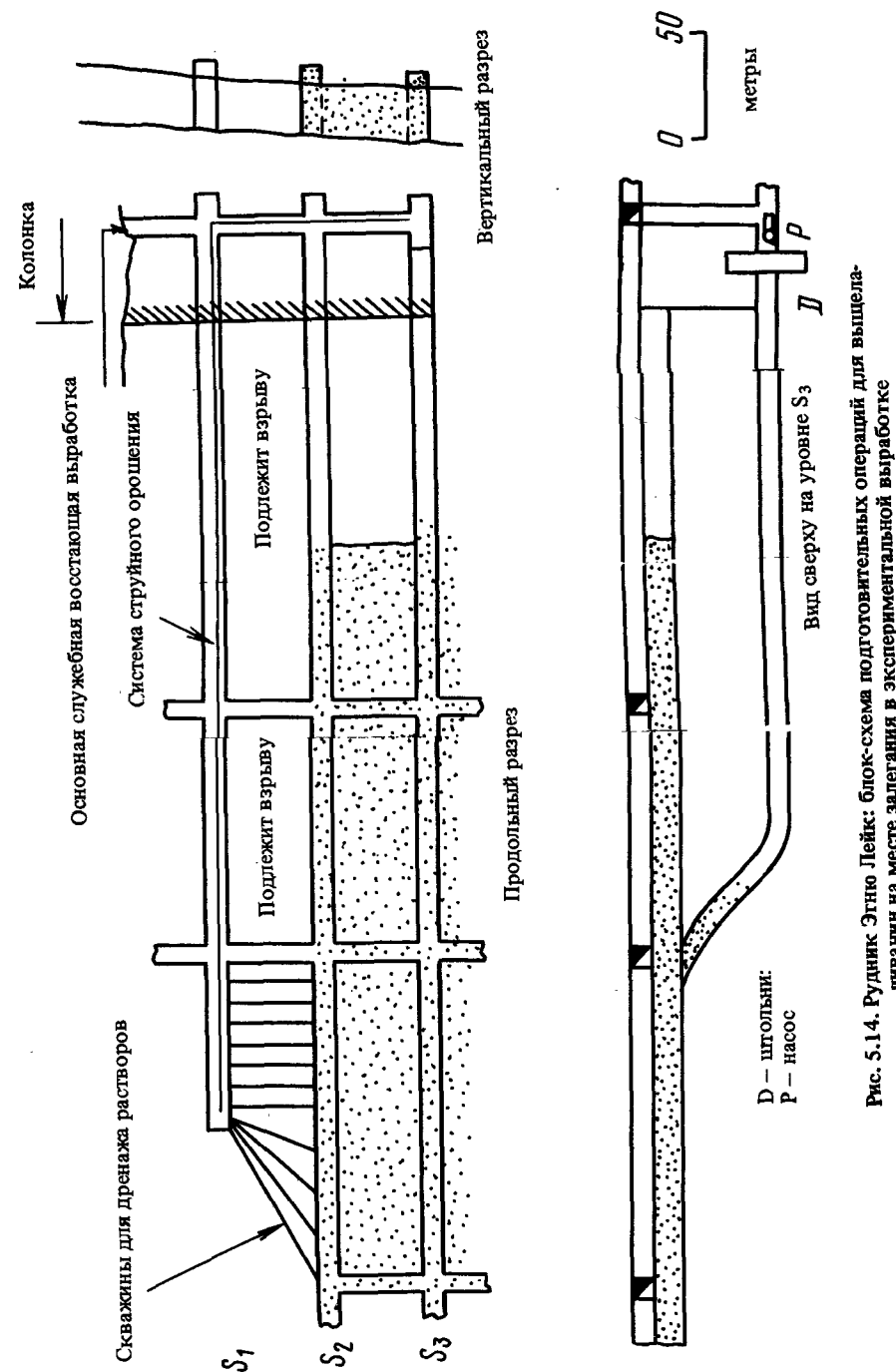


Рис. 5.14. Рудник Эгно Лейк: блок-схема подготовительных операций для выщелачивания на месте залегания в экспериментальной выработке

ресна, поскольку расчетные данные представляют собой идеальный предел значений.

Один из двух известных проектов бактериального выщелачивания на месте залегания неразработавшегося рудного тела был реализован на руднике Эгню Лейк в 1975 г. [122]. Данное месторождение расположено к юго-западу от Садберийского бассейна, в 60 км от Садбери, Онтарио, и состоит из весьма раздробленного конгломерата олигомерного горного хрусталя, содержащего урано-торит в двух зонах, стратиграфически удаленных друг от друга на расстояние приблизительно в 180 м [147]. Эти две зоны простираются с запада на восток на поверхности и с юго-запада на северо-восток на глубине, причем угол падения близко к поверхности составляет 85° , а на глубине около 1000 м уменьшается до 45° . Первый экспериментальный забой был подготовлен в зоне, где рудный пласт был толщиной в 7,5 м с углом падения 65° к югу.

Реализация данного проекта потребовала прокладки длинных подэтажных штолен шириною 9 м, заглубленных в подстилающую породу на 1,5 м, чтобы обеспечить возможность бурения скважин параллельно этому пласту (рис. 5.14). Высота уступов составила 15 м, и в конце каждого подэтажа были проложены восстающие выработки, размером 2,1х2,1 м, ведущие к подэтажу, расположенному выше, в которых затем была проложена разрезная щель для проведения буровзрывных работ. Скважины диаметром 75 мм были пробурены перпендикулярно простиранию, под углом в сторону, соответствующим откосу стенок. Оказалось, что расположение скважин на расстоянии 1,35 м с 1,5 м покрывающей породы лучше всего соответствует требованиям дробления. Важным моментом в этом эксперименте был выбор наиболее подходящего взрывчатого вещества; для этого были определены наиболее важные параметры с использованием крупных образцов руды, которые приведены в табл. 5.12. В табл. 5.6 перечислены использованные взрывчатые вещества с их основными характеристиками. Необходимость концентрации высокой энергии исключила из рассмотрения приме-

нение взрывчатых веществ АСТН. Поскольку результаты опытных взрывов в забоях оказались благоприятными, можно было начать выщелачивание.

В 1978 году на руднике Эгню Лейк было получено 181 437 кг U_3O_8 , из них 113 398 кг — из куч на поверхности, остальное — из подземных забоев. Тем не менее, извлечение урана оказалось меньше ожидаемого из-за неполного смачивания раздробленной руды в забоях. В заявлении компании говорится, что это невыполнение плана объясняется тем фактом, что проложенные забои имели меньший угол падения, чем предполагалось, в результате сбросообразования [149]. Несмотря на то, что о дальнейших результатах сообщено не было, данное исследование считается достоверным описанием случая.

Из других способов дробления породы на месте естественного залегания, на которых следует остановиться, отметим гидроразрыв и детонацию ядерного заряда.

Для гидроразрыва необходима подача довольно вязкой жидкости с определенной скоростью через скважину, чтобы обеспечить рост давления внутри породы, подлежащей дроблению. Порода по стенкам скважины начинает разламываться, когда давление достигает некоторой величины p_f , которое называется „давлением инициации разлома”. Раз возникнув, разломы и трещины начинают распространяться со скоростью, зависящей от скорости закачивания жидкости, характеристик геологического образования и свойств жидкости [20,60]. Данный метод широко применяется в нефтегазовой промышленности, начиная с 1949 года, и о его достоинствах можно судить на примере 750 000 случаев его применения в нефтяной промышленности до 1974 года [60].

Возможность использования скважин, пробуренных для гидроразрыва, для закачки выщелачивающих растворов является важным достоинством этого метода. Однако предварительно необходимо тщательное исследование механических свойств породы рудного тела. Формула необходимой гидравлической мощности следующая: скорость закачки раствора, умноженная на давление наверху скважины, которое зависит от градиента дробления при данной скорости потока. В некоторых случаях, когда расход раствора находится в пределах от 70 до $80 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$, необходимая гидравлическая мощность может быть от 3000 до 3700 кВт [110]. Более подробно этот способ изложен в учебниках [111].

Возможность применения ядерных взрывчатых веществ детально изучалась, особенно в США, в Лаборатории Лоренса Ливермора, часто в сотрудничестве с исследователями частных горнодобывающих компаний и по заказу Комиссии США по атомной энергии. В семидесятых годах была начата широкая работа по созданию моделей выщелачивания на месте залегания и бактериального выщелачивания забалансовых медных залежей.

Рассматривался вопрос о применении как атомных, так и термоядерных взрывчатых веществ. Во втором случае, для которого был создан иницирующий механизм деления, было получено много ценной информации после проведения многочисленных ядерных взрывов на полигоне в Неваде и других местах в семидесятые годы с использованием различных типов пород (гранит, граодиорит, базальт, андезит, трахит, риолит, доломит и вул-

Таблица 5.12

Физические свойства двух проб руды из рудника Эгню Лейк

Пробы руды	Плотность, $\text{г} \cdot \text{см}^{-3}$	Скорость волны сжатия, $\text{м} \cdot \text{с}^{-1}$	Скорость поперечной волны, $\text{м} \cdot \text{с}^{-1}$	Коэффициент Пуассона	Модуль Юнга, ГПа	Пористость, %
Крупнозернистый конгломерат	2,77	3410	1475	0,38	16,7	0,8
Брекчиевидный с частицами среднего размера	2,69	3930	2230	0,26	33,8	0,8

Читатели-неспециалисты в горнорудном деле могут более подробно ознакомиться с вышеуказанными параметрами в работах [73, 81, 147].

канические туфы). Небольшой размер ядерных зарядов позволял использовать для их закладки обычные, недорогостоящие скважины. Кроме того, в результате ядерного взрыва Дробится не только прилегающая к заряду порода, но и порода на смежных участках, что приводит к образованию проникаемого ореола. Сразу же после детонации образуется цилиндрический столб из раздробленной породы, окруженный участком породы с большим количеством разломов, трещин и микротрещин. Образование разломов и трещин было предметом тщательного исследования при анализе образцов породы, взятых на различных полигонах, где проводились испытания ядерных взрывов, в результате чего определялся показатель трещиноватости, зависящий от удаленности от центра взрыва. Данные, полученные при 4 испытаниях ядерных взрывов, приведенные в табл. 5.13, могут быть использованы для проектирования предприятий по выщелачиванию на месте залегания.

Раздробленная руда в столбе, образующемся после взрыва, по физическим свойствам похожа на руду после ее дробления в большой щековой дробилке, когда более 80% руды представлено кусками размером менее 1 м. Ее проницаемость выше, чем $1 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$, а коэффициент пористости равен 15–30%. Стенки столба явно выражены и окружены проникаемым ореолом, состоящим из двух зон — сферической зоны, где порода была раздроблена ударным фронтом и радиус которой в 3–4 раза превышает радиус полости вокруг центра взрыва, и зоны с повышенной проницаемостью, окружающей образовавшийся столб по сторонам и сверху. Вторая зона образуется при разломах под воздействием растягивающих напряжений, когда происходит обрушение породы под силой тяжести, и столб удлиняется кверху. Весь проникаемый ореол состоит из этих двух зон, которые по форме напоминают сливу. Для гранита в середине зоны проницаемость составляет обычно $10^{-4} - 10^{-5} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$, ближе к краям зоны она уменьшается. В нижней части столба расплавленная порода может образовать непроницаемый слой, который предотвращает утечку выщелачивающих растворов [87]. Поскольку проницаемость раздробленной породы в столбе намного превышает проницаемость окружающей ее породы, весь столб периодически должен заливаться раствором, чтобы отдаленные участки были достаточно смочены. Если ядерный заряд взрывается достаточно близко к топографической поверхности, и в результате взрыва образуется кратер, раздробленная рудная масса может быть сформирована в виде отвала. Выщелачивающие растворы разбрызгиваются по верху рудной массы с помощью

форсунок или разбрызгивателей, как это обычно делается при выщелачивании куч и отвалов. Когда взорванная порода заполняет уходящий глубоко под землю столб, она может функционировать в качестве реактора, и процесс в данном случае протекает, как показано на рис. 5.15 [33].

Лабораторией Ливермора были исследованы большие участки пород, расположенные на значительной глубине под зеркалом вод (классы II и III по классификации Уодсворта). Было предложено использовать ядерные заряды [112] для получения столбов таких, как описано выше, расположенных в определенном геометрическом порядке по всей поверхности месторождения. Такие столбы подготавливаются, взрываются и выщелачиваются

в соответствии со схемой, представленной на рис. 5.16. При этом учитывается их взаимное влияние друг на друга [113]. Каждый ряд, состоящий из 10 столбов, взрывается как блок; последовательность взрывов такова, что новые полости образуются отдельно или рядом с двумя уже существующими столбами, что гарантирует симметричность обрушения раздробленной породы. Отдельные ряды столбов взрываются в следующем порядке. Сначала взрывается ряд 1, а через три года — ряд 2. Через шесть лет после первого взрыва первый ряд считается выработанным, и взрывается ряд 3. Еще через три года взрывается ряд 4.

Таблица 5.13

Ядерные взрывы в рудных массах глубокого залегания [112]

Испытание	Взрывчатое вещество		Дата взрыва	Порода	Глубина, м	Размеры рудного столба, м	
	тип	мощность, Гг				высота	диаметр
HARDHAT	Ядерный	4,9	09.15.1962	Гранодиорит	282	84	63
HANDCAR	—	12,0	11.05.1964	Доломит	400	67	21
PILEDRI- VER	—	61,0	06.02.1966	Гранодиорит	460	27	48
SHOAL	—	12,5		Граиит	360	107	25

Считается целесообразным проводить взрывы в одном ряду с десятидневным интервалом. Столбы раздробленной породы затем затопляются, что приводит к восстановлению первоначального зеркала вод и одновременно к повышению гидростатического давления, что в свою очередь повышает растворение кислорода, инжектируемого на дно. При подъеме множества пузырьков, находящихся в выщелачивающем растворе, происходит растворение кислорода по всему столбу. Когда кислород окисляет первичные сульфидные минералы, образуется серная кислота, выделяется тепло, увеличивается температура и понижается pH. В результате происходит быстрое растворение таких минералов, как сульфиды меди, чему способствуют соответствующие штаммы бактерий.

На основе экспериментальных данных Льюис и Браун [112] определили типичные характеристики рудных столбов, показанные в табл. 5.14. Авторы данной работы создали затем экспериментальную установку, включающую реактор, в который помещается 5,8 т руды и $1,4 \text{ м}^3$ дистиллированной воды. Установка работала при температуре 90°C , давлении кислорода $2,756 \text{ кПа}$ и скорости подачи кислорода $23,6 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ в течение первых трех месяцев и $11,8 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ в течение последующего периода испытаний. Эти испытания дали интересные результаты и позволили оценить ряд параметров. Через 160 дней извлечение меди составило 16%, что соответствовало прогнозу, и была установлена зависимость этого параметра от следующих факторов:

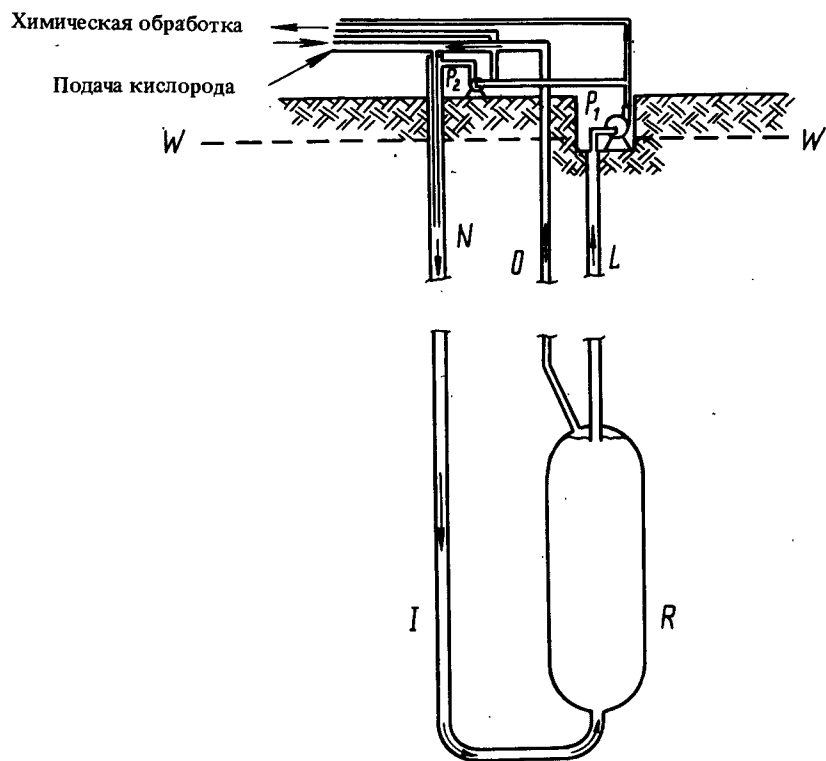


Рис. 5.15. Схема потока в рудной колонке:

R — рудная колонка; I — закачные трубы; N — форсунка для распыления кислорода; L — выпуск жидкости; O — выпуск кислорода; P₁ — выпускной насос; W — зеркало воды; P₂ — нагнетательный насос

- 1) распределение гранулометрического состава кусков породы, которое в свою очередь зависит от ОКП;
- 2) начальная температура внутри столба;
- 3) тепло, выделяемое при окислении сульфидных минералов;
- 4) потеря тепла в результате теплопроводности;
- 5) концентрация кислорода в выщелачивающем растворе.

На основе этих данных Льюис и Браун разработали модель для рудного столба, свойства которого представлены в табл. 5.14, и предсказали, что через пять лет извлечение меди составит 25%. Недостаток данной модели связан с раздельным рассмотрением выщелачивания и циркуляции раствора. Другая, более строгая модель, приведена Льюисом и др. [113], однако она также страдает этим недостатком.

При бактериальном выщелачивании более глубоко залегающих рудных тел микроорганизмы, сорбированные на поверхности породы, находятся

Таблица 5.14

Свойства рудного столба, полученного ядерным взрывом [113]

Характеристика рудного столба	Показатели	Единицы измерения
Мощность ядерного взрыва	10 ⁵	Мг
Глубина залегания	750	м
Глубина уровня грунтовых вод	50	м
Содержание воды в породе	3	wt%
Плотность породы в месте залегания	2700	кг·м ⁻³
Величина пористости	0,17	—
Радиус полости	41	м
Высота рудного столба	300	м
Объем воды в рудном столбе	2,9·10 ⁵	м ³
Объем породы в рудном столбе	1,4·10 ⁶	м ³
Масса породы в рудном столбе	3,8·10 ¹²	г
Гидростатическое давление на глубине залегания	6890	кПа
Гидростатическое давление в вершине рудного столба	3927	кПа

под давлением, превышающем атмосферное, а микроорганизмы, находящиеся в выщелачивающих растворах, испытывают на себе изменение давления. Увеличение давления выщелачивающих растворов приводит к увеличению массы растворенного кислорода и поэтому должно способствовать выщелачиванию при условии, что изменение давления не влияет на деятельность микроорганизмов.

Босеккер и др. [30] показали, что дыхательная активность *T. ferrooxidans* не меняется значительно, когда в течение 3 часов микроорганизмы находятся под воздействием давления в 700 кПа (что соответствует 70 м водяного столба). Изменение давления, тем не менее, может иметь отрицательный эффект.

Экспериментальные данные, приведенные в работе [62], показывают, что выдерживание суспензии отмытых клеток *T. ferrooxidans* в течение 48 часов при гидростатическом давлении, меняющемся от атмосферного до 68,93 МПа, почти не влияет на их способность окислять железо, даже в присутствии двухвалентной меди (5 г/л). Однако способность фиксировать двуокись углерода была почти утеряна. Более того, дыхательная активность клеточных суспензий, выдержанных под давлением в 68,93 МПа в течение 48 часов, после декомпрессии составляла около 80% дыхательной активности бактерий, не подвергавшихся воздействию давления (контрольный опыт). Предельная глубина, на которой можно применять бактериальное выщелачивание, равна примерно 3000 м, поскольку рост *T. ferrooxidans* замедляется при гидростатическом давлении в 40,53 МПа, а при давлениях до 30,40 МПа рост микроорганизмов продолжается при условии, что концентрация растворенного кислорода не превышает 8 частей на миллион (ppm), что обычно встречается при нормальных условиях.

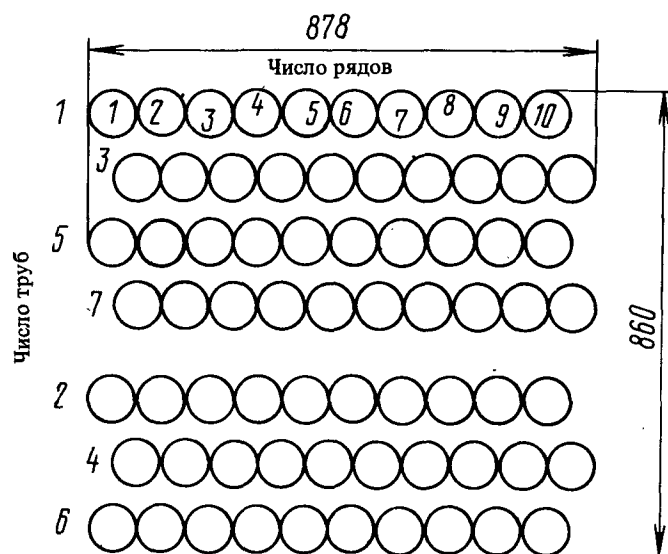


Рис. 5.16. Возможный вариант расположения ядерных колонок для дробления руды

В семидесятых годах настоящего столетия были проведены широкие исследования по выщелачиванию урана в местах залегания, которое теперь рассматривается как особая отрасль. Многие из урановых рудных тел представляют собою слои песчаника с вкраплениями урановых минералов, которые обладают достаточной проницаемостью, делающей дробление ненужным. Выщелачивание таких рудных тел в месте залегания может быть либо поверхностным (ППВ), либо подземным, глубинным (ГПВ). На рис. 5.17 показано применение ППВ, в котором предусматриваются закрепленные обсадными трубами и зацементированные закачные скважины, через которые в поры породы или же разломы разрабатываемого рудного тела подаются под давлением выщелачивающие растворы, причем давление должно быть больше гидростатического давления в месторождении. Кроме того, бурятся скважины для создания коллекторов низкого давления, где собираются обогащенные металлом растворы, и где расположено глубинное коррозионно-стойкое оборудование, включающее насосы, трубопроводы и т. д. Продуктивные растворы затем подаются насосами на поверхность, где на экстракционном заводе уран извлекается в виде U_3O_8 . Более подробно этот метод освещен в работе Хаффа и др. [94].

Подземный метод выщелачивания на месте залегания проиллюстрирован на рис. 5.18. Данный метод описан в работе Эриксона [72] и включает следующие основные операции:

1. Проходка шахты.
2. Проходка горизонтальной выработки посередине рудного тела параллельно его длине.

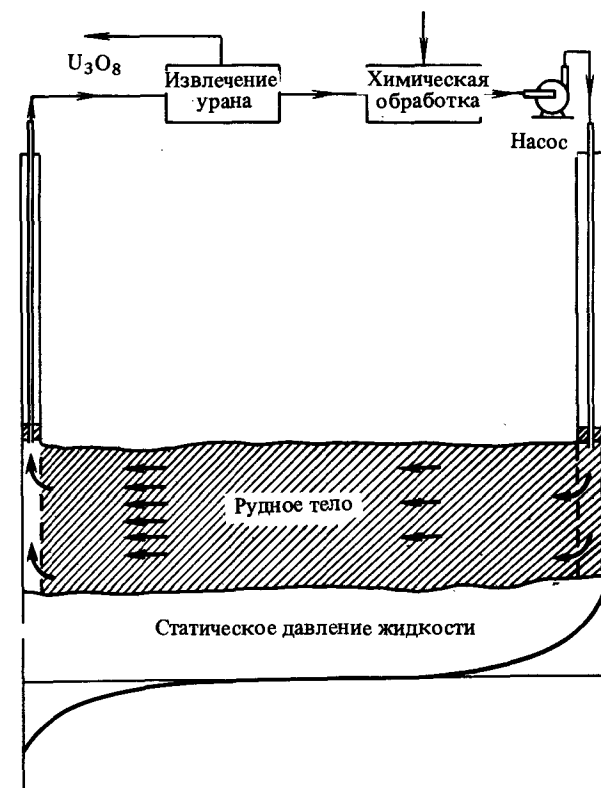


Рис. 5.17. Вид сверху на урановое рудное тело при выщелачивании на месте залегания: поверхностное выщелачивание

3. Бурение почти горизонтальных длинных скважин по ширине рудного тела.

4. Окисление и выщелачивание урана, извлеченного из этих скважин.

Для разработки адекватных схем в этих двух методах выщелачивания необходима информация о глубине залегания, содержании ценного компонента, общем содержании металла, мощности рудного тела, скорости фильтрации растворов (проницаемости), коэффициенте пористости, типе и распределении минералов, о подземных водах и структурных особенностях месторождения. Эрикссон считает, что подземное выщелачивание имеет ряд преимуществ перед поверхностным выщелачиванием на месте залегания и является более предпочтительным для рудных тел, залегающих на глубине более 90 м, как это показано на рис. 5.19 и 5.20, причем этот вывод сделан на основании рассмотрения ряда случаев.

Самым слабым звеном при выщелачивании на месте залегания и бактериальном выщелачивании является прогноз извлечения металла. На рудни-

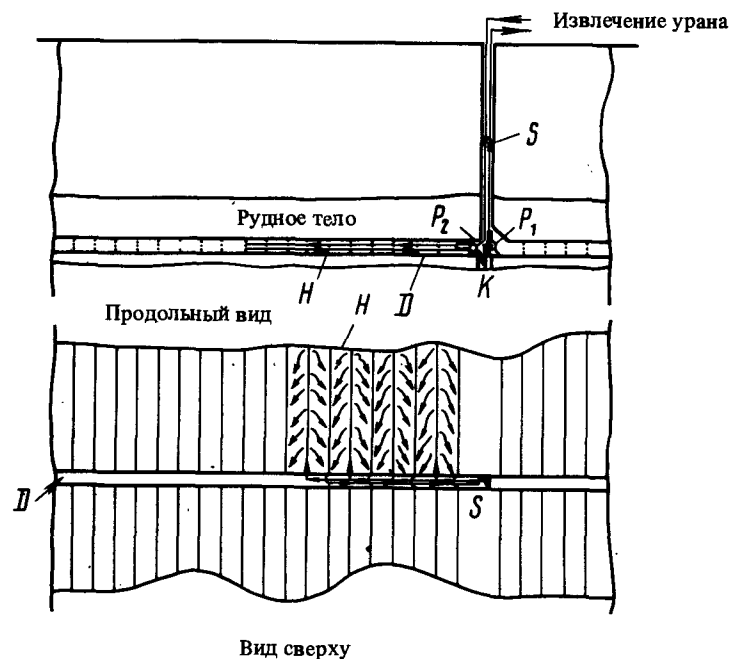


Рис. 5.18. Вид сверху на урановое рудное тело при выщелачивании на месте залегания: подземное выщелачивание: S — шахта; P₁, P₂ — насосы; D — штольня; H — нагнетательные скважины; K — отстойник

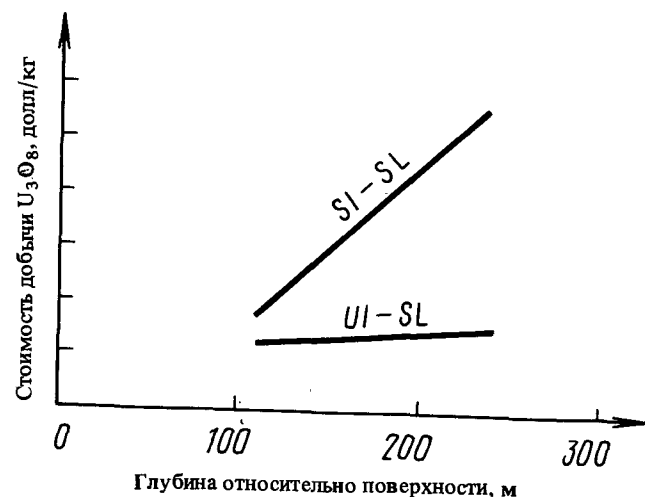


Рис. 5.19. График, полученный на основе исследования ряда процессов и показывающий, что на глубине более 90 м подземное выщелачивание на месте залегания (UI-SL) является более эффективным, чем поверхностное (SI-SL)

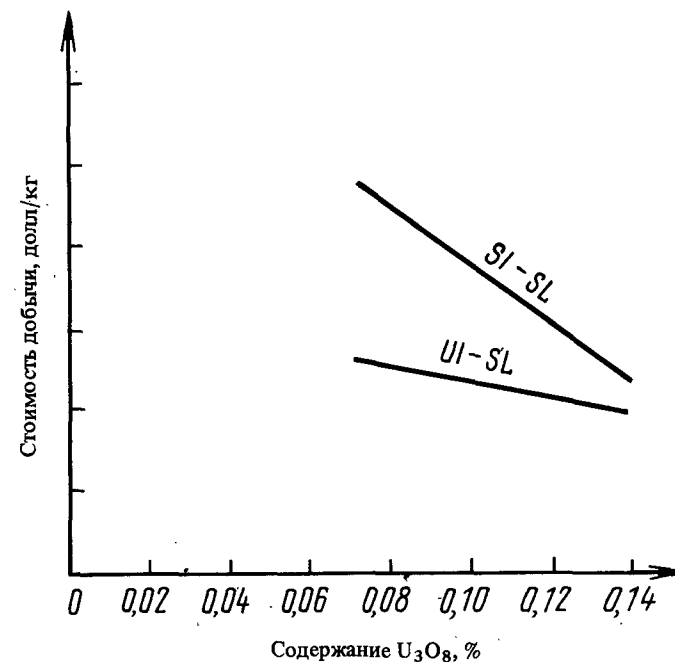


Рис. 5.20. График, полученный на основе исследования ряда процессов и показывающий, что большая скорость извлечения металла достигается при подземном выщелачивании на месте залегания (UI-SL)

ке, принадлежащем компании „Рио Альгом Майнз”, обладающей значительным опытом в этой области, предложен метод прогноза извлечения металла при бактериальном выщелачивании урановой руды сразу после дробления буровзрывным методом. Полуэмпирические вычисления на основе информации, полученной в лаборатории при моделировании выщелачивания в подземных выработках, дали следующую приблизительную зависимость извлечения металлов от времени [83]:

$$E = k \cdot t^{0,25}, \quad (5.25)$$

где: E — извлечение урана, k — константа, зависящая от руды, размера частиц, температуры и т. д., t — время.

В 1979 году в США 8% общей добычи урана было получено по методу выщелачивания на месте залегания, а в 1980 году этот показатель составил 10% [146]. Дополнительная информация о развитии исследований в области выщелачивания на месте залегания приводится ниже.

5.5.3. Выщелачивание на месте залегания и окружающая среда

При проведении операций по выщелачиванию на месте залегания существуют несколько источников возможного загрязнения окружающей среды. Среди них отметим:

1. Потери выщелачивающих растворов в результате просачивания.
2. Химические осадки в экстракционных установках, включающие шламы и сточные воды при периодической регенерации ионообменных колонок, таких как угольные колонки в установках для экстракции урана, и летучие вещества.

Возможность загрязнения в результате утечки выщелачивающих растворов можно устранить несколькими способами:

1. Создание замкнутых систем, по которым циркулируют растворы между рудным телом и экстракционной установкой, с использованием герметичных трубопроводов.

2. Установка расходомеров как на подающей, так и на выводящей линии для определения скорости потоков каждый день.

3. Бурение контрольных скважин вокруг участка выщелачивания для определения потерь выщелачивающих растворов в результате просачивания. При обнаружении потерь растворов скорость закачки и откачки должны быть сбалансированы.

4. Установка обсадных труб и цементирование всех скважин для предотвращения миграции растворов вверх.

5. Бурение неглубоких контрольных скважин на участке выщелачивания и взятие проб из них для обнаружения движения растворов вверх.

Шламы, которые особенно опасны при добыче урана, должны собираться в прудках-отстойниках, сгущаться и затем закачиваться в глубокие скважины для захоронения отходов. Содержащие песок растворы, выходящие из регенерационных колонок, декантируются в бетонные емкости и затем подаются для рециркуляции. На установках по извлечению урана единственным источником опасных летучих веществ является участок сушки остатка после фильтрации: башенные скрубберы улавливают все опасные вещества, которые могут содержаться в газообразных отходах. Скважины для захоронения отходов должны быть достаточно глубокими и должным образом изолированными от лежащих сверху образований во избежание их проникновения в прилегающие зоны.

Если эксплуатация продолжается после истощения рудного тела, то концентрация ионов металлов снижается до допустимого уровня. В том случае, если при промывке используется пресная вода, а не активные выщелачивающие растворы, то получаемые продукты захороняются в глубоких скважинах. После прекращения операций по выщелачиванию требуется строгий контроль в неглубоких мониторинговых скважинах с тем, чтобы предотвратить загрязнение водоносных пластов с пресной водой.

Необходимо отметить, что при поверхностном выщелачивании руд на месте их залегания химические и физические загрязняющие вещества, выделяемые из потока реагентов, могут частично закупорить откачные скважины, что создает проблемы на окончательной стадии очистки [72]. Тем не

менее, в общем случае, выщелачивание руд на месте их залегания считается экологически чистым методом, поскольку добывается только металл с небольшим количеством горной породы, не представляющей промышленной ценности, и объем отходов относительно невелик. Кроме того, ландшафт местности практически не меняется, так как не создаются отвалы из отходов и не происходит оседания породы.

5.5.4. Выщелачивание в отвалах

Распространение открытых способов добычи, начиная с сороковых годов, привело к образованию вокруг рудников огромных отвалов, содержащих сотни миллионов тонн породы. По большей части это относится к медным месторождениям, и в отвалах содержание меди минимально — от 0,1 до 0,4% — в любом случае слишком мало для обогащения руды обычными способами. Например, в 1979 году на руднике Бингэм Пит в Кеннекоте (США) было добыто 37 803 900 т руды и 123 181 836 т отходов, что эквивалентно ежедневной средней добыче 452305 т. 11 февраля 1981 г. был установлен новый мировой рекорд, когда было добыто 638649 т (из которых 102256 т была руда и 536393 т — отходы) [150].

Было давно отмечено, что при некоторых условиях дождевая вода, попадающая в отвалы, вытекает из них в виде ручейков, представляющих собою кислотные растворы, содержащие медь. Только после того, как в пятидесятых годах была изучена роль микроорганизмов в окислении сульфидов металлов, начались исследования по бактериальному выщелачиванию меди и других металлов из отвалов.

Вряд ли справедливо полагать, что между выщелачиванием на месте залегания, в отвалах и кучах нет принципиальных различий из-за того, что эти процессы ведутся в грубо раздробленной породе при разной крупности кусков. Кучное выщелачивание и выщелачивание в отвалах имеют два основных преимущества перед выщелачиванием на месте залегания. Во-первых, эти процессы проводятся на поверхности, что позволяет избежать часто неблагоприятных ограничений местной топографии. Во-вторых, на существующих и будущих участках выщелачивания возможно так планировать и располагать производственный процесс, что извлечение металла будет максимальным. И, наконец, поскольку в отличие от выщелачивания ранее не разрабатывавшихся рудных тел на месте залегания, порода в отвалах практически не имеет дополнительной стоимости, извлечение ценного компонента может быть оправдано, даже в том случае, когда извлечение его является небольшим. При этом распределение гранулометрического состава породы не является ограничением, оно единственно должно отвечать требованиям дробления буровзрывным методом и транспортных операций. Несмотря на эту оговорку, буровзрывные работы могут планироваться таким образом, чтобы максимальный размер кусков породы соответствовал экономическим ограничениям.

С другой стороны, можно получить хорошие результаты благодаря правильному выбору способа закладки, геометрии отвала и введения выщелачивающих растворов при точном контроле над параметрами процесса выщелачивания.

Способ закладки и геометрия отвала тесно связаны друг с другом. В густонаселенных районах выбор участка для выщелачивания определяется в основном месторасположением рудника и топографией местности, в том числе наличием небольших долин, каньонов и склонов, лишенных растительности. Кроме того, внимание должно обращаться на участки местности, расположенные под небольшим углом и имеющие непроницаемую почву, так как на таких участках растворы могут стекать под силой тяжести в одно или два места сбора растворов, что обуславливает максимальное извлечение металлов.

За последнее время накоплен значительный материал по геометрии отвалов. Конфигурация, описанная Робинсоном и упомянутая в разделе 5.3.1.4. [141], может значительно повысить эффективность выщелачивания. Отвалы, расположенные параллельно друг другу и имеющие длину больше, чем их ширина и высота, называются „пальцеобразными” отвалами. На руднике Бьютт Майн в Анаконде были проведены испытания на „пальцеобразном” отвале длиной около 800 м, высотой 35 м и шириной 200 м с тем, чтобы улучшить диффузию воздуха в рудной массе. По трубопроводам, проложенным под отвалом, подавался сжатый воздух под давлением 7 кПа при скорости подачи $0,283 \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$. Затраты на такую дополнительную подачу воздуха полностью оправданы, так как кислород, необходимый для процесса выщелачивания, проникает сквозь поверхность отвала на высоту 60 м [41].

Как уже отмечалось в разделе 5.3.2.2, проницаемость раздробленной породы также является фактором, определяющим эффективность извлечения ценных компонентов. Если позволяет график работ на руднике, отвалы лучше всего укладывать слоями высотой 4,5 м, перемежая слои крупнокусковой породы со слоями мелкораздробленной породы. Отвал для испытаний на руднике Бьютт Майн был заложен именно таким образом. Кроме того, большие думпкары, перемещающиеся по слоям во время закладки отвалов, уплотняют породу и могут привести к образованию внутренних слоев с плохой проницаемостью, что отрицательно сказывается на выщелачивании.

Одним из способов преодоления этого нежелательного явления является глубокое рыхление поверхности слоев. В работе Робинсона [141] отмечается, что на руднике Бьютт Майн рыхление слоев осуществляется взрывным методом. Необходимо, однако, отметить, что как рыхление, так и применение взрывов могут привести к излишнему дроблению и увеличению доли рудной мелочи: в литературе отмечается увеличение содержания руды класса —6 мм от 5 до 20%. Наличие в отвалах большого количества рудной мелочи особенно неблагоприятно проявляется в дальнейшем в неравномерности распределения выщелачивающих растворов в отвалах.

5.5.4.1. Способы подачи выщелачивающих растворов

Эффективность процессов во многом определяется способом подачи выщелачивающих растворов, причем при выщелачивании как в кучах, так и в отвалах встают аналогичные технологические проблемы. В связи с этим

приводимые ниже выводы относятся равным образом к этим двум методам выщелачивания. Используются следующие способы подачи выщелачивающих растворов:

1. Создание с помощью небольших запруд примыкающих друг к другу неглубоких квадратных или прямоугольных прудков, покрывающих всю поверхность отвалов. Выщелачивающие растворы закачиваются в эти прудки по распределительному трубопроводу из кислотостойкого пластика. Этот способ был применен на рудниках Рио Тинто [150] и Фениче Капанне [79] в Италии, где до сих пор, спустя 50 лет после окончания работ, видны остатки этих прудков. Кроме того, этот способ применялся на руднике Рам Джангл в Австралии [16] и в настоящее время используется целым рядом горнодобывающих компаний. Например, на руднике Силвер Белл Майн в Аризоне [17, 152], принадлежащем компании АСАРКО, используются квадратные прудки со стороной 18 м и глубиной от 0,46 до 0,61 м. Прудки на определенном участке заполняются раствором и остаются наполненными до тех пор, пока содержание меди в продуктивном растворе, собираемом на этом участке, остается выше установленного значения. Как только содержание меди становится ниже установленного предела, затопление прекращается, и участок просушивается. Таким образом, выщелачивание является периодическим процессом, и периоды орошения чередуются с периодом просушки. Операторы на отвалах в Фениче Капанне и Рио Тинто понимали, что этот метод является эффективным. Известна попытка объяснить эффективность тем, что во время периодов просушки растворенная медь переходит из внутренней части кусков породы на их поверхность под действием „обратной капиллярности” [170]. На самом деле, чередование периодов орошения с периодами просушки очень важно не только для химического процесса выщелачивания, но и для лучшей диффузии кислорода по всему отвалу. Это условие является особенно благоприятным для роста и активности *T. ferrooxidans*.

В работе Брунестейна и Дункана высказано мнение, что „оператор на выщелачиваемом отвале должен следить за тем, чтобы периоды просушки длились до тех пор, пока в отвале сохраняется достаточное количество влаги для поддержания жизнедеятельности бактерий”. Ими проведены лабораторные исследования по определению оптимального соотношения между временем выщелачивания и временем просушки с использованием колонок, содержащих 45 кг медных отходов класса —50 мм. Было показано, что максимальная скорость выщелачивания достигается тогда, когда период просушки составляет 25% всего времени, хотя удовлетворительные результаты были получены и тогда, когда этот показатель составлял 80 и 92,5%. Аналогичные результаты были получены и Гротес с сотрудниками [84].

2. Разбрызгивание: выщелачивающие растворы распределяются по поверхности отвалов различными способами, например, с помощью доступных металлических или пластиковых газонных дождевальных установок. Наиболее часто используются перфорированные пластиковые трубы (струйное выщелачивание). В Алюм Крик, где компания „Багдад Коппер” начала разработки в 1961 г. [17], основной трубопровод для подачи выщелачи-

вающих растворов сделан либо из труб из нержавеющей стали диаметром 350 мм, имеющих с внутренней стороны пластиковое покрытие, либо из полиэтиленовых труб диаметром 250 мм, по которым подается $0,208 \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ раствора. Эта компания применяет разбрызгивающие головки, сделанные из хирургических трубочек [152]. Через переходные патрубки эти разбрызгиватели подсоединены к пластиковым трубам, по которым выщелачивающие растворы подаются от основного трубопровода на верх отвала. Поскольку разбрызгиватели сделаны из очень гибкого материала, они чутко реагируют на скорость потока. Когда выщелачивающие растворы текут под давлением по этим трубочкам, длина которых обычно равна 0,5 м, они начинают хаотически вращаться, в результате чего орошаемый с их помощью участок имеет круглую форму. На рудниках „Инспирейшн Консолидейтд Коппер Корпорейшн“, „Инспирейшн“, Аризона и „Анаконда Коппер Корпорейшн“, Уид Хайтс, Невада выщелачивающие растворы эффективно подаются по основному трубопроводу диаметром 200 мм и асбоцементным трубам диаметром 250 мм, снабженным пластиковым покрытием, к которым подсоединены перфорированные пластиковые трубы диаметром 100 и 50 мм [152]. Раствор, подаваемый по трубопроводам под давлением, вытекает из отверстий в виде струек, длина которых зависит от давления. На руднике Эсперанца, принадлежащем „Дюваль Корпорейшн“, и расположенном в Сахуарите, Аризона, успешно применяются металлические или пластиковые разбрызгивающие головки и при этом получают перекрывающие друг друга круговые зоны орошения [152]. К сожалению, при использовании разбрызгивателей они часто засоряются грубыми отходами, поступающими вместе с водой из нижнего бьефа установки осаждения. Как показано Джексонсом и Римом, при полевых испытаниях на руднике Бингэм Каньон Майн в Кеннекоте при использовании специального разбрызгивания растворов концентрация меди в продуктивных растворах, собираемых после выщелачивания, на 15% выше, чем при струйном орошении [97].

3. Способ закачки выщелачивающих растворов. Данный способ, применяемый на руднике Бьютт Майн компании „Анаконда“, состоит в том, что для закачки растворов бурятся вертикальные скважины на расстоянии 30 или 7,6 м между центрами или же по углам прямоугольников размерами 15х7,5 м по всей поверхности отвала. Эти скважины обычно глубиной 12 м обсаживаются поливиниловыми трубами диаметром 100 мм, имеющими отверстия, расположенные на расстоянии 0,3 м, и четыре отверстия диаметром 12 мм, расположенные под углом в 90° по окружности трубы. При расширении рудника половина отвала, называемого „Св. Елена“, была ликвидирована [141]. Ранее здесь применялся данный способ распределения выщелачивающих растворов. При ликвидации части отвала было обнаружено, что растворы проникали во всю внутреннюю часть отвала, включая треугольник между вершиной и подошвой. Было также отмечено, что растворы стекали по углу естественного откоса отвала. На руднике Силвер Белл в качестве защитного покрытия трубопроводов успешно применялись эпоксидные смолы [17].

Из всех перечисленных выше способов распределения выщелачивающих растворов только по поводу затопления можно высказать критические за-

мечания. При затоплении образующийся слой жидкости высотой в несколько дециметров, препятствует проникновению кислорода в отвал, что отрицательно сказывается на процессе выщелачивания. Кроме того, эти прудки являются своего рода прудками-отстойниками для коллоидального железа, которое закупоривает дно прудков и снижает проницаемость. Справедливость этих критических замечаний подтверждается тем фактом, что на руднике Алюм Крик после перехода на метод разбрызгивания выщелачивающих растворов ежемесячное извлечение металла возросло с 106 до 408 тонн. На руднике в Чино приходилось периодически обрабатывать дно прудков бульдозерами и проводить рытье для восстановления проницаемости, которая сильно снижалась в результате осаждения коллоидального железа [17]. Единственным недостатком метода разбрызгивания являются возможные потери выщелачивающих растворов в результате испарения, особенно в условиях жаркого климата.

По своей закладке отвалы могут быть классифицированы, в соответствии с определением Харриса, как „макрочастицы“. В связи с этим большое значение приобретает проницаемость руды; значения этого параметра лежат в диапазоне от $14 \cdot 10^{-3} \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$ для содержащих шламы отвалов, заложенных 30 лет назад, до $116 \cdot 10^{-3} \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$ для недавно заложенных отвалов, которые еще не осели [89]. Кислые растворы увеличивают проницаемость рудной массы. Важным показателем является время пребывания растворов в отвале, начиная с того момента, когда они подаются на верх отвалов, и кончая тем, когда они выходят у подножия отвалов. Частично этот параметр зависит от тех направлений, которыми выщелачивающие растворы просачиваются по раздробленной массе породы. Если растворы проходят по отвалу очень долго, то это означает, что скорость их движения очень мала. Это приводит к уменьшению фронта смачивания и снижению извлечения металла. Слишком быстрый выход раствора из отвала является показателем того, что скорость фильтрации очень большая или же образуются потоки. В первом случае активность микроорганизмов снижается, поскольку они сами вымываются раствором и не имеют необходимого времени для действия на рудную массу; кроме того, в таких случаях понижается температура в отвале. Во втором случае, который является более сложным, различные участки отвалов могут оказаться вне зоны действия растворов. Время пребывания растворов в отвале может варьировать: от нескольких часов для невысоких отвалов, до трех суток при высоте отвалов 80 м и даже 12 дней для отвалов высотой 150 м [131]. В табл. 5.15 приведены данные для отвалов, выщелачиваемых на разных рудниках [15, 17, 23, 84, 85, 159, 170].

Контроль скорости потока является важным технологическим требованием, особенно с точки зрения превращения сульфатов двухвалентного в сульфаты трехвалентного железа. Это превращение, как показал Ливси-Гольдблат [114], является максимально эффективным при таких скоростях потока, когда на твердых поверхностях образуется тонкая и подвижная жидкая пленка (Vasfox process). Кроме того, Грудев [85] отмечает, что, например, на отвалах рудника Влайков Врых (Болгария) процесс идет с такой скоростью, что возможно применение только вышеназванного режима потока.

Данные по выщелачиванию

Компания или объект	Страна	Порода	Медные минералы		Количество руды, 10^3 т	Площадь поверхности, 10^3 м ²	Максимальная высота отвала, м
			основные	вторичные			
Асарко, Сильвер Белл	Аризона, США	Аласкит, монцитит, порфирит, дацит	Халькозин, хризоколл	Халькопирит, азурит, малахит, куприт	130 000	525	60
„Анаконда Ко.", Бьютт	Монтана, США	Кварц, монцитит	Халькозин	Халькопирит, борнит, азурит, малахит	10 000	36	60
					23 000	80	53
						37	15
„Багдад Коппер Ко.", Багдад	Аризона, США	Монцитит, порфирит	Хризоколл, малахит, азурит	Тенорит и куприт	40 000 (два отвала)	222	73
„Дюваль Корп.", рудник Эсперанца	Аризона, США	Кварцевый монцитит, рнолит, кварцевый диорит	Халькозин, халькопирит	Куприт, малахит, азурит, тенорит	19 000	77	67
„Дюваль Корп.", рудник Минерал Парк	Аризона, США	Порфировый кварц, кварцевый монцитит	Халькозин	Халькопирит, ковеллин, бирюза	5 500 (два отвала)	31	76
„Кеннекотт Коппер Ко."	Юта, США	Кварцевый монцитит	Халькопирит	Халькозин, ковеллин, борнит, окислы меди	4 000 000	2 880	365
Рудники Хино, Санта Рита	Нью-Мехико, США	Порфировый гранодиорит	Халькозин	Халькопирит и несulfидные минералы меди	425 000	2 600	91
„Майами Коппер Ко.", Касл Доум	Аризона, США	Кварцевый монцитит и порфировый гранит	Халькопирит, халькозин	Ковеллин, куприт, азурит, малахит, халькаит, бирюза	48 000	Не укр.	Не укр.
„Майами Коппер Ко". Отдел Коппер Снти	—	Кварцевый монцитит	—	Ковеллин, бирюза, азурит, малахит	Не укр.	Не укр.	46

Таблица 5.15

в отвалах

Метод транспортировки руды	Метод подачи раствора	Добавление H_2SO_4 , $кг \cdot м^{-3}$	Скорость подачи раствора, $м^3 \cdot с^{-1} \cdot 10^{-3}$	Характеристики растворов						Литература
				поступающие на выщелачивание			продуктивные			
				pH	$С_{с}$, $кг \cdot м^{-3}$	Температура, $^{\circ}C$	pH	$С_{с}$, $кг \cdot м^{-3}$	Температура, $^{\circ}C$	
Грузовики, бульдозеры	Отстойники, траншеи	—	63,09	3,4	<0,01	Не укр.	2,4	1,09	Не укр.	152
— — —	Перфорированные пластмассовые трубы	0,1	315	1,9	0,11	29,4	2,2	0,80	19,4	152
— — —	Распылительные форсунки	Не укр.	208	1,4	0,02	21,1	2,1	1,18	21,1	152
— — —	— — —	0,4	100	2,5	<0,1	7,8	2,3	1,32	17,2	152
— — —	— — —	2,0	107	2,6	0,10	Не укр.	>2,0	1,10	Не укр.	152
Грузовики, бульдозеры, поезда	Каналы	0,1	2200	2,8	0,12	34	2,5	1,80	38—52	152
— — —	Отстойники и траншеи	Разные	820	3,5	0,08	21—26	2,5	1,40	32—35	152
Грузовики, бульдозеры	Отстойники и распылительные форсунки	Не укр.	Не укр.	2,7	0,04	Не укр.	2,3	0,85	Не укр.	152
— — —	Распылительные форсунки	0,4	113	2,6	0,01	23	2,5	0,75	23—27	152

Компания или объект	Страна	Порода	Медные минералы		Количество руды, 10^3 т	Площадь поверхности, 10^3 м ²	Максимальная высота отвала, м
			основные	вторичные			
Фелпс Додж Корп." Бисби	Аризона, США	Кварцевый монцитит, конгломерат	Халькозин, азурит, малахит	Борнит, бирюза	47 000	358	52
"Фелпс Додж Корп". Моренси	—	Кварцевый порфирит, конгломерат	Халькозин	Халькопирит, ковеллин, окислы меди	Не ук.	Не ук.	Не ук.
Влайков Врых	Болгария	Порфировый диорит и андезит	Халькопирит, пирит	Ковеллин, халькозин	600 (шесть отвалов)	16 500	25
Компания "Минера де Каиане"	Мехико	Андезит, порфирит	Халькозин, пирит, халькопирит	Ковеллин	10 000	Не ук.	Не ук.
"Фелпс Додж Корп." Тирон	Нью-Мехико, США	Кварцевый монцитит	Халькозин	Пирит, сульфиды меди	41 000	40 000	60
"Инспирейшн Консолидейтид Коппер Ко." Майами	Аризона, США	Порфировые медные руды	Халькозин	Халькопирит, борнит, ковеллин	49 000 10 000 31 600	1 000 700 700	50 50 50

Не ук. — не указано.

5.5.4.2. Сбор растворов

Растворы после выщелачивания стекают по откосу под действием силы тяжести в растворосборные водостоки, выкопанные вдоль подошвы отвалов. После этого растворы подаются либо в так называемые резервуары для продуктивных растворов, либо на гидрометаллургическую установку. Резервуары для хранения продуктивных растворов обычно имеют соответствующее влагонепроницаемое покрытие из смолы, пластика, цемента или даже глины. Емкость резервуаров должна быть рассчитана на прием всего количества продуктивных растворов, собираемых за сутки, и на дополнительный запас из расчета на максимальные осадки в случае длительных перебоев с электропитанием. Например, на руднике Багдад Майн, к северо-западу от Майами, Аризона, принадлежащем компании "Сайпрус Багдад

Метод транспорти- ровки руды	Метод подачи раствора	Добав- ление H ₂ SO ₄ , кг·м ⁻³	Ско- рость подачи раствора, м ³ ·с ⁻¹ · ·10 ⁻³	Характеристики растворов						Лите- ра- ту- ра
				поступающие на выщелачивание			продуктивные			
				pH	Cu, кг·м ⁻³	Темпе- ратура, °C	pH	Cu, кг·м ⁻³	Темпе- ратура, °C	
Грузовики, бульдозеры	Отстойники	—	145	2,8	0,03	32—35	2,0	0,96	38	152
Вагоны с боко- вой разгрузкой	Отстойники	—	315	3,8	0,01	Не ук.	2,8	1,0	Не ук.	152
Не ук.	Форсунки, траншеи, каналы	—	0,1	3,5	0,10	16—19	2,5	1,8	11—13	85, 87
Самосвалы	Распылит. форсунки	—	Не ук.	3,5	0,5	Не ук.	2,1	2,5	Не ук.	17
Самосвалы	Отстойники 60х30 м	—	0,22	4,0	0,10	Не ук.	3,5	0,18	Не ук.	17
Бульдозеры, самосвалы	Распылительные форсунки	4—5	0,14 0,08 0,08	Не ук.	Не ук.	Не ук.	Не ук.	1,3 1,3 1,4	Не ук.	17

Коплер", резервуар емкостью 3800 м³ имел покрытие из полихлорвинилового листа толщиной 12 мм, а другой резервуар емкостью 5500 м³, длиной 80 м, шириной 35 м и глубиной 2,1 м, в котором помещалось 0,208 м³·с⁻¹ циркулирующего раствора, был полностью покрыт кислотоупорным полихлорвиниловым листом с алюминиевым покрытием толщиной 8 мм, известным как "Koro-seal" [17].

5.5.4.3. Характеристика продуктивных растворов

Общую характеристику продуктивных растворов привести затруднительно, поскольку каждый процесс выщелачивания является весьма индивидуальным особенно в том, что касается отношения закисного железа к окисному. Содержание меди [152] находится в диапазоне от 0,75 до 2,16 кг·м⁻³, а общее содержание железа — от 0,20 до 6,60 кг·м⁻³.

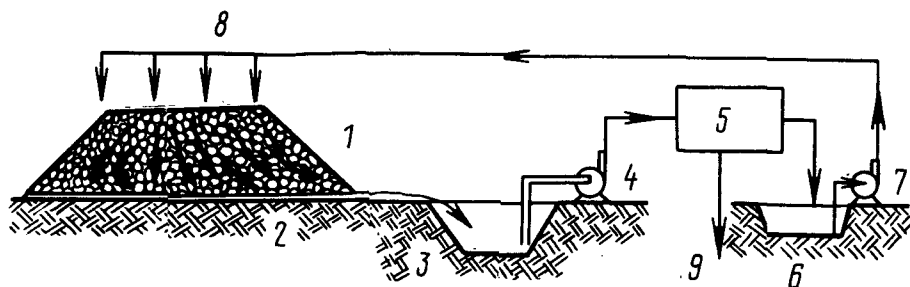


Рис. 5.21. Схема процесса кучного выщелачивания:

- 1 — куча; 2 — поверхность почвы; 3 — прудок для сбора продуктивных растворов; 4 — насос; 5 — желоба для цементации; 6 — прудок для отработанного раствора; 7 — насос; 8 — система орошения отвала; 9 — металл

5.5.4.4. Потери воды

Несмотря на то, что все поверхности тщательно гидроизолированы, особенно в новых отвалах, неизбежно возникают потери воды в результате утечки и испарения, причем потери в результате испарения наибольшие в тропиках и в летнее время. Кроме того, ежедневно до нескольких сотен кубических метров раствора периодически сливаются для извлечения железа. Соответственно, такие потери должны периодически компенсироваться. Если потери в результате просачивания оценить трудно, то потери при испарении легко и достаточно точно можно оценить на основе имеющейся метеорологической информации для данной местности или же при помощи надежных методов прогноза. Например, на руднике Рам Джангл, где в выщелачивающем контуре находится около 4 млн. т руды, потери растворов составляют 136 м^3 в день в сезон дождей и 378 м^3 в день в сухой период, когда происходит извлечение железа. Для оценки количества испарившейся воды с поверхности озер и других водоемов уже давно применяется надежный метод с использованием „испарительного лотка“. В США и Канаде широко применяется лоток класса А Погодного бюро США: этот лоток сделан из гальванизированного железа, не имеет покрытия краской, диаметр его 1,20 м, а глубина 254 мм. Лоток устанавливается на деревянную раму с тем, чтобы внизу лотка воздух мог свободно циркулировать. Уровень в 230 мм поддерживается ежедневным доливом воды. Оценка интенсивности выпаривания из лотков класса А учитывает солнечную радиацию, температуру воздуха, точку росы и движение ветра [64].

5.5.5. Кучное выщелачивание

Кучное выщелачивание применяется, в основном, для переработки окисленных руд [153], хотя оно применяется и для переработки смешанных медных руд и для извлечения золота [100]. Бактериальное выщелачивание сульфидных минералов (пирита и сульфидов железа), когда они ассоцииру-

ют с окисными рудами, может оказаться весьма эффективным, поскольку требуется меньшее количество кислоты. После того, как была обнаружена каталитическая активность *Thiobacillus*, эти микроорганизмы стали применяться для выщелачивания сульфидов меди и урановых руд, содержащих пириты. Более глубокое понимание процесса привело к созданию лабораторных и промышленно-экспериментальных установок для оптимизации этого метода. Кучное выщелачивание хорошо подходит для руд с очень низким содержанием ценного компонента, не оправдывающим транспортные и эксплуатационные расходы при обычных методах обогащения. Данный метод в промышленном масштабе используется редко, поскольку, обычно, предпочтение отдается более простому, хотя и не такому эффективному методу выщелачивания в отвалах для забалансовых руд, и традиционному методу обогащения флотацией для рядовых руд с более высоким содержанием ценного компонента. Несмотря на то, что теоретически этот метод прост, как это можно видеть на рис. 5.21, при применении кучного выщелачивания встает ряд проблем практического характера, связанных со следующими аспектами:

1. Топографические и геоморфологические характеристики местности, где расположены кучи.
2. Химические, минералогические, структурные и физические характеристики минерализованной породы.
3. Гранулометрический состав рядовой руды.
4. Способ закладки куч.
5. Технология выщелачивания.

5.5.5.1. Топографические и геоморфологические характеристики

Очевидно, что место для кучного выщелачивания должно быть выбрано в непосредственной близости от шахты или рудника. Хорошо располагать кучи где-то на середине склонов с тем, чтобы закачивать приходилось только отработанные и весьма обедненные растворы; растворы после выщелачивания при таком расположении будут стекать под силой тяжести, и при необходимости можно выщелачивать несколько куч, расположенных последовательно. В каждом конкретном случае необходимо тщательно исследовать местную топографию, поскольку разломы, дислокации и просто трещины и расколы могут привести к недопустимым утечкам растворов и загрязнению водоносных слоев. Когда в результате тщательного геологического осмотра местности определяется проницаемость почвы, в месте возведения куч необходимо создать влагонепроницаемое основание. При кучном выщелачивании предварительно устраняется вся растительность, почва выравнивается и утрамбовывается согласно новейшим методам закладки земляных оснований, причем создаваемое гидроизолирующее основание должно иметь небольшой уклон около 3° в двух направлениях. В Рам Джангле уклон был равен 2° [15], а в Бисби — от 5 до 10° [17]. При больших уклонах может возникнуть эрозия основания. Если, как это обычно делается, рядом расположено несколько куч, то их следует изолировать друг от друга ограждениями, так как это поможет сделать отбор проб более

точным. Для создания основания можно использовать любой доступный материал. При проектировании учитываются такие факторы, как имеющаяся площадь, продолжительность цикла выщелачивания, максимальная рабочая высота куч, наличие местной глины, расходы по строительству в данной местности и наличие участков для хранения хвостов.

Тип основания во многом определяется типом планируемого процесса. Основания могут быть построены для однократного или многократного использования в зависимости от наличия площади, регламентирующих предписаний относительно окружающей среды и стоимости работ по возведению куч и транспортировке переработанной руды. По завершении извлечения ценного компонента из кучи выщелаченная руда поступает на участок хранения хвостов, и на свободном основании возводится новая куча. В этом процессе, который обычно называется „циклической операцией“, для транспортировки материалов используются, как правило, ковшовые погрузчики с опрокидывающимся назад ковшом. Основание должно быть достаточно прочным, чтобы выдерживать максимальную нагрузку, приходящуюся на каждую шину погрузчика. Поттер [135] отмечает, что при использовании погрузчиков грузоподъемностью до 6 м³ руды, с успехом применялись основания из слоя асфальта толщиной 50 мм с герметичным резиновым покрытием и верхним слоем асфальта толщиной 100–150 мм, уложенного в горячем виде. При использовании оснований однократного действия непроницаемость может быть обеспечена:

1. Цементированием почвы путем покрытия жидким гудроном для большей твердости и герметичности. Данный метод был использован на руднике Блюберд Майн, принадлежащем компании „Рэнчез Эксплорейшн энд Девелопмент Корпорейшн“, Аризона [152].

2. Закладкой слоя мелкозернистого песка толщиной 20–30 см на выровненную почву, поверх которого укладывается слой полиэтиленового пластика толщиной 10 мм и еще слой мелкозернистого песка толщиной 30 см. Этот метод был применен компанией „Зонтелли Вестерн Майнинг Компани“ [152].

3. Цементированием нескольких верхних сантиметров почвы после ее утрамбовки с помощью какого-нибудь вяжущего вещества, например, медленно застывающей битумной эмульсией [16]. На руднике в Рам Джангле, где этот метод применялся, было гидроизолировано 25000 м² при скорости укладки покрытия 500 м² в час.

4. Укладкой глиняного слоя толщиной около полуметра на подготовленное грунтовое основание. Используемая для укладки глина должна быть проверена в лаборатории с использованием такой же воды и одинаковых физико-химических условий, как при промышленном выщелачивании [135].

5. Укладкой водонепроницаемого полотна толщиной 1 мм, например, из бутилового пластика, усиленного стекловолокном, полосы которого соединяются вместе при укладке [135]. Во избежание проколов пластикового полотна необходимо насыпать защитный слой мелкозернистого песка [135]. Рекомендуется применять пластиковое покрытие и в дренажных траншеях. Под каждой подушкой необходимо пробурить идущие под углом дренажные скважины для быстрого обнаружения утечек.

5.5.5.2. Химические, минералогические, структурные и физические характеристики породы и распределение гранулометрического состава

Для кучного выщелачивания применимы выводы, сделанные для выщелачивания на месте залегания и в отвалах. Поэтому, когда руда оценивается с точки зрения возможности применения кучного выщелачивания, необходимо установить:

1. Возможность бактериального выщелачивания различных по минералогическому составу типов пород, содержащих нужные ценные компоненты.

2. Возможную токсичность отдельных компонентов рудной породы, которая может отрицательно повлиять на рост микроорганизмов.

3. Пористость породы, которая должна быть достаточной для того, чтобы выщелачивающие растворы могли проникать к самым труднодоступным минеральным частицам.

4. Распределение гранулометрического состава и пористость образующей кучу раздробленной породы. Они должны быть таковы, чтобы выщелачивающие растворы и растворенный кислород имели доступ ко всем минеральным частицам. В частности, содержание глины должно быть минимальным; при намокании глина разбухает и увеличивается в объеме на 25–30%, в зависимости от гидрофильных свойств и коллоидальной активности. Увеличение объема глины приводит к уменьшению пористости рудной массы и, следовательно, к уменьшению скорости фильтрации выщелачивающих растворов. Лабораторные эксперименты по изучению фильтрации [160] показали, что увеличение содержания глины в руде от 15 до 60% приводит к уменьшению скорости фильтрации с 25 до 0,4 см в день и увеличению времени выщелачивания от 15 до 120 суток для куч высотой 2,5–3 м. Дудасом и др. отмечено, что глины также приводят к значительным потерям меди из выщелачивающих растворов, т. е. что ионы меди удаляются из растворов, сорбируясь глиной [68].

При отсыпке куч необходимо стремиться к выщелачиванию из частиц по Харрису. Однако эту цель трудно достигнуть при использовании рядовой необогащенной руды при изначальном гранулометрическом составе. В руде могут быть куски размером 150 см и больше, особенно если руда была добыта открытым способом, а также глина и рудная мелочь. Последующая обработка рядовой руды с целью сделать ее более пригодной для кучного выщелачивания зависит от экономических соображений. Она может включать дальнейшее дробление руды и отсеивание рудной мелочи и глинистых фракций и/или агломерирование рудной мелочи. В Рио Тинто кучному выщелачиванию подвергалась руда, содержащая 4% рудной мелочи класса –100 мм и 25% класса –19 мм [162], что очень похоже на преимущественное выщелачивание из частиц по Харрису [90]. На руднике в Рам Джангле рядовая необогащенная руда содержала значительное количество рудной мелочи и коэффициент пористости был около 28% [90, 99]; кроме того, был отмечен ярко выраженный процесс образования тонких шламов, имеющих большое сходство с водой. После начальной стадии, характеризовавшейся высокой скоростью экстракции, наблюдалось псевдо-партикулярное выщелачивание, описанное Харрисом. Каравайко и др. [102] отмеча-

ют, что содержание мелких классов не должно превышать 10–20%. На одном из участков рудника компании „Дж. Х. Тригг” кучному выщелачиванию подвергается руда класса 150 мм, а на другом — преобладает руда класса 50 мм. Наибольший размер кусков руды в кучах, выщелачиваемых на руднике, принадлежащем „Рэнчерз Эксплорейшн энд Девелопмент Корпорейшн”, составляет приблизительно 300 мм, хотя большая часть руды — это куски размером менее 100 мм. И, наконец, рядовая руда, используемая для кучного выщелачивания „Зонтелли Вестерн Майнинг Компани”, дробится после добычи из рудника до класса — 100 мм [152].

Когда рядовая руда непосредственно после добычи подвергается мелко-му дроблению для достижения высокой эффективности выщелачивания, образуется много рудной мелочи. Это можно преодолеть, если позволяют свойства руды, с помощью агломерации. Агломерация успешно применялась на руднике Ло Агвирре Майн компании „Сосьедад Минера Пудухуель” (Чили), где медные окисленные руды непосредственно после добычи подвергались химическому выщелачиванию с использованием так называемого метода тонкослойного кучного выщелачивания. Руда из рудника подвергалась дроблению до 100% класса — 4,75 мм, а затем поступала в смесительный барабан, куда добавлялось 25 кг/т серной кислоты и 40 кг/т воды, в результате чего происходила физическая агломерация, значительно повышавшая проницаемость [45, 65, 66].

5.5.5.3. Отсыпка куч

Для получения высокой эффективности бактериального выщелачивания необходимо поддерживать высокую концентрацию кислорода в выщелачивающих растворах по всей рудной массе. Тейлор и Велан отмечают [162], что наличие сильной естественной вентиляции в кучах на руднике в Рио Тинто значительно увеличивало скорость извлечения меди. В работе Брунштейна и Дункана [42], где рассматривается эксперимент, определенный как „выщелачивание в отвале”, но который удовлетворяет и определению „кучное выщелачивание”, также подчеркивается важность аэрации. В этом эксперименте выщелачиваемые кучи отсыпались на основание из асбестового воздухопровода диаметром 100 мм, причем трубы располагались на расстоянии 0,46 м друг от друга; часть воздухопровода, проходящая под кучами, была перфорирована отверстиями 12 мм в диаметре через каждые 50 мм. Воздух подавался двумя воздушными насосами со скоростью $0,236 \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$ под давлением 1,12 кПа. Важность аэрации подчеркивается и другими авторами [102], где рассматривается кучное выщелачивание на руднике в Мангуле, хотя в этом случае система распределения воздуха и не была такой сложной. По теории Харриса кучи, длина которых превышает высоту или ширину, больше отвечают оптимальным условиям выщелачивания.

На рудниках в Рам Джангле и Рио Тинто, где кучи закладывались эмпирически и выше приведенные условия были выполнены в силу этого только частично, коэффициент пористости составил соответственно 28 и 40%.

Можно отметить типичные кучи, организованные „Кортес Голд Майнз” [69], „Смоуки Вэлли Майнинг” [175] и в Сен-Пьерре [31], данные которых приводятся в табл. 5.16, хотя там применяется химическое выщелачивание.

Способ отсыпки куч влияет на их высоту. Если уплотненность можно понизить, то условия будут близки к условиям выщелачивания макрочастиц. В силу этого нежелательно использовать думпкары для доставки руды, т. к. они способствуют ее утрамбовке. В литературе отмечается [16, 41], что рыхление верхнего слоя куч не является эффективной мерой борьбы с его уплотненностью. Если уплотнение неизбежно, то целесообразно дополнять рыхление до глубины 2 м бурением соответственным образом расположенных вертикальных скважин. В зависимости от особенностей производства руда к месту образования куч может подаваться тележками или же ленточным транспортером. Затем руда может быть слоями заложена в кучи с помощью бульдозеров, ковшовых погрузчиков с опрокидывающимся назад ковшем и даже драглайнов. При использовании бульдозеров можно отсыпать кучи высотой до 3,5–4 м и более, однако при этом руда уплотняется. При использовании ковшовых погрузчиков уплотнение почти не происходит, однако трудно заложить кучи высотой более 3 м. Использование ленточных конвейеров и распределение руды с помощью опрокидывающихся тележек, установленных на мостовом устройстве, более дорогостоящее, однако имеет ряд преимуществ, так как позволяет равномерно отсыпать слои и полностью избежать уплотнения руды.

Для обеспечения проницаемости руды, содержащей глины, предлагается проводить регулируемую сегрегацию внутри куч [101]. В одном из методов предполагается использование передвижного штабелеукладчика для насыпки руды в виде ряда конусов высотой 1 м. По этому методу отделяется рудная мелочь, которая окружается слоем более крупнокусковой породы, обладающим высокой проницаемостью. Таким образом можно насыпать кучи высотой до 5 м. Применение высоких куч ведет к необходимости борьбы с уплотнением руды, но дает более эффективное использование занимаемой площади. Опыт показывает, что наиболее целесообразно закладывать кучи высотой около 4 м, однако их оптимальная высота должна устанавливаться на основе лабораторных опытно-промышленных испытаний.

В некоторых случаях подчеркивается важность геометрии куч. В Рам Джангле по всей длине куч были вырыты глубокие траншеи, и удаленная руда насыпалась между ними [90].

5.5.5.4. Технология кучного выщелачивания

Что касается введения выщелачивающих растворов, их сбора и компенсации потери воды, кучное выщелачивание близко к выщелачиванию в отвалах. Тем не менее, содержание меди в продуктивных растворах, вытекающих из куч, может быть выше, чем при выщелачивании в отвалах, достигая $8 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$, т. к. кучи закладываются из руд с более высоким содержанием ценного компонента.

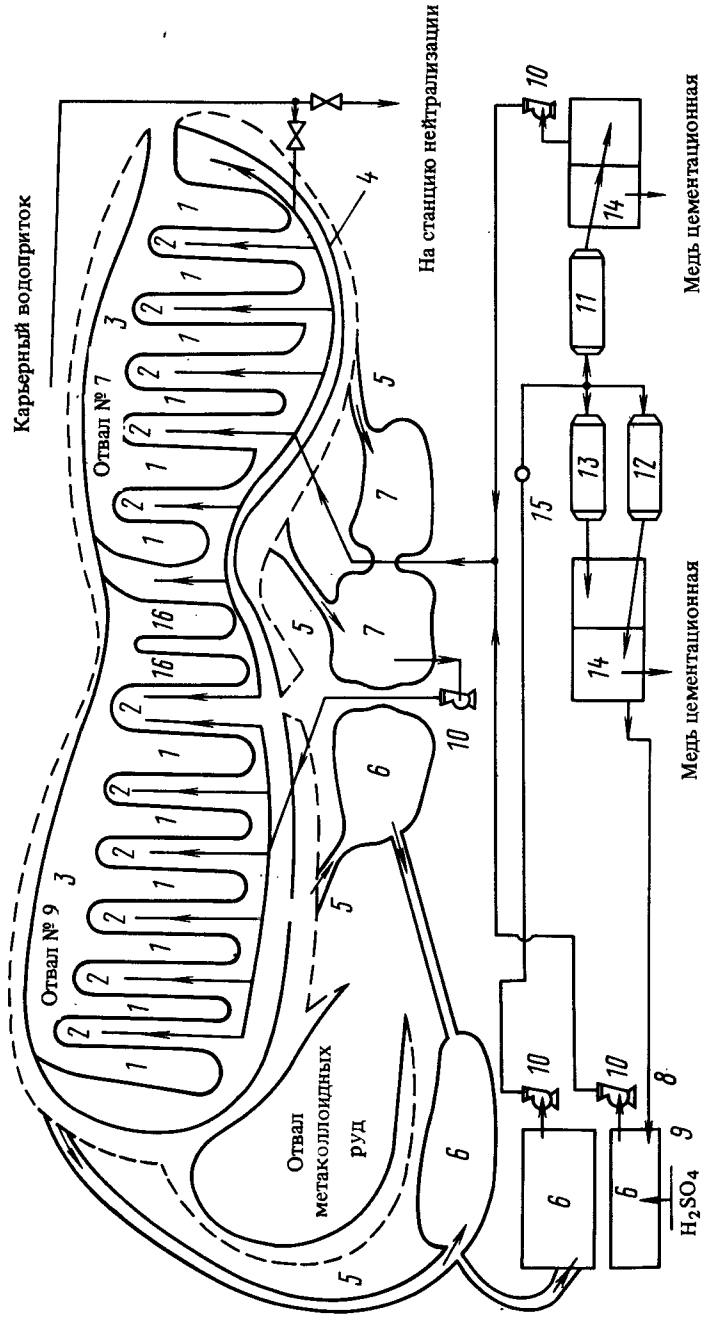


Рис. 5.22. Технологическая схема кучного выщелачивания на Николаевском руднике:

1 — оросительные прудки; 2 — разделительные бровки; 3 — дороги; 4 — разводка оросительных труб; 5 — канава для сбора расторов; 6 — головной прудок № 2; 7 — головной прудок № 1; 8 — хвостовой прудок; 9 — емкость серной кислоты; 10 — насосы; 11 — цементатор № 1; 12 — цементатор № 2; 13 — цементатор № 3; 14 — отстойники цементационной меди; 15 — расходомер; 16 — прудки на породе, складированной между отвалами

Таблица 5.16

Типичные параметры кучного выщелачивания

Название рудника	Руда	Размеры кучи			Количество руды, т	Наклон площадки, %	Скорость выщелачивающего раствора, $\text{м}^3 \cdot \text{с}^{-1} \cdot 10^{-3}$	Извлечение, %	Литературные источники
		высота, м	длина, м	ширина, м					
Голд Экрес	Окисленный известняк золотосодержащей руды	6,0	137,0	107	170 000	5	19	50	69
Смоуки Вэлли	Рисолитовый туф с золотосодержащим пиритом	3,0	122,0	76	40 000	3	25,2	Не ук.	175
Сен-Пьерр (Кантал, Франция)	Фосфаты и ванадаты урана в глиноземах и зеленых глинистых образованиях	4,0	Не ук.	Не ук.	1 500	Не ук.	Не ук.	90	31

Не ук. — не указано.

5.6. ПРИМЕРЫ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ ПОДЗЕМНОГО И КУЧНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ

Приводимое ниже описание примеров, число которых является ограниченным, основано на информации о промышленных процессах. Эти случаи ни в коей мере не следует рассматривать как общие примеры, поскольку никакие два рудных тела не могут иметь совершенно одинаковые геологические, топографические, геометрические, природные и физико-химические характеристики. Тем не менее, они могут служить своего рода справочником при обосновании проектов.

5.6.1. Кучное выщелачивание на Николаевском руднике (СССР)

5.6.1.1. Характеристика промышленной установки

Технологическая схема кучного выщелачивания бедных медно-цинковых руд на Николаевском руднике представлена на рис. 5.22 [10]. Отвал отсыпан на естественном глинистом основании с уклоном 2–8°. Толщина глинистого слоя 6–14 м. После снятия растительного слоя и уплотнения грунта самосвалами с давлением до 5 кг/см² насыпали слой 30–50 см мелкой пиритной руды — „пиритной сыпучки”, которую уплотняли катками. В результате получилась недорогая в изготовлении и надежная в эксплуатации площадка, которая полностью исключала фильтрацию растворов в грунт и предотвращала размывание глинистого основания потоками растворов, вытекающих из-под отвала в период его выщелачивания. За счет рельефа местности высота отвала изменяется в пределах 15–25 м, угол естественного откоса 40–50°. Площадь отвала сверху составляла 10400 м², а в основании — 17600 м². Объем руды в отвале 304500 м³.

С целью повышения перколяционной способности рудной массы в отвале были пробурены скважины диаметром 189 мм на глубину 5–6 м по сетке 8х8 м с последующим проведением взрыва. Поверхность отвала была разделена на 8 прудков площадью по 400–800 м², к которым был подведен трубопровод для подачи растворов. Вокруг отвала прорыты канавы и сооружен отстойник головных растворов объемом 1500 м³ для сбора растворов и отстаивания илов перед цементацией. Разветвленная сеть напорных трубопроводов диаметром 150 мм и длиной около 2 км сооружена из полиэтиленовых труб. Два гидроизолированных бетонных отстойника цементационной меди размером 10х10х25 м сооружены по типу сгустителя с центральным вводом растворов через загрузочный стакан и периферийным сливом осветленного раствора. Площадь обоих отстойников — 200 м².

Для выгрузки остатка цементационной меди из отстойника смонтирован кран и грейфер, оборудованный ковшом с плотно закрывающимися створками. Для цементации меди смонтирован вращающийся цементатор диаметром 2,2 м и длиной 11 м. Угол наклона барабана составляет около 2°. Внутренняя поверхность цементатора футерована нержавеющей сталью Х18Н10Т. Производительность цементатора составляет 83 м³/ч, скорость вращения — 6 об/мин.

Расход выщелачивающего раствора составляет 15 л/т руды, а пауза между орошениями — 2–3 суток. В среднем ежедневно на отвал подавали 1354 м³ растворов, из них 900 м³ хвостовых растворов после цементации и 454 м³ — из карьера. Средние потери растворов на испарение, на замачивание руды и основания отвала составили в начальный период 44%, а в конце сезона — 21,8%.

Установлено, что для данной конструкции цементатора, нагрузка по скрапу должна составлять примерно 10 т. Лучшим скрапом является обрез консервной жести, отходы трансформаторного и кровельного железа.

Капитальные затраты на строительство установки окупались менее чем за половину сезона работы участка.

Анализ работы установки показал, что при выщелачивании комплексных руд, в раствор переходят не только медь и цинк, но также и кадмий, индий, золото, серебро и другие металлы [11]. Медь, цинк и кадмий выщелачиваются более интенсивно 7–11 (Cu) и 8–10 (Zn, Cd) % за 210 дней (один сезон).

Мышьяк, сурьма, селен и теллур растворяются менее активно. Содержание золота и серебра не превышает 0,0015 мг/л. Повышение содержания их до 0,035 мг/л связано с использованием при выщелачивании небольшого количества отходов серной кислоты (до 1 г/л), содержащей примеси хлора и соляной кислоты. При цементации одновременно с медью из растворов переходят в осадок до 44% золота, часть серебра, мышьяка и сурьмы. При осаждении цинка в концентрат переходят кадмий, кобальт, никель и индий, а также недоизвлеченные при цементации золото, серебро и медь.

5.6.1.2. Микроорганизмы

Было установлено, что в окислительных процессах при выщелачивании металлов из отвалов принимают участие ряд микроорганизмов: *T. ferrooxidans*, *T. thiooxidans*, *L. ferrooxidans* и *S. thermosulfidooxidans* [6]. В растворах, вытекающих из-под отвалов, содержатся *T. ferrooxidans* в количестве 10⁶ — 10⁸ кл/мл, *L. ferrooxidans* до 2,5х10⁶ кл/мл.

В растворах при 22–25°C обнаружен факультативно-термофильный микроорганизм *S. thermosulfidooxidans* в количестве от 2,5х10² до 6х10⁵ кл/мл.

В хвостовых растворах число клеток бактерий резко снижается за счет неблагоприятных условий для их жизнедеятельности при цементации меди [5, 7]. После прохождения растворов через руду количество бактерий возрастает на два-три порядка, что свидетельствует о развитии их за счет окисления, в основном, Fe²⁺.

В увлажненной мелкой руде обнаружено наибольшее количество микроорганизмов (10⁶–10⁸ кл/мл), что, по-видимому, связано с благоприятными условиями — хорошо развитой поверхностью минералов и аэрацией руды. Активность микроорганизмов, несмотря на высокое их содержание, достаточно низкая. Отчетливые результаты по фиксации ¹⁴CO₂ были получены только в течение 3 суток. Это свидетельствует о том, что развитие бактерий в значительной мере подавлено.

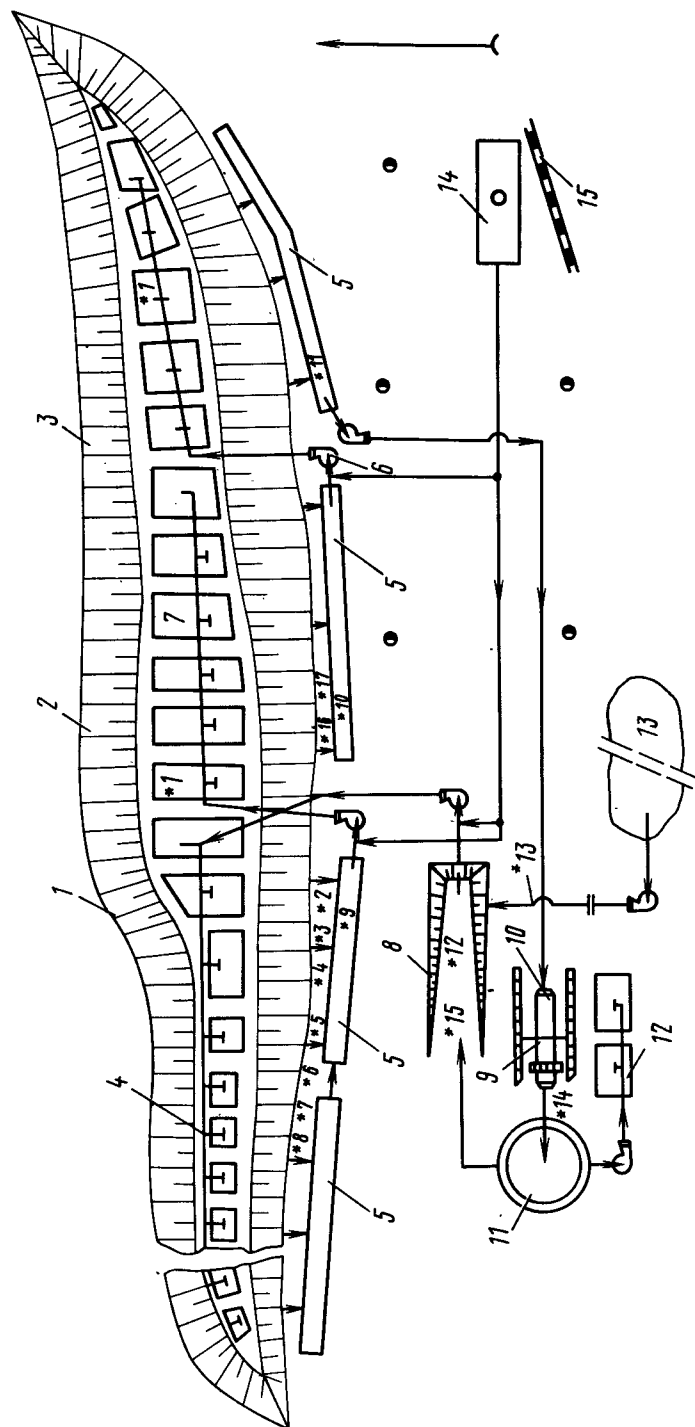


Рис. 5.23. Схема участка кучного выщелачивания на Коунрадском руднике:

1 — 3 — блоки руды; 4 — трубопроводы; 5 — насосы; 6 — пруды для сбора растворов; 7 — пруды на отвале; 8 — пруд хвостовых растворов; 9 — тельфер; 10 — цементатор; 11 — ступитель; 12 — чан-отстойники; 13 — бассейны свежей воды; 14 — склад кислоты; 15 — ж/д путь; * — наблюдательные скважины; * — точки микробиологического опробования

Следует заметить, что бактерии в растворах, вытекающих из-под отвала богатой метакolloидной руды, имеют активность на порядок ниже, чем из-под отвалов более бедных руд (отвалы №7 и 9). По-видимому, активность микроорганизмов при прохождении растворов через метакolloидную руду подавляется резким увеличением содержания цинка от 4–5 до 10–15 г/л. Естественно, что активность микроорганизмов, установленная по фиксации $^{14}\text{CO}_2$, значительно возрастает (в 5–10 раз) при увеличении температуры от 15 до 22–26°C. Скорость окисления Fe^{2+} в Fe^{3+} при этом возрастает в 2–6 раз. Определенное увеличение активности микроорганизмов наблюдали при добавлении в растворы солей фосфора KH_2PO_4 (0,5 г/л) и азота $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (3 г/л). Наблюдается корреляция увеличения активности микроорганизмов с увеличением их численности. Были сделаны выводы, что количество бактерий в растворах и их активность недостаточны для обеспечения высокой скорости окисления Fe^{2+} в Fe^{3+} и сульфидных минералов.

Активность бактерий подавляется повышенным содержанием в растворах железа (Fe^{2+} — 20–30 г/л) при общем содержании катионов и анионов 70–120 г/л.

Показано, что регенерация оборотных растворов позволяет интенсифицировать процесс выщелачивания меди и цинка [4].

Для активизации жизнедеятельности микроорганизмов, а следовательно, и увеличения скорости выщелачивания металлов из руды, необходимо извлекать из растворов кроме меди, также цинк [2], при необходимости добавлять в растворы соли фосфора и азота и, наконец, очищать оборотные растворы от избытка железа и других примесей [3]. Для регенерации и повышения окислительной способности оборотных растворов нами предложено (рис. 5.22) часть растворов подвергать принудительной аэрации воздухом в зумпфе отстойника цементатора №1, после чего растворы подавать на отвал пустых пород, расположенный между отвалами №№7 и 9. Проходя через отвал пустой породы pH растворов повышается. При этом основная часть примесей осаждается на теле отвала, а очищенные растворы собираются в отдельный прудок, где вновь подвергаются аэрации для доокисления оставшегося в растворах Fe^{2+} . Эти растворы, насыщенные кислородом воздуха и содержащие 2–5 г/л Fe^{3+} , подают вместе с другими оборотными растворами на выщелачивание рудных отвалов.

5.6.2. Кучное выщелачивание меди на Коунрадском руднике

5.6.2.1. Характеристика промышленной установки

На Коунрадском руднике построен опытно-промышленный участок кучного выщелачивания меди из бедных окисленных руд.

Отвал расположен на естественной площадке с уклоном 10° в юго-восточном направлении. Верхний слой площадки мощностью 0,5–3 м представлен песчано-глинистым элювием с коэффициентом фильтрации 0,07 м/сутки. Глубже идут коренные породы — гранодиориты.

Прудки глубиной 6 м для сбора продуктивных растворов сделаны с юго-восточной стороны отвала и опоясывают его, подобно дренажной канаве (рис. 5.23).

Длина отвала с запада на восток 700 м, высота от 15 до 20 м, ширина по верхней части отвала от 10 до 45 м. Максимальная крупность руды в отвале достигает 1–1,5 м и в среднем составляет 300–400 мм. Угол откоса отвала 35–37° с южной стороны и 42–45° с северной стороны.

Медь представлена на 77% окислами, на 12% вторичными сульфидами и на 11% первичными сульфидами. Основные медные минералы – малахит, азурит, реже брошантит и хризоколл, халькозин, халькантит и ковеллин. Из других рудных минералов следует особо отметить гидроокиси железа (гидрогетит $\text{FeO}(\text{OH}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, гетит $\text{FeO}(\text{OH})$, которые при низком pH растворяются, а Fe^{3+} переходит в раствор.

Породообразующие минералы – кварц (55–60%) и серицит (35–40%) разбиты многочисленными трещинами и являются инертными по отношению к слабым сернокислым растворам. Структуры руд радиально-лучистые, гранобластические и скрытокристаллические, текстуры корковые и прожилковые, что способствует проникновению растворов в глубь кусков руды и улучшению контакта растворов с полезными минералами.

В процессе выщелачивания руды декрипитируют, но не теряют фильтрационных свойств, что способствует естественной аэрации отвалов, развитию микробиологических процессов и т. д.

Отвал разделен на 4 блока, в каждом блоке около 90 тыс. т. руды. Блоки вводили в эксплуатацию последовательно с интервалом в 1 год. На третий год работы под орошением находилось 3 блока. Технологическую схему можно представить следующим образом. Выщелачивающие растворы с концентрацией серной кислоты 2–3 г/л подавали на блок №1, находящийся в эксплуатации третий год. Полученные растворы собирали в прудке-отстойнике, подкрепляли серной кислотой до 4 г/л и подавали на блок №2, эксплуатируемый второй год. Далее полученные растворы подкрепляли кислотой до 5–6 г/л и подавали на блок №3 свежей руды, введенный в эксплуатацию первый год. Растворы, полученные от блока №3, направляли на цементацию [10].

После цементации и отстаивания цементной меди хвостовые растворы собирали в прудке, подкрепляли серной кислотой до 2–3 г/л и возвращали на выщелачивание блока №1.

Осуществление описанной схемы позволило постоянно поддерживать в продуктивных растворах содержание меди 1,5–2 г/л, увеличить в три раза количество выщелачиваемой руды без увеличения количества выщелачивающих растворов и соответственно без увеличения числа цементаторов для переработки продуктивных растворов. При этом производство меди было увеличено примерно в 2,5–3 раза. Паузу в орошении изменяли в довольно узких пределах – 2–3 суток. Плотность орошения поддерживали в пределах 40–50 л на 1 т руды.

После трех лет работы участка начали орошать очередной (четвертый) блок свежей руды, а блок № 1 использовали как очистное сооружение [3, 8]. Растворы после цементации при pH 2–3 без подкисления подавали

на выщелоченный блок руды (№ 1), проходя через который от 50 до 90% железа и других примесей осаждалось в теле отвала. Затем очищенные растворы подкисляли кислотой и направляли на выщелачивание. Установлено, что без такой очистки растворов интенсивность извлечения меди из руды снижается не менее, чем на 10–15%, т. к. растворы в результате многократного оборота обогащаются до 10–15 г/л железом и другими примесями, которые, частично осаждаваясь на руде выщелачиваемых блоков, экранируют поверхность медных минералов [10].

За три сезона выщелачивания (сезон выщелачивания составляет 180 суток в году) извлечение меди достигло 70%, причем из каждого блока извлекалось меди в первый год 30–35%, во второй – 20–25% и в третий – 10–15%. Целесообразность более полного извлечения меди диктуется экономикой. Так, за четвертый сезон извлекается из блока руды дополнительно не более 5–10% меди. Скорость просачивания растворов через руду зависит от ее крупности и изменяется в течение 3–4 лет от 0,5–1,2 м·ч⁻¹ до 0,2–0,8 м·ч⁻¹. Для условий Коунрадского рудника рекомендуется скорость просачивания растворов поддерживать 0,4–0,6 м·ч⁻¹, т. к. при большей скорости трудно создавать „зеркало” растворов в прудках. Так, например, блоки с повышенной скоростью просачивания орошали не наливом растворов в прудки, а разбрызгиванием через перфорированные шланги, что в условиях Коунрадского рудника удорожало процесс и ухудшало равномерность смачивания руды в отвале.

Расход кислоты при выщелачивании составил 2,2 т/т меди. Извлекали медь в барабанных цементаторах, извлечение достигало 92–95% [10, 12, 13].

Осадок цементационной меди отделяли от раствора в кислотостойком сгустителе диаметром 12 м. При скорости осаждения самых тонких частиц меди (~ 10 мкм), равной 0,72 м·ч⁻¹, производительность сгустителя по раствору составила: $Q = 113 \times 0,72 \times 0,8 = 65 \text{ м}^3 \cdot \text{ч}^{-1}$, где: 113 – площадь сгустителя, м²; 0,72 – скорость оседания частиц, м·ч⁻¹; 0,8 – коэффициент использования площади сгущения. В действительности количество растворов, поступающих в сгуститель, достигало 80 м³·ч⁻¹, что приводило в отдельные периоды к потере со сливом до 8% меди.

Осадок меди при Т:Ж = 1:5 удаляли из сгустителя самотеком три раза в сутки и отстаивали до влажности 40–50% в чанах-отстойниках. Полученный влажный осадок гранулировали совместно с флотационным концентратом [1] и отправляли в плавку. Содержание меди в товарном цементационном осадке составляло 76,5%, из которых третья часть меди находится в виде окислов, образовавшихся в процессе обезвоживания и перевозки осадка.

Особой задачей было определить потери растворов на испарение и на просачивание в грунт. Для этого учитывали количество свежей воды, поступающей на выщелачивание, количество воды, испарившейся из прудков на поверхности отвала, прудков-сборников растворов, из сгустителя и других открытых поверхностей.

По данным метеорологической службы за 5 лет работы участка испарилось 1332,7 мм·м⁻² влаги открытой поверхности. Зная общую площадь испарения, рассчитали, что потери воды на испарение составили 67,35 тыс.м³.

Поступило на технологические нужды за этот период 113,7 тыс. м³ свежей воды, а выведено технологических растворов из схемы в пусконаладочный период 33,5 тыс. м³. В результате баланса растворов получаем: 113,7 тыс. м³ — 67,35 тыс. м³ — 33,5 тыс. м³ = 4,85 тыс. м³.

Таким образом, баланс между поступлением и расходом воды отличается всего на 4,85 тыс. м³ (4,3%), что объясняется неточностью учета растворов. Из приведенных данных следует, что потери воды на испарение в условиях северного Казахстана (СССР) на участке кучного выщелачивания зависят от количества технологических растворов, циркулирующих ежедневно в схеме, и составляют: $\frac{67000 \times 100}{2000 \times 180 \times 5} = 4\%$,

где 67000 — количество испарившейся воды на участке за 5 лет, м³;

2000 — количество растворов, циркулирующих в схеме, м³/сут;

180 — продолжительность рабочего сезона в году, сут.;

5 — продолжительность эксплуатации участка, лет;

Полученные данные были использованы при разработке проекта расширения кучного выщелачивания на руднике до промышленных масштабов.

Для контроля утечки растворов пробурили 26 скважин вблизи отвала, а также в направлении движения грунтовых вод. Вода в скважинах постоянно имела pH = 7,1–8,0, наличие меди в скважинах не обнаружили. Дважды в течение 5 лет составляли материальный баланс между количеством полученной товарной меди и остаточным содержанием ее в отвале. Руду в отвале опробовали бурением скважин с отбором керна [9, 14]. Количество полученной меди и остаточное содержание ее в отвале соответствовало исходному количеству меди в руде. Это еще раз подтвердило, что технологические растворы в грунте не теряются.

5.6.2.2. Микроорганизмы

Максимальная численность бактерий *T. ferrooxidans* 7×10^5 — $1,3 \times 10^6$ кл/мл наблюдается в растворах, вытекающих из-под отвала (при содержании их в орошающих растворах 10^2 – 10^3 кл/мл). Из этого следует, что условия внутри отвала благоприятны для развития и роста этих микроорганизмов.

В конце сезона выщелачивания (в ноябре) на установке было проведено бурение отвала колонковым способом. Бурение осуществляли без подачи воды, что позволило отобрать более представительные пробы для микробиологического анализа. Анализ проб, отобранных с интервалом 1–2 м, показал присутствие микроорганизмов только в верхней части отвала (6–8 м), что связано, по-видимому, с достаточно интенсивным орошением этой части отвала. Об этом свидетельствует анализ пробы скважины, пробуренной в части отвала, не подвергающейся активному орошению. Микроорганизмы присутствуют здесь только до 4 м. Концентрация бактериальных клеток в отвале приблизительно совпадает с концентрацией клеток в растворах, вытекающих из-под этих участков в соответствующих точках у основания отвала. Таким образом, по анализу микрофлоры растворов, выте-

кающих из-под отвала, можно судить о количестве и видовом составе микроорганизмов внутри отвала.

Опыт эксплуатации показал, что производство меди выщелачиванием даже при небольших масштабах рентабельно, а себестоимость меди в 1,5 раза ниже, чем при традиционной переработке богатых руд данного месторождения.

5.6.3. Подземное выщелачивание на Блявинском руднике

Рудное тело представлено 4-мя чечевицеобразными залежами, имеющими форму линз: Северная, Южная, Малая и Восточная. Коренная порода представлена липаритовыми порфирами и их туфами. Руда имеет мелкозернистую структуру с повсеместными обильными вкраплениями рассеянного крупнокристаллического пирита, размер частиц которого составляет от 0,001 до 0,01 мм; пористость руды, превышающая 3%, делает ее пригодной для выщелачивания. В руде равномерно распределен халькопирит, встречающийся в виде гнезд и прожилок размером от 0,01 до 2–5 мм. Над халькопиритом образуется ковеллин в виде мелких кристаллов или гнезд.

С ковеллином связан халькозин, который образует удлиненные тонко-слоистые корковые образования. Халькозин также встречается в виде фюзеновой разновидности, образующейся над пиритом. Эта фюзеновая разновидность, встречающаяся вместе с марказитом, кристаллизуется неполностью и поэтому обладает дефектной кристаллической структурой. Обе эти разновидности сернистого железа быстро окисляются.

Разработки на всех 4-х залежах велись традиционным методом с прокладкой подземных выработок, а затем руда, оставшаяся в выработках, была подвергнута бактериальному выщелачиванию. Сначала выщелачивание было применено на Северной и Южной залежах, а затем, после накопления опыта, и на Восточной залежи. Для выщелачивания использовались кислые (pH от 2 до 3) дренажные растворы и частично пресная вода из естественного водоема.

5.6.3.1. Северная залежь

Эта залежь — самая мощная, и ее руда содержит до 80% пиритов, а остальные 20% состоят из медных минералов, из которых 11,7% — сульфаты, 3,3% — окисленные минералы, 67% — вторичные сульфиды и 18% — первичные сульфиды. Порода характеризуется высокой трещиноватостью, что обеспечивает хорошую фильтрацию выщелачивающих растворов и доступ атмосферного кислорода. Выщелачивание проводится в породе, образующей целик, нарушенный при выработке в прилегающих забоях. Над выходом этого целика расположен отвал высотой 80 м.

Часть этого рудного тела, называемая блоком № 45, расположена в борту открытого карьера, где ранее проводилась добыча руды традиционными способами. Поскольку в этой части месторождения порода была почти нетронутой, перед выщелачиванием необходимо было провести ее дробление. Дробление было произведено буровзрывным методом, для чего было про-

бурено 40 скважин диаметром 105 мм, некоторые из них вертикальные, длиной 14 м, а другие — наклонные, длиной 20 м по сетке 2х3 м.

Бактериальное выщелачивание было также применено на отвале высотой 7 м, расположенном на склоне карьера и отсыпанном из забалансовой руды, полученной при вскрышных работах на карьере.

5.6.3.2. Южная залежь

Руда в этой залежи добывалась послойной выработкой сверху. Мощность залежи была от 2 до 16 м. Выработанные забои заполнялись обрушенной коренной породой, что привело к снижению содержания ценного компонента до 0,035% Cu.

5.6.3.3. Восточная залежь

Данное рудное тело расположено в 300 м к юго-востоку от Северной залежи, имеет угол падения 55° , мощность от 10 до 20 м. Верхняя часть залежи находится на глубине 40 м от дневной поверхности. Зона, где планируется применить бактериальное выщелачивание, находится выше горизонта 373 м на 50 м. При подготовке ее к выщелачиванию необходимо было провести подготовительные работы, включая прокладку штрека для сбора продуктивных растворов, а также ортов, обеспечивающих приток атмосферного воздуха из штрека к рудной массе, в которой будет происходить выщелачивание и проведение буровзрывных работ. Поскольку стоимость горно-подготовительных работ может составлять 70–80% от всех капитальных затрат по организации бактериального выщелачивания, эта зона была разделена на несколько участков, на которых подготовительные работы будут проведены различными методами, чтобы выяснить, какой из них является наиболее эффективным.

При дроблении одного блока было пробурено 18 скважин глубиной 95 м, расположенных таким образом, чтобы взорванная порода (15%) заполнила старые выработки. Заряды взрывчатого вещества были помещены в нижней части скважин, так что их верхняя часть, обсаженная трубами из нержавеющей стали, осталась неповрежденной, и их можно было в дальнейшем использовать для закачки выщелачивающих растворов. В среднем в каждую взрывную скважину было заложено 1120 кг взрывчатого вещества, расход взрывчатых веществ составил $0,7 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$.

5.6.3.4. Распределение и состав выщелачивающих растворов

На Северной залежи растворы распределяются по методу прудков (см. раздел 5.5.4.1), которые расположены на поверхности отвала, находящегося над целиком, а также на верхней части блока № 45 и отвала с бедной рудой.

В Южной залежи выщелачивающие растворы подаются в раздробленную породу через 52 скважины, пробуренные с поверхности и расположенные на

расстоянии 10 м между центрами. Эти скважины закреплены обсадными трубами с полистироловым покрытием, их глубина составляет от 40 до 87 м. На Восточной залежи растворы также закачиваются через нагнетательные скважины.

Выщелачивание на Южной, Северной залежах и в блоке № 45 проводится круглый год. На отвале из бедной руды выщелачивание проводится в течение 7 месяцев (с мая по ноябрь).

Растворы с pH 1,0–2,5, образующиеся при подземном выщелачивании, стекают через трещины и пустоты в расположенные ниже выработки (либо старые, либо проложенные специально, как на Восточной залежи) и затем собираются в подземных водосборниках, откуда выкачиваются на поверхность и поступают либо на установку по извлечению меди цементацией, либо в напорный бак для рециркуляции.

На Северной и Южной залежах плотность орошения была от $50 \cdot 10^{-3}$ до $60 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{т}^{-1}$ руды, а на Восточной залежи, как показал расчет, процесс идет оптимально при расходе $0,14 \text{ м}^3 \cdot \text{т}^{-1}$ руды. Пауза между орошениями на отвале из бедной руды и в блоке № 45 составляла 10 суток, на Северной и на Восточной залежах — 20 суток.

На Южной залежи скорость фильтрации равна $20,5 \cdot 10^{-3} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$, в отвале — $5,6 \cdot 10^{-3} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ и на Северной залежи — $1,25 \cdot 10^{-3} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$.

Было отмечено, что через 2–3 года после начала выщелачивания на Восточной залежи в некоторых скважинах скорость фильтрации растворов резко упала. Это вызвано заиливанием выщелачиваемой руды из-за самозамельчения и выделения в верхних слоях блока гидратов железа. Кратковременное подкисление выщелачивающих растворов (до 2–3 кг-м⁻³ серной кислоты) позволило частично устранить это явление и повысить как скорость фильтрации, так и содержание меди в продуктивных растворах. Расход серной кислоты составляет 3 т на тонну меди.

На Восточной залежи было проведено изучение влияния температуры на активность микроорганизмов. Исследования проводились под землей, летом и зимой на второй и третий год выщелачивания. Результаты наблюдений представлены в табл. 5.17. Было отмечено, что низкая температура растворов и руды (от 6 до 12°C) приводит к уменьшению активности микроорганизмов. Например, понижение температуры с 22°C до 12°C приводит к понижению количества окисляемого за день закисного железа с 224 до $120 \text{ г} \cdot \text{м}^{-3}$. Необходимо отметить, что без присутствия бактерий двухвалентное железо при такой температуре вообще не окисляется.

Предполагается, что улучшение аэрации в рудной массе ускорит процесс окисления Fe^{2+} и сульфидных минералов и в результате чего температура в массе раздробленной руды может повыситься до 25°C и выше.

На блоке № 45 и в отвале происходит интенсивная естественная аэрация, если судить по температуре, которая в блоке достигает 40 – 60°C , а в отвале 25 – 30°C , в то время как температура вытекающих продуктивных растворов равна 10 – 14°C .

Из-за неблагоприятных, по большей части, внешних факторов (отсутствие или недостаточная аэрация породы и низкая температура рудных тел, колеблющаяся в диапазоне от 8 до 14°C) число клеток *T. ferrooxidans*

Результаты микробиологического анализа подземной жидкости
выщелачивания на месторождении Ближневское

Раствор	Время анализа	Температура, °C	pH	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ	Fe ²⁺ , г/л	Fe ³⁺ , г/л	Си, г/л	Число клеток T. ferrooxidans в 1 мл
Растворы карьера	Август	12,5	2,5	412	1,14	0,11	0,23	2x10 ⁵
	Ноябрь—декабрь	6	2,76	390	1,93	0,07	0,25	2x10 ⁴
Растворы с горизонта 301 м	Август	12	2,02	445	3,74	0,11	0,47	2,5x10 ⁵
	Ноябрь—декабрь	9	2,11	415	2,63	0,17	0,40	1,5x10 ⁵
Растворы, поступающие на орошение руды	Август	12	2,66	417	1,40	0,12	0,26	2x10 ⁵
	Ноябрь—декабрь	6	2,70	410	2,23	0,17	0,28	1,5x10 ⁵
Продуктивные растворы из Восточной залежи	Август	12	2,54	440	2,91	0,26	0,69	1,5x10 ⁵
	Ноябрь—декабрь	6	2,39	420	3,73	0,32	0,58	9,5x10 ⁴
Растворы перед цементацией	Август	11	2,66	425	2,34	0,26	0,60	9,5x10 ⁴
	Ноябрь—декабрь	3	2,86	417	3,01	0,34	0,45	10 ⁵
Растворы после цементации	Август	11	2,85	395	3,60	0,04	0,006	9,5x10 ⁴
	Ноябрь—декабрь	3	3,73	380	4,00	0,05	0,004	9,5x10 ⁴

в продуктивных растворах не превышает 10^4 – 10^5 кл/мл. От 90 до 98% железа в растворе находится в закисной форме. Наибольшая бактериальная активность $-3,9 \text{ имп.}\cdot\text{с}^{-1}\cdot\text{см}^{-3}$ и $4,1 \text{ имп.}\cdot\text{с}^{-3}\cdot\text{см}^{-3}$ соответственно — была отмечена в растворах, собираемых на Северной залежи и из-под отвала, а наименьшая — $2,0 \text{ имп.}\cdot\text{с}^{-1}\cdot\text{см}^{-3}$ — на Южной залежи.

Концентрация меди в продуктивных растворах составила 3 – $5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ в отвале и блоке № 45, $1,5$ – $2 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ — на Северной залежи и $0,15$ – $0,25 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ — на Южной залежи, при этом средняя концентрация меди в продуктивных растворах без разбавления растворами естественного притока составила $1,7$ – $2,0 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$. Смешение с естественными растворами приводило к уменьшению средней концентрации до $1,1$ – $1,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ меди.

Среднегодовое извлечение меди составило $15,1\%$ на Южной залежи и $17,4\%$ на Северной залежи.

На Восточной залежи после 4 лет выщелачивания извлечение меди составило 62% при среднегодовом $12,4\%$. В течение первых 3 лет выщелачивания среднегодовое извлечение меди было равным 15% , однако на четвертый год снизилось до $8,5\%$. Летом концентрация меди в выщелачивающих растворах в два раза выше, чем зимой, что соответствует изменению температуры от 12 до 6°C .

Продуктивные растворы, вытекающие из рудной массы, собираются в подземных отстойниках и затем выкачиваются на поверхность.

5.6.4. Опытнo-промышленное испытание подземного бактериального выщелачивания на месте залегания иа руднике Авока [46, 47, 77]

Рассматриваемое опытнo-промышленное испытание проводилось при финансовой поддержке со стороны Европейского Экономического Сообщества, и его результаты дали много ценной информации по этому технологическому процессу.

5.6.4.1. Рудное тело

Месторождение медных сульфидных руд в Авоке расположено в южной части графства Уикем, примерно в 6 милях к северо-западу от Арклоу, Ирландия. Зона выработки, простирающаяся с северо-востока на юго-запад, разбита на два сектора — восточный и западный — долиной реки Авока. Рудное тело состоит из чечевицеобразных линзовидных залежей с высокой степенью минерализации породы в маломинерализованной вмещающей хлоритовой породе. Для выщелачивания был выбран блок руды размером 25 м в длину, 9 м в ширину и 12 м в высоту, расположенный в частично отработанной выработке 14 на отметке 850 в восточной части месторождения в Авоке. Средняя плотность руды равна $2941 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$.

Рудное тело, ширина которого составляет около 20 м , у своей подошвы граничит с пиритизированным глинистым сланцем, а по кровле — с серицитовыми туфами. Оба эти типа породы являются малопроницаемыми, за исключением мест с ярко выраженной гребниноватостью. Гребниноватая

структура имеет большое значение для дробления породы и сбора растворов в зоне выщелачивания. Общая система трещин состоит из пересекающихся под большим углом двух групп, наклонных и одной группы горизонтальных трещин. В результате пересечения этих трещин образуется призматическая структура, которая важна с двух точек зрения. Если трещины, образующие эту структуру, не будут естественным образом или искусственно изолированы, то выщелачивающие растворы будут проникать через трещины у подошвы рудной зоны на лежащие ниже уровни. Кроме того, избыточная трещиноватость мешает передаче энергии сжатия при взрыве. Для получения оптимального дробления при закладке взрывных скважин необходимо учитывать направление трещин.

Сульфиды представлены, в основном, пиритом, халькопиритом, сфалеритом с высоким содержанием железа и галенитом. Эти минералы залегают в виде жил и прожилков толщиной от 13 до 60 см, которые идут параллельно слоистости. Каждая прожилка имеет хорошо выраженную структуру, ядро которой обычно состоит из кристаллического пирита, отделенного зернами белого кварца от расположенного по периферии участка халькопирита, который в свою очередь прилегает к участку хлорит — серицитовой породы, не представляющей промышленной ценности. Сфалерит и галенит обычно связаны с этими прожилками, но могут образовывать и поперечно идущие жилы.

Порода, расположенная между прожилками, содержит весьма незначительное количество сульфидных минералов. Она состоит в основном из тонкого скрытого кристаллического кварца, пронизанного искривленными слоями слоистого силиката. Основные слоистые силикаты, амезит, Mg — шамозит и серицит обычно встречаются совместно с сульфидными минералами.

В табл. 5.18 приведены результаты количественного минералогического анализа проб, взятых из ортов, проложенных в этом блоке.

Т а б л и ц а 5.18

Количественный минералогический анализ
рудной залежи секущего типа [46]

Минерал	Содержание, %
Кварц	69,0
Амезит	14,7
Магнийевый шамозит	3,7
Серицит	1,7
Халькопирит	2,74
Пирит	4,01
Сфалерит + 10% Fe	1,10
Галенит	0,46
Другие	2,59

Естественная пористость вмещающей породы, содержащей кварц/хлорит/серицит — порядка 1%, а скорость фильтрации воды через нее — порядка 10^{-12} м·с⁻¹, т. е. данный тип породы является весьма мало проницаемым (раздел 5.3.2.2). В силу этого, для организации выщелачивания на месте залегания данной породы, необходимо было провести ее дробление буровзрывным методом.

5.6.4.2. Микроорганизмы

Виды микроорганизмов, обитающих в природных водах на руднике в Авоке, весьма разнообразны и хорошо приспособлены к условиям рудника. При различных значениях pH в шахтных водах были выделены штаммы *T. ferrooxidans*, *T. thiooxidans*, другие тионовые бактерии и гетеротрофные бактерии.

5.6.4.3. Дробление руды буровзрывным методом

Из орта, проложенного в блоке, было пробурено несколько расходящихся веером взрывных скважин. Эти скважины были заполнены АСТН (аммиачная селитра/топливная нефть) или же „Франджексом” (основа АСТН + нитроглицерин), которые, предположительно, были наиболее подходящими взрывчатыми веществами, несмотря на их низкую энергетическую характеристику. Взрывной коэффициент (выраженный в килограммах на метр скважины) был равен 2,4—4,0.

Размер кусков после дробления был равен 30—100 см в восточной части выработки, а ближе к рудоспускам более 95% руды имело размер кусков менее 15 см. Поэтому результаты дробления трудно было оценить количественно. Разрыхление составило 33%. Общая стоимость дробления составила 3,12 ирландских фунта на тонну.

5.6.4.4. Основной контур выщелачивания

Правильный выбор выработки привел к образованию образцового контура выщелачивания, пригодного для описания в учебниках. Выщелачивающие растворы из отстойника закачиваются на верх раздробленной рудной массы и там распределяются по поверхности руды с помощью струйных головок, сделанных из хирургических трубочек, как на руднике компании „Багдад Коппер” (раздел 5.5.4.1.). Просочившийся через руду раствор собирается в отстойнике. Часть этого раствора поступает затем на установку для цементации, а остальная часть подается на рециркуляцию после добавления необходимого количества шахтной воды, чтобы компенсировать утечку раствора через трещины у подошвы раздробленной рудной массы. Основной чертой данного контура выщелачивания является включение в него цепи автоматического контроля pH, основной функцией которой является предотвращение повышения pH выщелачивающего раствора в результате цементации и поглощения кислоты материалами, содержащимися в руде. Прибор, контролирующий pH, подсоединен через преобразователь

к насосу, который подает в отстойник серную кислоту для автоматического поддержания pH раствора на любом заданном уровне.

Еще одной отличительной чертой данных испытаний является определение кислородного потенциала выщелачивающего раствора в различных точках контура. Измерения кислородного потенциала показали и подтвердили следующее:

а) Содержание кислорода в выщелачивающем растворе понижается на участке цементации и во время фильтрации через толщу раздробленной рудной массы высотой 15 м, достигая у ее подошвы уровня 2 части на миллион (ppm). Поскольку окислительная активность автотрофных бактерий понижается при содержании кислорода менее 1 части на миллион (ppm), можно сделать вывод, что предел глубины, на которой происходит активное перколяционное выщелачивание, равен примерно 22 м при расходе раствора, равном $2,8 \cdot 10^{-6} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$. Ниже этого уровня сульфидная руда будет выщелачиваться только в периоды осушения.

б) Содержание кислорода в подаваемом растворе быстро увеличивается до 5 частей на миллион по мере того, как отработанный раствор проходит каскады системы отстойников и обесшламленный раствор попадает в смешительный чан, куда добавляется насыщенная кислородом шахтная вода. Содержание кислорода затем увеличивается до максимального значения 9 частей на миллион, когда раствор подается насосами в систему распределения и разбрызгивается по поверхности раздробленной рудной массы. Диффузия воздуха в руде дает возможность компенсировать потери кислорода и, по Харрису [90] и Бримхоллу и Уодсворту [39] (см. раздел 5.3.1), при этом большую важность имеет дренаж всех вод, кроме пленочных, и в связи с этим правильное чередование периодов осушения и орошения.

Потери выщелачивающих растворов из-за их утечки через разломы в почве у подошвы выработки достигали 40% в начале процесса, но затем снизились до 15% и менее за последующие 250 дней выщелачивания, возможно вследствие закупорки отверстий мелким материалом.

5.6.4.5. Скорость извлечения меди

За 200–250 дней выщелачивания скорость извлечения меди оставалась почти постоянной и составляла $17 \text{ мг} \cdot \text{с}^{-1}$, что в соответствии с отчетом по этим испытаниям приблизительно соответствует 8% всей меди, содержащейся в рядовой руде, добываемой за год.

Основным недостатком цикла осушение/выщелачивание является то, что, при необходимости оценить общую скорость извлечения металла, приходится не принимать во внимание период просушки. В Авоке, где соотношение продолжительности осушения и выщелачивания было 3:1, для получения среднегодовой скорости извлечения меди в 10% потребовалось бы, чтобы в период выщелачивания скорость извлечения была бы порядка 40%. Это означает, что при выщелачивании получение прибыли на инвестированный капитал будет идти медленнее, чем при традиционных способах добычи меди. Тем не менее, сами по себе невысокие капитальные и эксплуатационные расходы могут компенсировать этот недостаток.

5.6.5. Техничко-экономическое обоснование бактериального выщелачивания меди на месте залегания [96]

Строго говоря, рассматриваемые ниже вопросы не являются описанием действующего процесса, но тем не менее их рассмотрение может послужить хорошим примером реалистичного, последовательного технико-экономического подхода к решению проблемы обоснования подземного бактериального выщелачивания применительно к месторождению, находящемуся на территории действующего рудника. Необходимо подчеркнуть, что только на первый взгляд данный случай является особым, на самом деле он является типичным для тех месторождений, в которых части рудных тел либо слишком малы, либо содержат очень бедную руду или просто являются сложными и нерентабельными с точки зрения применения традиционных методов добычи. При разработке таких рудных тел капитальные затраты ограничены затратами на создание установок для выщелачивания и извлечения меди. При решении проблем, которые возникают в случае извлечения металла из руд подобных месторождений, возможны два альтернативных варианта: либо руда обогащается на фабрике, находящейся на руднике или поблизости, и в дальнейшую переработку поступает в виде концентрата, либо же металл извлекается с помощью кучного выщелачивания. Кучи могут быть заложены как на поверхности (как это было сделано на руднике Эгню Лейк Майн [147, 149], так и под землей, если там есть достаточно просторные камеры и порода прочна.

Разработка проекта включает четыре стадии: выбор участка, предварительная оценка возможности организации подземного процесса, предварительное обоснование металлургического цикла и общая оценка эффективности анализа.

5.6.5.1. Выбор рудника

Семь рудников, на которых „Норанда Компани” проводила добычу медных сульфидных руд, были оценены с учетом конфигурации и геологии рудника, содержания меди и других металлов; наличия наземного оборудования и прочих факторов, характерных для рассматриваемой конкретной местности, например, таких как потенциальное неблагоприятное воздействие на окружающую среду.

В результате был выбран рудник Джеко Майн, в Манитувадже, Онтарио. На данном руднике рудное тело имеет линзовидную форму, длина его — 730 м, а ширина — 20 м. Начиная с 1957 года, было добыто около 36 миллионов тонн руды. Руда на участке, выбранном для проведения исследования, — это 2,1 миллиона тонн вкрапленных сульфидов (1,5% пирита, 2,9% пирротина, 2,6% халькопирита и 93% кварца) в серицитовом сланце при среднем содержании меди 0,9%. Порода может быть определена как непроницаемая, т. е. начальный коэффициент фильтрации составил $10^{-11} - 10^{-10} \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$.

5.6.5.2. Подготовка породы для бактериального выщелачивания в месте залегания

Поскольку начальный коэффициент фильтрации был очень мал, то возникла необходимость в проведении дробления породы буровзрывным методом. Для этого нужно было выбрать метод подземных выработок, наиболее отвечающий требованиям подготовки породы. После сравнительного анализа был выбран подэтажный метод выработки по следующим соображениям:

- а) наличие на руднике соответствующего оборудования и специалистов;
- б) умеренная стоимость; не требуются капиталовложения на проход ствола шахты и строительство обогатительной установки;
- в) возможность получения заданного распределения гранулометрического состава раздробленной рудной массы;
- г) возможность придать дробленной руде такую форму, которая обеспечит доступ к ее верхней поверхности и установку системы струйного распределения выщелачивающих растворов.

Было предположено, что для получения среднего класса -150 мкм требуется удельный расход взрывчатого вещества $0,7$ кг на тонну рядовой руды. Для обеспечения необходимого разрыхления породы при взрыве необходимо было удалить 25% рядовой руды.

5.6.5.3. Процесс выщелачивания

Технико-экономические расчеты были сделаны, исходя из предположения, что извлечение меди из халькопирита за 10 лет выщелачивания составит 55% , а ежегодная добыча меди — 1000 т. Удельный расход выщелачивающих растворов был определен в $2,78 \cdot 10^{-6} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$ (что соответствует $10 \text{ л} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$), а скорость потока продуктивных растворов — в $31,6 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3 \cdot \text{с}^{-1}$.

Продуктивные растворы, содержащие $1 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$ меди, закачиваются на находящуюся на поверхности цементационную установку по трубопроводу из углеродистой стали с резиновым покрытием диаметром 150 мм при геометрическом напоре в 1000 м, который обеспечивается тремя насосными станциями. В каждую из них входит два насоса мощностью 110 кВт (один насос запасной). Анализ цементного осадка показывает, что содержание меди при $15\text{--}20\%$ влажности составляет 85% . Отработанные растворы подаются из установки для цементации под землю по трубопроводу из углеродистой стали с резиновым покрытием через клапаны, снижающие давление, которые были установлены через каждые 70 м, чтобы получить давление в 345 кПа, необходимое для работы системы орошения.

5.6.5.4. Оценка стоимости (1985 год, канадские доллары)

Руда, полученная при подземных выработках (прокладка штолен, ортов, а также разрыхленная порода, образовавшаяся после взрывных работ, которая должна быть удалена для создания необходимого доступа к раздробленной породе), перерабатывается на обогатительной установке. Все

расходы, связанные с подземными выработками, являются эксплуатационными расходами, и поэтому прибыль, получаемая при переработке полученной таким образом рядовой руды, вычитается из эксплуатационных расходов.

Анализ затрат при подземных выработках приводится в табл. 5.19.

Таблица 5.19

Затраты на проведение некоторых работ по добыче рядовой руды

Статья расходов	Транспортировка руды от забоя к стволу	Подъем	Обогащение	Всего
Доллар/тонну рядовой руды	0,5	1,1	5,5	7,1

К итоговому показателю, приведенному в табл. 5.19, необходимо добавить транспортные расходы для перевозки концентрата ($38,50$ долл/т) и стоимость металлургического передела ($0,85$ долл/кг) в пересчете на одну тонну рядовой руды. Сумма S — общая стоимость извлечения меди из одной тонны рядовой руды. Прибыль от переработки рядовой руды C определяется из расчета, что цена одного килограмма меди равна $2,20$ долларам, и поэтому разница

$$D = S - C$$

определяет доходы от добычи рядовой руды и составляет $1,35$ долларов на тонну руды.

В табл. 5.20 приводятся затраты на разработку месторождения.

Таблица 5.20

Затраты на разработку месторождения

Статья расходов	Доступ	Подсечка	Верхний вруб	Восстающие выработки	Разработка подгоризонтов	Буровзрывная проходка щелей	Забой	
							Бурение	Взрывы
Доллар/тонну выщелачиваемой рядовой руды	3,45	0,20	2,34	2,20	1,84	1,74	1,71	2,61

Общая стоимость разработки месторождения

16,09 долл/т

Льготы от разработки рядовой руды

1,35 долл/т

Чистая стоимость добычи

14,74 долл/т

Таблица 5.21
Капитальные расходы на бактериальное выщелачивание
на месте залегания руды (доллары x 1000)

Выщелачивание		Цементация	
Непосредственные расходы		Непосредственные расходы	
1. Обсадка скважин	490	1. Подготовка площадки, фундаментов и зданий	670
2. Насосы	233	2. Оборудование	370
3. Циркуляция растворов	40	3. Электрооборудование	100
		4. Приборы	25
Оборудование	763		
4. Отстойник для осаждения железа	150	5. Трубы	75
5. Электрооборудование (6% от стоимости оборудования)	46	6. Разное	25
6. Приборы (4% от стоимости оборудования)	30	Всего прямых затрат	1 265
7. Управление процессом (5% от стоимости оборудования)	38	Дополнительные расходы	467
8. Лаборатория (8% от стоимости оборудования)	61		
Основной капитал	1 088		
9. Затраты на ввод в действие (10% основного капитала)	108		
Общие непосредственные расходы	1 196		
Дополнительные расходы	440		
Всего	1 636	Всего	1 732

В табл. 5.21 и 5.22 приводятся данные о капитальных и эксплуатационных расходах для процессов бактериального выщелачивания на месте залегания.

Экономический анализ, подробные детали которого здесь не приводятся ради краткости изложений, показывает, что условия на руднике Джеко Майн не позволяют проводить рентабельную добычу 1000 тонн меди в год из 3,8 млн. т рядовой руды, содержащей 0,9% меди, ни методом бактериального выщелачивания на месте залегания, ни традиционными способами добычи с последующим обогащением. Чтобы процесс бактериального выщелачивания был рентабельным, необходимо понизить эксплуатационные расходы на 87% и увеличить цену меди до 9,22 долларов за килограмм.

Подробный анализ эффективности показывает, что экономическая рентабельность процесса определяется стоимостью его разработки, и что эта стои-

мость во многом зависит от стоимости дробления породы. Поэтому необходимо при технико-экономическом обосновании каждого процесса бактериального выщелачивания на месте залегания уделять особое внимание стоимости подготовительных работ, особенно стоимости буровзрывных работ.

Таблица 5.22
Расходы на эксплуатацию объекта подземного
бактериального выщелачивания (цент/кг меди)

Выщелачивание		Цементация	
Статья расходов	Цементация	Статья расходов	Цементация
Заработная плата	4,51	Заработная плата	17,95
Реагенты	4,82	Реагенты	44,99
Транспортные расходы	0,55	Транспортные расходы	6,18
Энергия	16,70	Энергия	1,50
Захоронение отходов	1,30		
	27,90	Управление процессом	79,62
			5,84
			85,4

Стоимость реагентов		Другие расходы	
	долл/т		
Серная кислота	50	Электричество	4 центкWh
Известь	80	Удаление отходов	3 долл/т
Железный скрап	180	Рабочая сила	45 000 долл/год

ЛИТЕРАТУРА

1. А.С. 541850 (СССР). Авт. изобрет. Завьялов И.М., Лотош В.Е., Харатиди Г.П., Халезов Б.Д., Токмин Б.М. — Заявл. 20.11.1975 № 2191991, опубл. Б.И., 1977, № 1. М. кл.² С 22 В 1/44, УДК 669, 331; 622.788 (088.8).
2. А.С. 826607 (СССР). Авт. изобрет. Халезов Б.Д., Земеров В.И., Неживых Б.А., Быков Н.А. — Заявл. 06.02.1978, № 2577332, М. кл.³ В 03 Д 1/00, С 22 В 19/00 УДК 546.36 (088.8).
3. А.С. 924355 (СССР). Авт. изобрет. Халезов Б.Д., Токмин Б.М., Поплаухин А.С., Рыбаков Ю.С. — Заявл. 21.10.1980, № 2995568, опубл. Б.И., 1982, № 16. М. кл.³ Е 21 В 43/28, С 02 Г 5/02, УДК 622.234.4 (088.8).
4. Илялетдинов А.Н., Алтаев Ш.А., Скрипченко Л.Н., Доклады III Всесоюзной конференции по геотехнологическим методам добычи полезных ископаемых. М., 1983, 142.
5. Каравайко Г.И., Абакумов В.В., Крашенинникова С.А., Михайлова Т.Л., Пискунов В.П., Халезов Б.Д., Прикладная биохимия и микробиология, 1981, 17, № 1, 73.
6. Каравайко Г.И., Халезов Б.Д., Абакумов В.В., Головачева Р.С., Коваленко Т.В., Тискунов В.П., Скрипченко Л.Н., Микробиология, 1984, 53, № 2, 329.

7. Михайлова Т.Л., Токмин Б.М., Халезов Б.Д., Поплаухин А.С., Городецкий М.И., Цветные металлы, 1981, № 3, 41.
8. Токмин Б.М., Халезов Б.Д., Болтырева А.А., Проблемы геотехнологии. Тезисы докладов III Всесоюзной конференции по геотехнологическим методам добычи полезных ископаемых. Черкассы, 1983, 115.
9. Токмин Б.М., Халезов Б.Д., Долженко А.А., Цветная металлургия, 1977, № 7, 43.
10. Халезов Б.Д. В сб.: Биогетехнология металлов, Г.И. Каравайко и С.Н. Грудев (ред.). Центр международных проектов ГКНТ, М., 1985, 295.
11. Халезов Б.Д., Неживых В.А., Рыбаков Ю.С., Павличенко Г.А., Комплексное использование минерального сырья. Наука, КазССР, Алма-Ата, 1984, № 9, 47.
12. Халезов Б.Д., Токмин Б.М., Быков Н.А., Цветная металлургия, 1973, № 12, 47.
13. Халезов Б.Д., Токмин Б.М., Быков Н.А., Червинский В.В., Цветная металлургия, 1976, № 5, 33.
14. Шурыгин Ю.А., Халезов Б.Д., Хрусталева Л.З., Семенов Г.П., Цветная металлургия, 1974, № 11, 50.
15. Andersen, J.E., and Allman, M.B., Proc. Aust. Inst. Metall., 1968, 27, 225.
16. Andersen J.E., Herwig, G.L., and Moffit, R.B., Australian Mining, 1966, 35.
17. Argall, G.O., Jr., Mining World, 25, No. 12, 20.
18. Auck, Y.T., and Wadsworth, M.E., In: Proc. Int. Symposium on Hydrometallurgy, D.J.I., Evans, and R.S. Schoemaker (Eds.) A.I.M.E., New York, 1973, 645.
19. Audibert, P., Metodi di coltivazione nelle miniere metallifere, L'Industria Mineraria, Roma, 1965, 124.
20. Baron G., Gay, L., et Le Tirant, P., In: Proc. 7th World Petroleum Congress, Mexico, 1967, 3, 371.
21. Barton, H., Lien, R., and Lunde, J., Rock Mechanics, 1974, 6, No. 4, 189.
22. Bateman, A.M., Economic Mineral Deposits, 3rd ed., J. Wiley & Sons, New York, 1952, 97.
23. Beal, J.V., Min. Engng. 1965, 17, No. 10, 77.
24. Beck, J.V., Biotechnol. Bioeng., 1967, 9, 489.
25. Bhappu, R.B., and Fletcher, J.B., In: Recent advances in mining and processing of low-grade and submarginal mineral deposits, Pergamon Press Inc., New York, 1976, 24.
26. Bhappu, R.B., Johnson, P.H., Brierley, J.A., and Reynolds, D.H., Trans. A.I.M.E., 1969, 244, 307.
27. Bieniawski, Z.T., Applications of rock classifications in geological engineering, Engineering Foundation Conference, Santa Barbara, January 3 to 8, 1982.
28. Bieniawski, Z.T., In: Proc. 4th Int. Congress Rock Mechanics, ISRM, Montreux, 1979, 2, 51.
29. Bond, F.C., Trans. A.I.M.E., 1952, 193, 484.
30. Bosecker, K., Torma, A.E., and Brierley, J.A., Eur.J.Appl. Microbiol. Biotechnol., 1979, 7, 85.
31. Boutonnet, G., and Henry, J., World Mining, 1981, 34, No. 5, 50.
32. Braun, R.L., Lewis, A.E., and Wadsworth, M.E., Met. Trans, 1974, 5, 1717.
33. Braun, R.L., and Mallon, R.G., Trans. A.I.M.E., 1975, 258, 103.
34. Brierley, J.A., Appl. Env. Microbiol., 1978, 523.
35. Brierley, J.A., and Brierley, C.L., In: Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena, L.A. Murr, A.E. Torma, and J.A. Brierley (Eds.) Academic Press, New York, 1979, Chap. 25.
36. Brierley, C.L., Brierley, J.A., and Murr, L.E., Research/Development, 1973, 24.
37. Brierley, J.A., and Le Roux, N.W., In: Conference Bacterial Leaching, W. Schwartz (Ed.) Verlag-Chemie, Weinheim - New York, 1977, 55.
38. Brierley, J.A., and Lookwood, S.J., FEMS Microbiol. Letters, 1977, 2, 163.
39. Brimhall, D.B., and Wadsworth, M.E., Trans. A.I.M.E., 1973, 254, 68.
40. Bruynesteyn, A., In: Biogotechnology of Metals, G.I. Karavaiko, and S.N. Groudev (Eds.). Centre for International Projects GKNT, Moscow, 1985, 315.
41. Bruynesteyn, A., and Duncan, D.W., In: Means of Exploiting Low Grade Ores, United Nations Headquarters, New York, April 3 to 7, 1972.

42. Bruynesteyn, A., and Duncan, D.W., Construction and operation of a series of biological test dumps, presented at the A.I.M.E. 101st Annual Meeting, San. Francisco, February 20 to 24, 1972.
43. Bryner, L.C., Walker, R.B., and Palmer, R., Trans. A.I.M.E. 1967, 238, 56.
44. Burger, J.R., Eng. Min. J., 1981, 182, 54.
45. Burger, J.R., SMP Sociedad Minera Pudahuel produces low-cost copper at Lo Aguirre, E. & M.J., 1985, 44.
46. Burton, C., Cowman, S., Heffernan, J., and Thorpe, B., In: Recent Progress in Biohydrometallurgy, G. Rossi, and A.E. Torma (Eds.), A.M.S. Iglesias, Italy, 1983, 213.
47. Butler, J.E., Ackland, M.C., and Robinson, P.C., In: Interfacing Technologies in Solution Mining, W.J. Schlitt (Ed.), J.B. Hiskey (Ass. Ed.), A.I.M.E., New York, 1982, Chap. 22.
48. Campbell, M.C., Reese, D.A., Marchbank, A., McCready, R.G.L., and Ferroni, G., Proc. IAEA Meeting, Vienna, November 25, 1985.
49. Canadian Industries Ltd., Division de Explosifs, Manual des Explosifs, Montreal, Quebec, 1971.
50. Carta, M., Rossi, G., and Trois, P., In: Proc. 12th World Mining Congress, New Delhi, November 19 to 21, 1984.
51. Cathles, L.M., Math. Geol., 1979, 11, No. 2, 175.
52. Cathles, L.M., and Apps, J.A., Met. Trans., 1975, 68, 617.
53. Cathles, L.M., Reese, D.A., and Murr, L.E., In: Proc. Amer. Nucl. Soc. Topical Meeting - Energy and Mineral Resources Research, Colorado School of Mines, April 12 to 14, 1977.
54. Cathles, L.M., and Schlitt, W.J., In: Proc. Las Vegas Symp. Leaching and Recovering Copper from as-mined Materials, W.J. Schlitt (Ed.) A.I.M.E., New York, 1980, Chap. 2.
55. Chamberlain, P.G., In: In-Situ Uranium Mining and Ground Water Restoration, W.J. Schlitt, and D.A. Shock (Eds.) Society of Mining Engineers of A.I.M.E., New York, 1979, Chap. 2.
56. Cooper, J.R., and Ayala, R.F., Investigation of the result of dump leaching operations after five years, Report, 1977.
57. D'Andrea, D.V., Dick, R.A., Steckley, R.C., and Larson, W.C., In: Solution Mining Symposium, F.F. Aplan, N.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.), A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 10.
58. D'Andrea, D.V., Larson, W.C., Chamberlain, R.C., and Olson, J.J., Some considerations in the design of blasts for in-situ leaching, Monograph No. 1 on Rock Mechanics Applications in Mining. W.S. Brown, S.J. Green, and W.A. Hustrulid (Eds.), A.I.M.E., New York, 1977, Chap. 24.
59. D'Andrea, D.V., Larson, W.C., Fletcher, L.R., Chamberlain, P.G., and Engelmann, N.H., In-situ leaching research in a copper deposit at the Emerald Isle Mine, U.S. Bureau of Mines, Report of Investigation 8236, Washington, D.C., 1977.
60. Daneshy, A.A., In: Solution Mining Symposium, F.F. Aplan, W.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.), A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 2.
61. Daniel, J.A., Harries, J.R., and Ritchie, A.I.M., In: Biogeochemistry of Ancient and Modern Environments Leaching Conference, Ralph, B.J. (Ed.), Australian Academy of Science, Canberra, 1980, 62.
62. Davidson, M.S., Torma, A.E., Brierley, J.A., and Brierley, C.L., Biotech. Bioengng. Symp. No. 11, 1981, 603.
63. Deere, D.U., In: Rock Mechanics in Engineering Practice, 1st ed., K.G. Stagg, and O.C. Zinkievicz (Eds.), J. Wiley & Sons, London, 1968, Chap. 1.
64. Department of Energy, Mines and Resources, Tentative design guide for mine waste embankments in Canada, prepared for the Mines Branch Mining Research Centre, Technical Bulletin TB 145, Ottawa, Canada.
65. Domic, E., and Brimm, E.O., In: Leaching and recovering copper from as-mined materials, W.J. Schlitt (Ed.), Soc. Min. Engng., A.I.M.E., 1980, Chap. 6.
66. Domic, E., J. Metals, 48, 1984.
67. Duncan, D.W., and Bruynesteyn, A., C.I.M. Trans., 1971, 74, 116.
68. Dudas, L., Maass, H., and Bhappu, R., In: Solution Mining Symposium. F.F. Aplan, W.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.), A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 14.
69. Duncan, D.W., and Smolik, T.J., E & M.J., 1977, 178, No. 7, 65.
70. Editorial Staff, Engng. Min. J., 1967, 168, No. 10, 75.

71. Ehrlich, H.L., and Fox, S.I., *Biotechnol. Bioeng.*, 1967, 9, 471.
72. Erickson, J.W., *Min. Engng.*, 1978, 30, 1532.
73. Farmer, I., *Engineering Behaviour of Rocks*, 2nd ed., Chapman & Hall, London, 1983, 20.
74. Fazio, M., *Manuale delle Unità di Misura*, ISEDI, Milano, 1976.
75. Fisher, J.R., *Can. Min. Metall. Bull.*, 1966, 588.
76. Fletcher, J.B., *Trans. A.I.M.E.*, 1971, 250, 310.
77. Flett, D.S., and Derry, R., In: *Workshop on Mineral Leaching Procs.*, M. Donato (Ed.), Commission of European Communities, Brussels, 1984, 43.
78. Fragmentation, Section 11, and Underground Mining Systems and Equipment, Section 12, In: *SME - Mining Engineering Handbook*, Vol. 1, A.B. Cummins, and I.A. Given (Eds.), Society of Mining Engineers of A.I.M.E., New York, 1973.
79. Gerbella, L., *L'Ingegnere*, 1940, 15, 281.
80. Golovacheva, R.S., and Karavaiko, G.I., In: *Microbial Growth on C-compounds (abstracts)*, USSR Academy of Sciences, Puschino, 1977, 108.
81. Goodman, R.E., *Introduction to Rock Mechanics*, J. Wiley & Sons, New York, 1980, 24.
82. Goodman, A.E., Khalid, A.M., and Ralph, B.J., *Microbial ecology of Rum Jungle. Part 1. Environmental Study of Sulfidic overburden Dumps, Experimental Heap-Leach Piles and Tailing Dam Area*, Australian Atomic Energy Commission Research Establishment, Lucas Heights Research Laboratories, December, 1981.
83. Grimes, M.E., In: *Solution Mining Symposium*, F.F. Aplan, W.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.), A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 23.
84. Grote, W., Gutierrez, N., Lim, C., Low, K., Madgwick, J., Peddie, F., and Rajoka, M.I., *Proc. Australas. Inst. Min. Metall.*, 1981, No. 278, 39.
85. Groudev, S.N., Genchev, F.N., and Gaidarjiev, S.S., In: *Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*, L.A. Murr, A.E. Torma, and J.A. Brierley (Eds.), Academic Press, New York, 1978, Chap. 25.
86. Halls, J.L., Bellum, D.P., and Lewis, C.K., *Trans. Intn. Min. Metall. (Sect. A Min. Industry)*, 1969, 78, 20.
87. Hansen, S.N., and Jager, A.R., *Engng. Min. J.*, 1968, 169, 75.
88. Harries, J.R., and Ritchie, A.I.M., In: 1984 Symp. on Surface Mining, Hydrology, Sedimentology and Reclamation, University of Kentucky, Lexington, December 2 to 7, 1984, 463.
89. Harries, J.R., and Ritchie, A.I.M., *Water, Air and Soil Pollution*, 1981, 15, 405.
90. Harris, J.A., *Proc. Aust. Inst. Min. Met.*, 1969, 230, 81.
91. Hoppe, R., *Engng. Min. J.*, 1976, 177, No. 1, 92.
92. Howard, E.V., *Min. Eng.*, 1968, 20, 70.
93. Hudson, A.W., and Van Arsdale, G.D., *Trans. A.I.M.E.*, 1923, 69, 137.
94. Huff, R.V., Davidson, D.H., Baugham, D., and Axen, S., *Min. Engng.*, 1980, 32, 162.
95. Huffman, R.E., and Davidson, N., *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, 78, 4836.
96. Ismay, A., Rosato, L., and McKinnon, D., In: *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*, R.W. Lawrence, R.M.R. Branion, and H.G. Ebner (Eds.), Elsevier, Amsterdam, 1986, in press.
97. Jackson, J.S., and Ream, B.P., In: *Leaching and recovering copper from as-mined materials*, W.J. Schlitt (Ed.), A.I.M.E., Ann Arbor, 1980, Chap. 7.
98. Jaeger, J.C., and Cook, N.G.W., *Fundamentals of Rock Mechanics*, Chapman & Hall Ltd., London, 1969.
99. Jennings, P.H., Tarasoff, P., and Ford, R.E., *Trans. A.I.M.E.*, 1973, 254, 80.
100. Johnson, P.H., and Bhappu, R.B., In: *A.I.M.E. Annual Meeting*, Denver, February 15 to 19, 1970, Preprint No. 70-B-70.
101. Kappes, D.W., *Min. Engng.*, 1979, 31, No. 2, 136.
102. Karavaiko, G.I., Kuznetsov, S.I., and Golomzik A.I., *The bacterial leaching of metals from ores*, Technicopy Ltd., Stonehouse, 1977, 122.
103. Knissel, W., *Nobel Hefte*, 46, April-September, 1980.
104. Kristal, F.A., and Annett, F.S., *Pumps*, McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, 1953, Chap. 13.
105. Lang, L.C., and Morrey, W.B., *Eng. Min. J.*, 1976, 177, 100.
106. Langefors, U., and Kihlström, B., *The Modern Technique of Rock Blasting*, Almqvist & Wiksel, Stockholm, 1963.
107. Lauffer, H., *Geologic Bauwesen*, 1958, 24, 46.
108. Leathen, W.W., McIntyre, S.A., and Braley, S.A., *Science*, 1951, 114, 280.
109. Lerche, E., and Steppke, H.D., *Erzmetall*, 1983, 36, 539.
110. Le Tirant, P., *Revue de l'Industrie Minérale*, Cahier 3 du C.F.M.R., Journées 1970 du Comité français de mécanique des roches, Discussion, 1971, 5.2, 242.
111. Le Tirant, P., et Gay, L., *Manuel de fracturation hydraulique* Edition Technip, Paris, 1972.
112. Lewis, A.E., and Braun, R.L., *Trans. A.I.M.E.*, 1973, 254, 217.
113. Lewis, A.E., Braun, R.L., Sisemore, C.J., and Mallon, R.G., In: *Solution Mining Symposium*, F.F. Aplan, W.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.), A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 5.
114. Livesey-Goldblat, E., Tunley, T.H., and Nagy, I.F., In: *Conference Bacterial Leaching*, W. Schwartz (Ed.), Verlag-Chemie, Weinheim - New York, 1977, 175.
115. Longwell, R.L., In: *Solution Mining Symposium*, F.F. Aplan, W.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.), A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 16.
116. Louis, C., *Annales: sols et fondations*, 1974, 108, 97.
117. Lundgren, D.G., and Silver, M., *Ann. Rev. Microbiol.*, 1980, 34, 263.
118. Madsen, B.W., Wadsworth, M.E., and Groves, R.D., *Trans. A.I.M.E.*, 1975, 258, 69.
119. Malouf, E.E., In: *SME Mining Engineering Handbook*, Vol. 2, A.B. Cummins, Chairman, Editorial Board, and I.A. Given (Ed.), Society of Mining Engineers of A.I.M.E., New York, 1973, 21.8.
120. Malouf, E.E., and Prater, J.D., *J. Metals*, 1961, 13, 353.
121. Mars, L.F., *Min. Congr. J.*, 1970, 36.
122. McCready, R.G.L., Wadden, D., and Marchbank, A., *Nutrient requirements for the in-place leaching of uranium by Thiobacillus ferrooxidans*, Hydrometallurgy, in press.
123. McGregor, R.A., *Bacterial leaching of radioactive conglomerates*, S.M.E./A.I.M.E., Preprint No. 69-As-27, 1969.
124. McGregor, R.A., *Can. Min. Met. Bull.*, 1966, 59, 583.
125. McGregor, R.A., *Min. Eng.*, 1969, 21, 54.
126. Mroost, M., and Lloyd, P.J., In: *Proc. Symp. Recovery of Uranium from its Ores and other Sources*, I.A.E.A., Vienna, 1971, 223.
127. Murr, L.E., and Brierley, J.A., In: *Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*, L.A. Murr, A.E. Torma, and J.A. Brierley (Eds.), Academic Press, New York, 1979, Chap. 26.
128. Musio, E., *L'Industria Mineraria*, 1981, 1.
129. Moss, F.J., and Andersen, J.E., *Proc. Aust. Inst. Min. Met.*, 1968, No. 225, 15.
130. Murr, L.E., Cathles, L.W., Reese, D.A., Hiskey, J.B., Popp, C.J., Brierley, J.A., Bloss, D., Barry, V.K., Schlitt, S.J., and Hsu, P.C., *In-Situ*, 1977, 1 (3), 209.
131. Naismith, N.W., and Kirchner, W.G., In: *Biogeochemistry of Ancient and Modern Environments*, B.J. Ralph (Ed.) Australian Academy of Science, Canberra, 1980, 545.
132. O'Rourke, J.E., Randall, J.E., and Ranson, B.K., *Woodward-Clyde Consultants (San Francisco) Report 13719 (A final report of Bureau of Mines Contract JO265045)*, August 1977, 180 p. Available from National Technical Information Service, Springfield, Va; as report PB272452/AS.
133. Pana, M.T., and Davey, R.K., In: *SME Mining Engineering Handbook*, Vol. 2, A.B. Cummins, Chairman, Editorial Board, and I.A. Given (Ed.), Soc. Min. Engns., A.I.M.E., New York, 1973, 17, 2.2.
134. Pokrovsky, N.M., *Driving Horizontal Working and Tunnels*, MIR Publishers, Moscow, 1977.
135. Potter, G.M., *Min. Engng.*, 1981, 33, No. 3, 277.
136. Protodyakonov, N.M., *Rock Mechanics*, Pergamon Press, New York, 1963, 103.
137. Puhakka, I., Tuovinen, O.N., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1986, 24, 144.
138. Rabb, D.D., *Survey of Industry practice for in-situ leaching of copper ores*, University of California, Lawrence Radiation Laboratory, Livermore, California, UCID 5052.
139. Razzell, W.E., and Trussel, P.C., *J. Bacteriol.*, 1963, 85, 595.
140. Ritchie, A.I.M., *Heap leaching: a gas diffusion rate-limited model*, Australian Atomic Energy Commission Research Establishment, Lucas Heights, Report No. AAEC/E429, November, 1977, 15.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВЫЩЕЛАЧИВАНИИ НЕСУЛЬФИДНЫХ МАТЕРИАЛОВ

141. Robinson, J.W., Trans. A.I.M.E., 1973, 254, 64.
142. Rossi, G., Trois, P., and Visca, P., In: Fundamental and Applied Biohydrometallurgy, R.W. Lawrence, R.M.R. Branion, and H. Ebner (Eds.), Elsevier, Amsterdam, 1986, 173.
143. Roman, R.J., Trans. A.I.M.E., 1977, 262, 73.
144. Rouse, J.V., In: Solution Mining Symposium, F.F. Aplan, W.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.), A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 1.
145. Rzhetsky, V., and Novik, G., The Physics of Rocks, MIR Publishers, Moscow, 1971, 93.
146. Staff — U.S. Bureau of Mines, In-situ mining research, Proc. Bureau of Mines Technology Transfer Seminar, Denver, August 5, 1981, Information Circular 8852.
147. Staff Writer, Eng. Min. J., 1978, 179, 158.
148. Staff Writer, Engng. Min. J., 1972, 173, No. 4, 98.
149. Staff Writer, Eng. Min. J., 1979, 184, 52.
150. Staff Writer, World Mining, 1981, 34, 90.
151. Selim, A.A., and Yardley, D., The design and cost of a fragmentation system for in-situ extraction of copper, 14th APCOM Symposium, 1972, 792.
152. Sheffer, W., and Evans, L.G., Copper leaching practices in the Western United States, U.S. Bureau of Mines, Information Circular 8341, Washington, D.C., 1968.
153. Shoemaker, R.S., and Darrah, R.M., Min. Engng., 1968, 76, 68.
154. Silverman, M.P., and Lundgren, D.G., J. Bacteriol., 1959, 77, 642.
155. Singer, P.C., and Stumm, W., Science, 1970, 167, 1121.
156. Singh, A.K., Torma, A.E., and Rossi, G., Optimization of zink extraction from sphalerite by Thiobacillus ferrooxidans, Resoconti Associazione Mineraria Sarda, Iglesias, 1982, No. 1, 87.
157. Spedden, H.R., Malouf, E.E., and Davis, T., In-situ leaching of copper pilot plant test, S.M.E./A.I.M.E. Preprint No. 71-AS-113, 1971.
158. Stepanov, B.A., Ivanov, V.I., Golomzik, A.I., and Nagurniak F.I., Fiziko-Technicheskie Problemy Razrabotki Poleznykh Iskopaemykh, 1965, 118 (in Russian).
159. Stirkov, P., Semkov, N., Nesterova, P., Merazchiev, G., Mikhailov, M., and Popov, P., In: Proc. XI Int. Min. Proc. Congr., Instituto di Arte Mineraria e Preparazione dei Minerali, Cagliari, 1975, 925.
160. Stroganov, G.A., et al., World Mining, 1979, 34, No. 5, 99.
161. Takamura, Y., Kurihara, K., Oniki, H., and Watanabe, E., Recent research activities and applications of bacterial leaching in Japan, Preprint No. TIVa2, Joining Meeting M.M.I.J.-A.I.M.E., Tokyo, May 24 to 27, 1972.
162. Taylor, J.H., and Whelan, P.F., Trans. Instn. Min. Metall., 1943, 52, 35.
163. Trivedi, N.C., and Tsuchiya, H.M., Int. J. Min. Process, 1975, 2, 1.
164. Trussell, P.C., Duncan, D.W., and Walden, C.C., Can. Min. J., 1974, 46.
165. Tsuchiya, H.M., Trivedi, N.C., and Schuler, M.L., Biotechnol. Bioeng., 1974, 16, 991.
166. The International System of Units (SI), U.S. Dept. of Commerce/National Bureau of Standards, NBS, Special Publication 330, 1974 ed., Washington, D.C.
167. Thomas, L.J., An Introduction to Mining, Hicks, Smith & Sons, Sydney, 1973, 5.
168. Thorne, B., In: Workshop on Minerals Leaching, Proc., M. Donato (Ed.), Commission of the European Communities, Brussels, 1984, 64.
169. Tuovinen, O.H., Silver, M., Martin, P.A.W., and Dugan, P., In: Proc. Int. Conf. on Use of Microorganisms in Hydrometallurgy, Hungarian Academy of Sciences, Pécs, Hungary, December 4 to 6, 1980, 59.
170. Van Arsdale, G.D., Hydrometallurgy of base metals, McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, 1963.
171. Vickers, E.L., Min. Engng., 1961, 13, 578.
172. Wadsworth, M.E., Min. Engng., 1977, 29, No. 12, 30.
173. Ward, M.H., In: Solution Mining Symposium, F.F. Aplan, W.A. McKinney, and A.D. Pernicelle (Eds.) A.I.M.E., New York, 1974, Chap. 17.
174. Wenberg, G.M., Erbsch, F.M., and Volin, M.E. Trans. A.I.M.E., 1971, 250, 207.
175. White, L., E & M. J., 1977, 178, No. 7, 70.
176. Wickham, G.E., Tiedemann, H.R., and Skinner, E.H., In: Proc. North American Rapid Excavation and Tunneling Conf., K.S. Lane, and L.A. Garfield (Eds.) Soc. Min. Engrs., A.I.M.E., New York, 1972, No. 1, 43.
177. Woodcock, J.T., Proc. Aust. Inst. Min. Met., 1967, 224, 47.

6.1. ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ И ОБОГАЩЕНИЕ МАРГАНЦЕВЫХ РУД

При переработке марганцевых руд микроорганизмы могут быть использованы для восстановления Mn^{4+} в Mn^{2+} и выщелачивания его, для растворения карбонатов марганца, а также для снижения в рудах содержания кремния и фосфора. В этих случаях качество руд может быть значительно повышено.

6.1.1. Характеристика минералов марганца

В природе марганец существует в качестве основного или сопутствующего элемента в более чем ста минералах. Основные запасы на настоящее время существуют в виде окислов, карбонатов или силикатов. Важнейшими окислами являются: псиломелан ($mMnO \cdot nMnO_2 \cdot pH_2O$), бирнесит (δMnO_2), пиролюзит (βMnO_2), манганит ($Mn_2O_3 \cdot H_2O$ или $MnOOH$), торокит [$(Mn^{2+} Mg^{2+}, Ba^{2+}, Ca^{2+}, K^+, Na^+)_2 Mn_5^{4+} O_{12} \cdot 3H_2O$], гаусманит (Mn_3O_4), и браунит ($Mn^{2+} Mn^{4+} O_3$). Среди карбонатов важнейшим является родохрозит, а из силикатов — родонит. Эти минералы являются или вторичными минералами, возникшими в результате разрушения первичных минералов вулканического происхождения, или аутигенными минералами, возникшими в результате выпадения в осадок растворенного марганца. Марганец является промышленно-важным элементом.

Этот элемент встречается в различных валентных состояниях: 0, +2, +3, +4, +6, и +7, однако в природе он чаще всего встречается в состояниях окисления +2 и +4. Mn^{+2} устойчив при $pH < 5,5$, а Mn^{+4} — при $pH > 5,5$, если Eh примерно 0,8 В. При Eh меньше 0,5 В преобладает форма Mn^{+2} при pH от 7,8 до 8,0. Если pH более 8,0 в аэробных условиях происходит его окисление [18].

Пиролюзит (MnO_2) представляет основную массу марганцев — содержащих руд и является наиболее устойчивым из описанных соединений марганца.

Некоторые уравнения реакций, показывающие взаимодействие ионов марганца и пиролюзита, показаны в табл. 6.1.

Устойчивость ионов марганца в водных растворах и приблизительные положения некоторых природных сред в координатах $Eh - pH$ показаны на рис. 6.1.

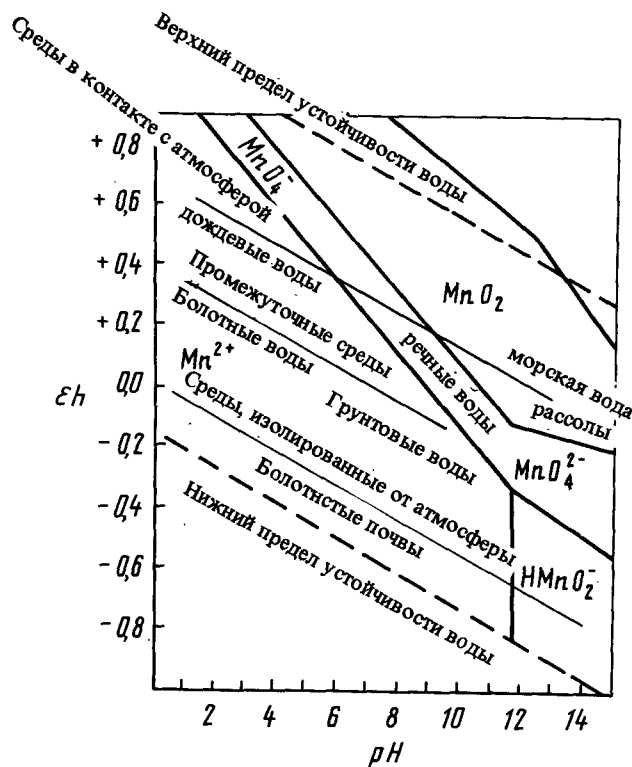


Рис. 6.1. Диаграмма устойчивости ионов марганца и пиролюзита в природных средах

Таблица 6.1

Реакции и уравнения, отражающие соотношения активностей ионов марганца и пиролюзита

Реакции	Уравнения
1. $\text{HMnO}_2^- + 3\text{H}^+ = \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{pH} = 11,4$
2. $\text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O} = \text{MnO}_4^{2-} + 8\text{H}^+ + 4\text{e}^-$	$\text{Eh} = 1,15 - 0,118 \text{ pH}$
3. $\text{HMnO}_2^- + 2\text{H}_2\text{O} = \text{MnO}_4^{2-} + 5\text{H}^+ + 4\text{e}^-$	$\text{Eh} = 0,65 - 0,074 \text{ pH}$
4. $\text{MnO}_4^{2-} = \text{MnO}_4^- + \text{e}^-$	$\text{Eh} = 0,56$
5. $\text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O} = \text{MnO}_2 + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^-$	$\text{Eh} = 1,22 - 0,028 \lg [\text{Mn}^{2+}] - 0,118 \text{ pH}$
6. $\text{HMnO}_2^- = \text{MnO}_2 + \text{H}^+ + 2\text{e}^-$	$\text{Eh} = 0,203 - 0,028 \lg [\text{HMnO}_2^-] - 0,028 \text{ pH}$
7. $\text{MnO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} = \text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^-$	$\text{Eh} = 1,695 - 0,019 \lg [\text{MnO}_4^-] - 0,078 \text{ pH}$
8. $\text{MnO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} = \text{MnO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^-$	$\text{Eh} = 2,26 - 0,028 \lg [\text{MnO}_4^{2-}] - 0,118 \text{ pH}$

Как видно из диаграммы (рис. 6.1) ион Mn^{2+} занимает значительную область устойчивости и может встречаться в кислых, нейтральных и щелочных средах, однако, согласно уравнению 2, с увеличением окислительно-восстановительного потенциала область его устойчивости смещается в сторону низких величин pH. Ион HMnO_2^- — устойчив только в области резко щелочных растворов с очень низким значением Eh. Ион MnO_4^{2-} имеет значительное поле устойчивости от щелочных до нейтральных и даже слабокислых растворов. При величинах Eh выше +0,56В все ионы марганца переходят в форму MnO_4^- . Ион Mn^{2+} оказывается метастабилен в области значений Eh и pH, характерных для природных вод, и не имеет собственного поля устойчивости.

Диаграмму устойчивости ионов марганца можно совместить с диаграммой, показывающей примерное положение некоторых природных сред в координатах Eh — pH. Из рис. 6.1 видно, что ионы Mn^{2+} могут встречаться только в водах частично или полностью изолированных от атмосферы. В области высоких значений Eh — это рудничные воды, в области низких и отрицательных значений Eh — болотные и грунтовые воды.

В хорошо аэрируемых водах относительно устойчивыми могут быть только ионы MnO_4^- или MnO_4^{2-} в зависимости от Eh и pH. По данным Гаррелс и Крайста [3], оба этих иона неустойчивы в отношении воды и постепенно переходят в MnO_2 . Очевидно, что интересующий нас минерал устойчив только в условиях хорошо аэрируемых поверхностных вод. При снижении окислительно-восстановительного потенциала и увеличении концентрации ионов водорода в водной среде пиролюзит становится термодинамически неустойчивым и разрушается с выделением ионов Mn^{2+} .

6.1.2. Выщелачивание марганца

Гетеротрофные бактерии. В Горном бюро США [26, 29] в опытах использовали навеску марганцевой руды 500 г, содержащую 4% марганца в виде окислов. Руду помещали в двухлитровую бутылку, затем добавляли 1 л воды и небольшое количество органического материала (листья, дрожжи, навоз, почва и т. п.), содержащего различные микроорганизмы. В качестве контроля служили такие же колбы с рудой, но без бактерий. Через 90 дней в бутылки с микроорганизмами раствор содержал 5 г/л Mn, а в контроле марганец не был обнаружен. В опытах использовали также бедную марганцевую руду месторождений Боулдер Сити, штат Невада (3% Mn) и Куяна Рейндж (5% Mn). 100 г руды заливали 1 л воды и добавляли 4 культуры микроорганизмов и 8 г питательного субстрата (экстракт из говядины и пептон). Культуры микроорганизмов были выделены из марганцевой руды и отвалов, содержащих отходы добывающей фабрики. По мере выщелачивания марганца раствор периодически частично меняли с таким расчетом, чтобы концентрация марганца не превышала 3 г/л. pH среды 5–6 поддерживали добавлением ледяной уксусной кислоты. Опыты проводили при температуре 21–29°C. За 60 дней из руды было выщелочено в среднем 97,5% марганца. В варианте опыта без бактерий были обнаружены только следы марганца.

Из раствора марганец выделяли путем осаждения его при подщелачивании среды до pH выше 7,0. Используемые микроорганизмы выщелачивали также и железо. Так, в осадке, полученном из раствора после выщелачивания руды месторождения Куяна Рейндж, содержалось 39% марганца и 12,4% железа, а после выщелачивания руды месторождения Боулдер Сити, соответственно, 33,8 и 2,5%.

В Индии, используя культуры *Pseudomonas* sp. и *Bacillus* sp., проводили выщелачивание в колбах, колоннах и чанах из руд, содержащих 44% Mn [12]. Растворенный марганец осаждали добавлением извести. За 90 дней из марганцевой руды было извлечено около 90% Mn [16].

В СССР Гвилава для выщелачивания марганца из отходов, содержащих 12–14% Mn^{2+} , использовала гетеротрофные бактерии *Aeromonas* sp. и *Pseudomonas* sp., адаптированные к условиям процесса. Опыты проводили на жидкой среде при Т:Ж = 1:20, pH 7,45, крупности частиц – 0,15 мм, активной аэрации и содержании клеток бактерий 10^8 – 10^9 в 1 мл. Извлечение марганца за 12 суток достигало 90–96%.

Автотрофные бактерии. Другой способ выщелачивания марганца из руд с использованием *T. thiooxidans* предложен в Японии [24, 27, 28]. Бактерии предварительно выращивали в среде, содержащей серу. После накопления серной кислоты в количестве 1,5–1,7 г/л к среде добавляли измельченную марганцевую руду вместе с сульфидами железа, цинка и др., газообразный сероводород или сернистый газ. Добавление сфалерита (ZnS) увеличивало скорость выщелачивания марганца почти в 20 раз, пирита – в 10 раз и ковеллина – в 5 раз.

Слабые растворы серной кислоты почти не растворяли MnO_2 . *T. thiooxidans* сам по себе также малоэффективен в выщелачивании марганца. Добавление сероводорода к среде значительно увеличивало скорость выщелачивания марганца и способствовало развитию *T. thiooxidans*.

Следующий способ выщелачивания марганца основан на переводе MnO_2 в дитионат марганца (MnS_2O_6) при добавлении сернистого газа. Этот процесс легко идет химически. Дитионат марганца сравнительно устойчив к химическому окислению. Однако в присутствии *T. thiooxidans* MnS_2O_6 легко окисляется в $MnSO_4$. Так, при добавлении *T. thiooxidans* в раствор с pH 3–4 при 30°C и перемешивании, за одни сутки большая часть MnS_2O_6 была превращена в $MnSO_4$. Опыт ставили так. Навеску измельченной руды в 50 г, содержащей MnO_2 (22%) и 200 мл воды, помещали в камеру, через которую в течение 20 мин со дна продували сернистый газ (100-процентной концентрации) со скоростью 300 мл/мин. При этом двуокись марганца почти полностью была переведена в дитионат марганца. В другом сосуде выращивали *T. thiooxidans* в течение 3-х дней при 30°C и перемешивали. Затем 100 мл раствора, отделенного от твердой фазы и содержащего дитионат марганца, нейтрализовали Na_2CO_3 до pH 4,0 и разбавляли водой до объема 200 мл. К этому раствору добавляли 70 мл культуры *T. thiooxidans* и аэрировали в течение 20 мин при 30°C. MnS_2O_6 на 97% был превращен в $MnSO_4$.

6.1.3. Технологические аспекты выщелачивания марганца

Ниже приводится описание методов кучного и чанового выщелачивания марганца.

Кучное выщелачивание

В лабораторных условиях выщелачивание марганца целесообразно осуществлять в прозрачных колоннах из органического материала, устойчивого к коррозии. Высота колонн должна обеспечивать возможность полного потребления питательных веществ сорбированными на руде микроорганизмами при условии низконапорной фильтрации питательной среды. Диаметр колонн должен быть достаточным для устранения пристеночного эффекта, ввода шпателей для взятия проб и т. д. Схема лабораторной установки приведена на рис. 6.2.

Так как штаммы после обогащения представляют собой смесь частиц различной крупности, то их фильтрационная способность подчиняется закону Дарси и зависит от эффективного диаметра частиц. Подаваемая в толщу шламов питательная среда фильтруется между зернами. Соотношение ско-

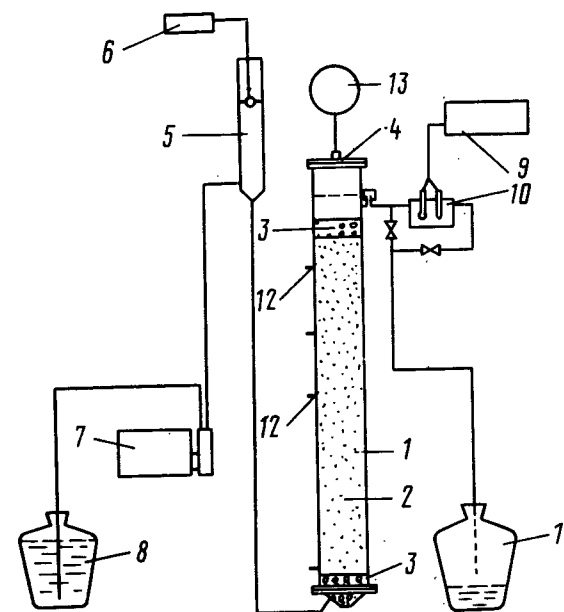


Рис. 6.2. Схема лабораторной установки кучного выщелачивания марганца: 1 — колонна из оргстекла; 2 — хвосты обогащения марганцевой руды; 3 — песчано-гравийный фильтр; 4 — штуцер для отвода газа; 5 — регулятор напора; 6 — автоматический регулятор; 7 — насос; 8 — емкость с питательной средой; 9 — pH-метр; 10 — камера с электродами pH-метра; 11 — приемная емкость для фильтрата; 12 — шпатель для отбора проб; 13 — газовый счетчик

рости фильтрования питательной среды и толщины слоя шлама в колоннах должно быть таковым, чтобы вынос питательных веществ был минимальным (порядка 0,02% редуцирующих веществ (РВ)). При этом в шламе будут происходить параллельно следующие основные процессы:

- потребление питательных веществ;
- восстановление окислов и гидроокислов марганца.

По экспериментальным данным потребление питательных веществ происходит линейно по высоте и зависит от активности культуры бактерий. Высота, на которую проникают питательные вещества в достаточных количествах, зависит также от гидравлического режима и их концентрации. Окисление питательных веществ, сопровождающееся образованием органических кислот, зависит от высоты столба руды в колонне. Резкое снижение содержания глюкозы происходило до высоты колонны 0,5 м. Однако более высокая концентрация растворенного марганца в фильтрате наблюдалась в колонне от 0,5 до 1,4 м. Это можно объяснить как образованием более активных восстановителей на этом участке, так и более благоприятными окислительно-восстановительными условиями.

Выше по колонне происходило уменьшение концентрации марганца в растворе. Вероятно, на этом участке, вследствие интенсивного выделения углекислого газа и значительной активности угольной кислоты, происходило образование карбонатов марганца и выпадение их в поровом пространстве шламов. Часть растворенного марганца сорбируется вышележащими шламами.

Увеличение концентрации растворенного марганца связано с увеличением расхода питательной среды в колонне. Однако, постоянное поддержание высокого расхода питательной среды возможно только в первые дни эксплуатации колонны. По причинам, характер которых описан ниже, фильтрационная способность шламов в колонне постоянно уменьшалась, и поэтому для поддержания высоких расходов питательной среды необходимо создавать значительные напоры. Уменьшение расхода питательной среды приводит к тому, что в верхней части колонны начинается интенсивное окисление органических кислот до углекислого газа. Сопоставление фильтрационной характеристики шламов и степени окисления углеводов показало четкую обратную зависимость между коэффициентом фильтрации и удельным выходом газа. При достаточно высокой скорости фильтрации, количество углеводов, окисленных до CO_2 , составляло 3–6%, а ухудшение режима фильтрации сопровождалось резким усилением выхода CO_2 . Количество углеводов, окисленных до CO_2 , увеличивалось при этом до 33%. Столь значительное газовыделение приводило к газовой коагуляции колонны и образованию в ней газовых разрывов. Для уменьшения влияния газовой фазы на фильтрационные свойства шламов целесообразно организовать движение питательной среды в колонне снизу вверх.

Изменение гранулометрического состава шламов наблюдается во всех случаях. Выщелачивание марганца сопровождается увеличением фракций. При этом изменяется действующий (эффективный) диаметр частиц, контролирующей фильтрационную способность материала.

Фильтрующие свойства шламов типа пылевых и среднезернистых песков

были исследованы в экспериментах с колоннами путем определения коэффициента фильтрации в динамике с последующим гранулометрическим анализом различных фракций до и после обработки микроорганизмами. Показано, что коэффициент фильтрации пылевых песков снижался быстрее*, чем коэффициент фильтрации среднезернистых песков.

Изменение коэффициента фильтрации материала является основным лимитирующим фактором применения метода кучного выщелачивания марганца. За период активной фильтрации микроорганизмы извлекают в раствор не более 25% марганца, содержащегося в исходной руде. В связи с этим использование кучного метода выщелачивания возможно только в отдельных случаях, например, для переработки очень бедных крупнозернистых руд.

Чановый способ выщелачивания

Преимущество чанового способа состоит в возможности активно регулировать массообмен питательных веществ, кислорода, различных реагентов, поддерживать заданную температуру.

Недостатками чанового способа являются трудности поддержания достаточного уровня перемешивания пульпы в емкостях большого объема, высокая абразивность пульпы и интенсивный вынос высокодисперсного материала при организации проточных систем.

В связи с наличием твердой фазы (руды) при выщелачивании марганца невозможно использовать аппараты полного вытеснения, например, коридорные аэротенки. Практически можно использовать только аппараты типа хемостатов, баки с мешалками различных конструкций или батареи хемостатов.

Активность выщелачивания марганца в условиях интенсивного перемешивания зависит от плотности пульпы, биомассы бактерий, массообмена и температуры, окислительно-восстановительного потенциала и pH среды. Ниже находится ряд примеров чанового бактериального выщелачивания марганца.

Чановое выщелачивание марганца в периодическом режиме. Цель эксперимента — определение основных параметров процесса выщелачивания, а именно: динамики выщелачивания марганца и расхода питательных веществ.

Исходные условия. Используют хвосты обогащенных марганцевых руд с содержанием марганца 9,9% и питательную среду (раствор мелассы в воде с содержанием редуцирующих сахаров 0,5% в пересчете на глюкозу). Посевной материал вносят в количестве 10% от объема пульпы. Концентрация клеток микроорганизмов в инокуляте составляет 10^8 в мл. Опыт проводили при отношении твердого к жидкому Т:Ж = 1:10 и температуре 26°C при аэробных условиях, которые создавали путем перемешивания пульпы без принудительной аэрации. Перемешивание осуществляют с

* Гранулометрический анализ показал, что эффективный диаметр шламов типа пылевых песков также уменьшается со временем.

помощью механической мешалки круглосуточно со скоростью 200–300 об/мин.

Ход эксперимента. В предварительно тарированный реактор с рабочей емкостью 180 л через люк в крышке загружают 18 кг хвостов обогащения марганцевых руд, закачивают 162 л питательной среды и добавляют 18 л инокулята. Затем осуществляют перемешивание. Отбор проб производят 2–3 раза в сутки.

Через сутки концентрация редуцирующих сахаров в культуральной жидкости обычно снижается до величины, при которой процесс выщелачивания может прекратиться. Поэтому в культуральную жидкость необходимо вводить концентрированную мелассу, чтобы повысить содержание сахаров. В табл. 6.2 приведены результаты определения концентрации марганца и редуцирующих сахаров и расчет основных параметров процесса выщелачивания.

Т а б л и ц а 6.2
Основные показатели процесса выщелачивания марганца

Продолжительность эксперимента, ч	Концентрация растворенного марганца, мг/л	Концентрация редуцирующих сахаров, %	Количество израсходованных сахаров, г/л	Скорость перехода марганца в раствор, мг/л/ч
0	30	0,50	0	
8	410	0,40	1	15,8
24	1170**	0,15; 0,5**	3,5	47,5
32	1560	0,37	4,8	48,8
48	2310	0,1	7,5	47,5
			Среднее	47,5

* Концентрация марганца, перешедшего в раствор за счет кислых продуктов мелассы.

** После ввода дополнительного количества мелассы.

Высокая скорость растворения Mn (свыше 47 мг/л/ч) поддерживалась после 24 часов, когда отношение концентрации сахара к концентрации выщелоченного Mn составляло около 3,3.

Чановое выщелачивание марганца в проточных условиях. Цель эксперимента – получение контрольной пробы марганцевого концентрата.

Исходные условия – те же, что в примере 1. Кроме того, устанавливают скорость потока бл/ч. Осаждение гидроокиси марганца осуществляется 25-процентным раствором аммиака при pH10.

Ход эксперимента. Опыт осуществляется в укрупненной лабораторной установке. Выщелачивание марганца происходит в реакторе с рабочей емкостью 180 л. В реактор загружают 18 кг хвостов обогащения, 162 л питательной среды, 18 л инокулята и осуществляют перемешивание.

Первые сутки выщелачивание марганца ведется без протока для накопления растворенного марганца в культуральной жидкости.

Через сутки включают насос, подающий предварительно подготовленную в отдельной емкости питательную среду, и открывают вентиль, обеспечи-

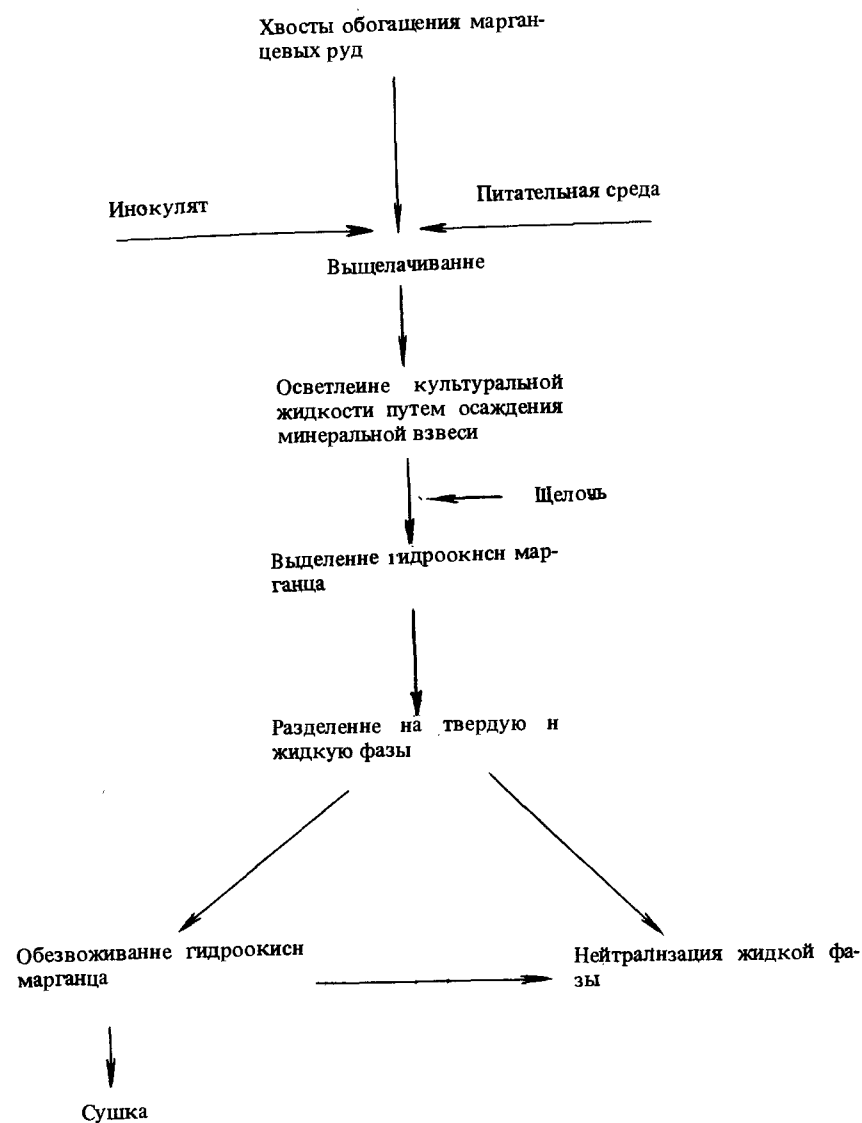


Рис. 6.3. Принципиальная технологическая схема получения марганцевого концентрата в укрупненной лабораторной установке

вающий вытекание избыточной культуральной жидкости в бак-отстойник емкостью 60 л. После заполнения бака-отстойника осветленная жидкость поступает в реактор емкостью 30 л, где при постоянном перемешивании происходит автоматическое подщелачивание жидкости до pH 10 раствором аммиака. В этом реакторе под действием щелочи из раствора выделяется твердая фаза гидроокиси марганца, которая, благодаря постоянному перемешиванию, находится во взвешенном состоянии. Из реактора пульпа поступает в бак-отстойник, где разделяется на осадок гидроокиси марганца, являющийся искомым полезным продуктом, и надосадочную жидкость, подлежащую дальнейшей обработке. Осадок сливается на фильтр или в центрифугу, обезвоживается и передается на химический анализ или другие исследования.

Технологическая схема получения марганцевого концентрата в укрупненной лабораторной установке представлена на рис. 6.3.

6.1.4. Обогащение марганцевых руд. Биоконверсия гаусманита

Используя марганцеоксилирующие бактерии *Nurphomicrobium* sp. и *Arthrobacter* sp., изолированные из различных марганцесодержащих экосистем и адаптированные к рудам, можно превратить Mn_3O_4 (гаусманит) в MnO_2 [14]. Первоначально исследования проводили в колбах, и состав образующегося продукта оценивали на основании диаграммы Eh-pH. Окончательно наличие MnO_2 (γ-тип) устанавливали методом рентгеноструктурного анализа. Эти эксперименты проводились также в укрупненном масштабе в колоннах и реакторах, используя 100 кг руды. За 15 дней культура *Arthrobacter* sp. трансформировала 78,4% гаусманита, а культура *Nurphomicrobium* sp. — 85,2%. В условиях Индии этот процесс биоконверсии является рентабельным [13].

6.1.5. Удаление фосфора и кремния

Фосфор является нежелательной примесью в марганцевых рудах, т. е. содержание его в руде выше 0,1% делает руду непригодной для получения ферромарганцевых сплавов. Известными физико-химическими способами удалить фосфор из этих руд не представляется возможным. Обесфосфоривание марганцевых руд успешно было осуществлено микробиологическим способом с помощью культур *A. niger* и *Nurphomicrobium* sp., при этом последний организм был в три раза активнее, чем *A. niger* [5].

В СССР для выщелачивания фосфора Рапава А. В. использовала руду, содержащую 40,0% Mn, 0,35% P и 18,8% SiO_2 . Руду помещают в емкости объемом 2 л и заливают модифицированной средой Сурман, содержащей в г/л: меласса — 5 г, KNO_3 — 1,5 г, $CaCO_3$ — 1,5 г. Концентрацию мелассы в некоторых опытах снижали до 50 мг/л. В емкости вносят культуру *B. tuscilagenosus* с титром клеток до 10^9 в 1 мл.

Соотношение Т:Ж составляло 1:1 или 2:1. Руду измельчают до размеров частиц $-10+7$ мм; $-7+5$ мм; $-3+2$ мм; $-2+1$ мм; $-1,0$ мм. pH раствора устанавливают равным 7,2–8,0. Растворы периодически заменяют свежими, что способствует выщелачиванию фосфора. Однако лучшие результаты были получены при активном перемешивании пульпы на качалках или в чанах при интенсивной аэрации. Принципиальных различий в скорости извлече-



Рис. 6.4. Технологическая схема бактериального выщелачивания фосфора и кремнезема из руды „Мцвари“

ния фосфора из приведенных выше классов крупности руды получено не было.

Выщелачивание фосфора в этих опытах достигло 30%. Укрупненные опыты по обесфосфориванию марганца проводят в чанах при Т:Ж = 1:1. Под воздействием *B. tuscilagenosus* соотношение Р:Mn уменьшалось с 0,09 до 0,004, что соответствует концентрату марганца 1 сорта. В результате воздействия бактерий происходит также снижение содержания в руде SiO_2 с 18,8 до 11,0%. Таким образом, в процессе выщелачивания содержание фосфора в руде снижается в среднем на 35%, а кремнезема — на 40%.

Технологическая схема бактериального выщелачивания фосфора из марганцевой руды, предложенная Рапавой А. В. приведена на рис. 6.4.

6.2. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ АЛЮМИНИЯ

6.2.1. Характеристика алюминийсодержащего минерального сырья

Различные типы минерального сырья могут подвергаться микробиологическому выщелачиванию с целью извлечения алюминия [19, 21, 25, 30].

Алюмосиликаты — наиболее широко распространенная группа алюминийсодержащих минералов. Устойчивость их к деградации возрастает с возрастанием количества Si-O-Si связей. Замещение Si^{4+} на Al^{3+} в кристаллической структуре приводит к ослаблению последней вследствие асимметрического распределения зарядов и снижения количества Si-O-Si связей [6]. Кроме того, изоморфные примеси увеличивают разнообразие связей в структуре минералов, нарушая в них симметрию электронных облаков и изменяя их плотность в отдельных участках, что приводит к ослаблению структуры в целом и делает ее отдельные участки более уязвимыми при взаимодействии с реагентами. Центры с избыточным или недостаточным локальным зарядом становятся менее устойчивы к воздействию реагентов.

Различные глины являются подходящим сырьем для выщелачивания алюминия. Глины широко распространены, дешевы, некоторые типы глин содержат относительно высокие концентрации алюминия. Устойчивость различных типов глин к биodeградации варьирует. В общем, диоктаэдрические глинистые минералы (каолинит, галлузит, иллит, монтмориллонит и др.) более устойчивы, чем триоктаэдрические глинистые минералы (вермикулит, серпентинит, хризолит и др.). Промежуточное положение между указанными группами глинистых минералов занимают хлориты. Устойчивость глинистых минералов к биodeградации понижается после термообработки глин при 600–650°C в течение 1–2 часов [19]. Эта обработка приводит к аморфизации минералов вследствие отделения воды, входящей в состав кристаллической структуры минерала. Термообработка интенсифицирует вынос алюминия и, одновременно, ингибирует выщелачивание железа. Последнее очень важно, т. к. железо мешает последующему выделению алюминия из продуктивного раствора.

Обогащенные каолины, каолиновые и каолинсодержащие породы также могут использоваться для выщелачивания алюминия. Однако, обогащенные каолины являются слишком дорогостоящим видом сырья, тогда как содержание алюминия в каолиновых породах и, особенно в каолинсодержащих породах, относительно низко (каолиновые породы содержат около 50% минералов группы каолинита; породы, содержащие менее 50% этих минералов, относят к каолинсодержащим породам).

Низкосортные бокситы и некоторые промышленные отходы, содержащие алюминий, такие как золошлаки, также могут быть использованы для выщелачивания алюминия с помощью микроорганизмов.

6.2.2. Технологическая схема

Предложена технологическая схема выщелачивания алюминия из минерального сырья [21, 23]. Схема включает следующие основные этапы (рис. 6.5):

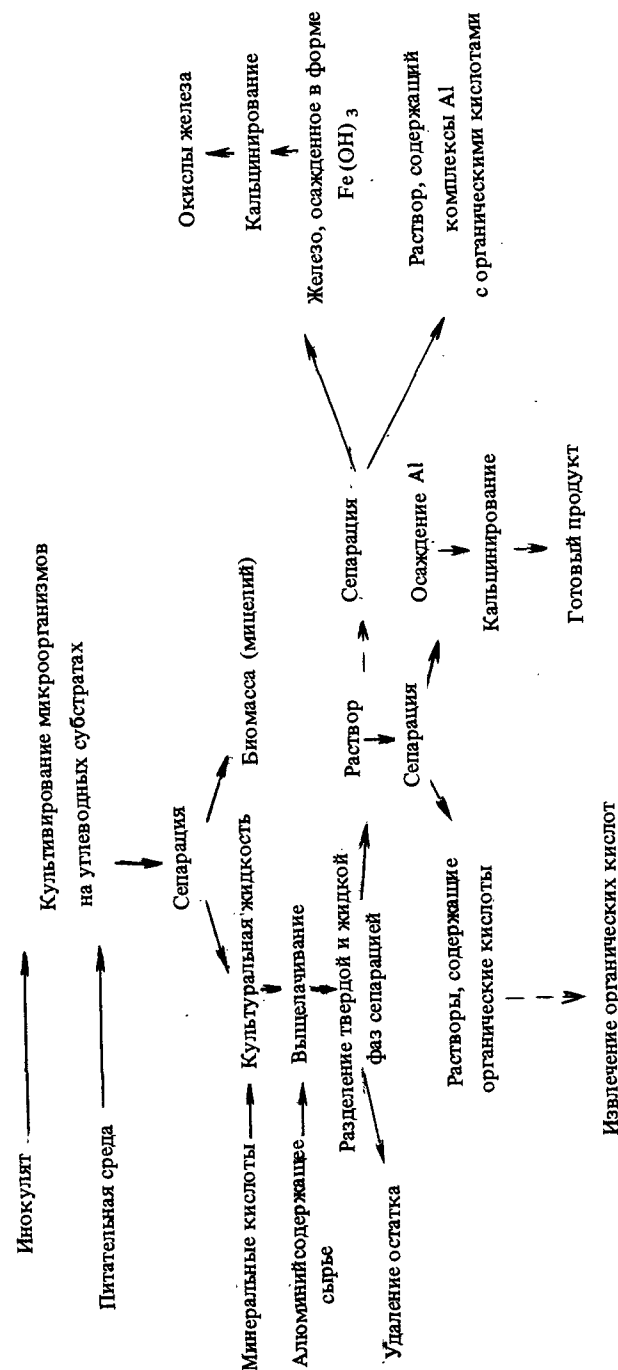


Рис. 6.5. Технологическая схема микробиологического выщелачивания алюминия из минерального сырья

- подготовка выщелачивающих растворов,
- выщелачивание алюминия,
- извлечение алюминия из продуктивного раствора.

Получение выщелачивающих растворов. Выщелачивающий раствор получают при культивировании штамма *A. niger*, способного синтезировать высокие концентрации лимонной и щавелевой кислот на средах № 28–33 (см. главу 2).

В этих средах в качестве источника углерода используются сахара (глюкоза, фруктоза или сахароза). Однако в укрупненных экспериментах используют как источник углерода более дешевое сырье. Им может быть меласса, неочищенная сахароза, сок сахарного тростника, гидролизаты крахмала. Эти субстраты содержат ионы различных тяжелых металлов, которые ингибируют биосинтез органических кислот. Устранить ионы тяжелых металлов из растворов сахаров можно путем обработки ионообменными смолами или осаждением феррицианидом К. Однако такое устранение не всегда возможно. Добавление к культуральной среде 1–5% низших спиртов (метанол, этанол, *n*-пропанол, изопропиловый спирт или метилацетат) снимает отрицательный эффект следов металлов на кислотообразование.

Помимо ионов тяжелых металлов в состав сред могут входить и другие ингибиторы биосинтеза лимонной кислоты — это уксусная кислота и некоторые пептиды в мелассе, сульфит, фурфурол, уксусная и муравьиная кислоты в гидролизатах древесины [30]. Концентрация углеводов в среде должна составлять 10–20%.

Факторами, регулирующими выход лимонной и щавелевой кислот и их соотношение в среде, являются pH и температура. Чтобы увеличить выход щавелевой кислоты начальный pH среды должен быть нейтральным или слабощелочным, а температура инкубации — ниже оптимальной для биосинтеза лимонной кислоты, т. е. ниже 28–30°C.

Биосинтез лимонной и щавелевой кислот можно осуществлять в условиях поверхностной и глубокой культуры. В лабораторных экспериментах культивируют *A. niger* в стационарных условиях, либо на качалке. В качестве посевного материала используют суспензию спор или мицелий. Споры получают, выращивая активный штамм на соответствующей агаризованной среде, суспензию спор получают смывом спор стерильным солевым раствором. Посевной материал, как правило, содержит около 10^7 – 10^8 спор/мл. Его вносят в питательную среду в количестве 10% от объема среды. Контроль осуществляют путем периодического отбора проб и измерения титруемой кислотности. Кислотность определяют титрованием раствором NaOH, используя в качестве индикатора фенолфталеин. Кислоты в культуральной жидкости идентифицируют, и их соотношение определяют методом хроматографии с различными системами растворителей, например, бутанол + вода, содержащая 2н муравьиную кислоту. Концентрацию сахара в среде определяют феррицианидным методом. Биомассу определяют по сухому весу. Продолжительность культивирования зависит от способа культивирования (поверхностное или глубинное), концентрации и природы источника углерода и используемого штамма.

В укрупненных экспериментах глубинное культивирование обеспечивает

более высокий выход органических кислот за более короткий срок. Глубинное культивирование осуществляют в реакторе с непрерывной подачей среды и с перемешиванием или в колонных ферментерах. Важным фактором при процессах глубинного культивирования является аэрация. Оптимальный уровень аэрации варьирует от 0,1 до более чем 1 объема воздуха на объем среды в минуту.

Концентрация органических кислот в культуральной жидкости достигает 200 г/л и более.

При поверхностном культивировании мицелиальный мат отделяется легко от культуральной жидкости, которая сливается, а оставшаяся пленка мицелий измельчается и отмывается небольшим количеством воды, т. к. мицелий адсорбирует до 15 % органических кислот. Промывная вода сливается в культуральную жидкость.

При глубинном культивировании мицелий отделяется от культуральной жидкости фильтрованием под вакуумом. В условиях укрупненной установки используется фильтрование через мелкозернистый материал. Отмытый мицелий обезвоживается фильтрованием под давлением и высушивается для получения белкового препарата.

Культуральная жидкость разводится до концентрации кислот 100 г/л и pH раствора снижают до значения 0,5 добавлением или HCl, или H_2SO_4 , или смеси минеральных кислот, содержащей серную, соляную и фосфорную кислоты в соотношении 2:1:1. Затем к полученному раствору добавляют 0,5–3% KNO_3 . Полученную жидкость используют как выщелачивающий раствор. Активность полученного раствора сходна с таковой раствора, содержащего равную концентрацию коммерческих препаратов органических кислот. Однако, растворы, содержащие органические кислоты, полученные с помощью микроорганизмов, гораздо дешевле.

Выщелачивание алюминия. Процесс выщелачивания осуществляют в кислотоупорных реакторах с механическим перемешиванием при температуре 90–100°C и плотности пульпы 20–25%. Выщелачивание можно осуществлять как в периодическом, так и в непрерывном режиме.

Наиболее подходящим является система из 2–4 реакторов. В указанных условиях 90–95% алюминия экстрагируют в течение 5-ти часов из некоторых типов подвергнутых термической обработке глин.

После выщелачивания продуктивный раствор, содержащий растворенный алюминий, отделяют от твердого остатка фильтрованием. Некоторые примеси, такие как железо, кремний и т. д., могут быть отделены от алюминийсодержащего раствора осаждением при соответствующих значениях pH. Очищенные осажденные растворы используются для выделения алюминия.

Выделение алюминия из продуктивных растворов. Алюминий может быть выделен из продуктивных растворов различными методами. Его осаждают из продуктивного раствора, повышая pH раствора после предварительного прогрева раствора при 170°C в течение 2–3 часов. Осаждение гидроксида алюминия может осуществляться увеличением Eh продуктивного раствора. Осаждение алюминия происходит вследствие разрушения комплексов его с лимонной и щавелевой кислотами. Поэтому растворы с кислотами могут использоваться для выщелачивания повторно. Для получения

конечного продукта осуществляют кальцинирование гидроокиси алюминия.

Алюминий из раствора можно выделить в виде квасцов добавлением сульфата калия и серной кислоты и нагреванием этого раствора до 90°C в течение 15 минут с последующим охлаждением.

Алюминий может быть также выделен как $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ насыщением продуктивного раствора хлористым водородом. Осадок отделяют фильтрованием и растворяют в 20% соляной кислоты. Этот раствор насыщают хлористым водородом, и алюминий переосаждают как очищенный $AlCl_3 \cdot 6H_2O$. Для получения готового продукта $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ подвергают кальцинированию.

6.3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОБЕЗЖЕЛЕЗНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНОГО СЫРЬЯ

Содержащиеся в различных типах минерального сырья (кварцевый песок, каолин, глины и т. д.) окислы железа снижают его качество. Для устранения железа используются различные не биологические методы. Однако, некоторые из этих методов, например, методы магнитной сепарации и флотации, имеют ограниченное применение, т. к. их эффективность в значительной степени определяется свойствами обрабатываемого минерального сырья. С помощью химических методов, основанных на выщелачивании железа минеральными и органическими кислотами, достигается высокий уровень очистки от железа. Но эти методы дороги, технологические условия сложны и несут опасность загрязнения окружающей среды.

Выщелачивание железа, присутствующего в минеральном сырье в форме окислов, с помощью микроорганизмов — хорошо известный процесс. Растворение железа происходит под действием органических кислот и других метаболитов, являющихся комплексобразующими агентами [17], или в результате процессов ферментативного и неферментативного восстановления железа.

Способность микроорганизмов выщелачивать железо из окисных минералов может использоваться для обезжелезнения минерального сырья, содержащего в качестве нежелательных примесей окислы железа.

6.3.1. Характеристика минерального сырья

Кварцевые пески используют как сырье в стекольной промышленности. Однако в производстве высококачественного стекла могут применяться только кварцевые пески, удовлетворяющие ряду требований (табл. 6.3).

Кварцевый песок нужного качества получают путем очистки низкосортных песков. Как правило, эти низкосортные пески окрашены, что обусловлено присутствием различных примесей — в основном соединений железа. Большие количества таких песков накапливаются при обогащении каолина. Общее содержание железа в них обычно варьирует в пределах 0,03–0,08% Fe_2O_3 . Железо в кварцевых песках входит в состав следующих минералов: биотита, магнетита, гематита, лимонита, пироксена. Эти минералы присутствуют в виде отдельных зерен. Гидроокислы железа, покрывающие частицы песка, в основном, представлены лимонитом и гетитом.

Таблица 6.3

Характеристика кварцевого песка, используемого для приготовления высококачественного стекла [11]

Показатели	Содержание, %
Химический состав:	
SiO_2	Более 99,0
Al_2O_3	Не более 0,5
Fe_2O_3	Не более 0,012
Cr_2O_3	Следы
TiO_2	Не более 0,05
$CaO + MgO$	Не более 0,6
каолин	Не более 1,0
Размеры частиц:	
более 0,63 мм	Не более 3,0
менее 0,1 мм	Не более 5,0
Потери при прокаливании (1000°C)	Не более 0,5
Влажность	Не более 0,5

Каолин с низким содержанием железа (менее 0,6% Fe_2O_3) и высоким уровнем белизны (более чем 88%) используется в бумажной промышленности, а также для производства высококачественного фарфора. Такой каолин получают путем обогащения природного каолина. Содержание железа в обогащенном каолине варьирует в пределах 0,8–1,5% Fe_2O_3 . Часть железа входит в состав кристаллической структуры каолинита, тогда как остальное железо (различные гидроокислы железа) вкраплены в каолин.

Глины всегда содержат в качестве примесей различные соединения железа (содержание железа может достигать 10–15% Fe_2O_3). Обезжелезнение глины приводит к повышению их огнеупорных свойств. Такие глины используются как сырье для производства огнеупоров.

Бокситы и марганцевые руды, содержащие примеси железа, также могут подвергаться обезжелезнению путем микробиологического выщелачивания.

6.3.2. Технологическая схема

В лабораторных условиях выщелачивание железа проводят в стационарных условиях или при культивировании на качалке, а также в реакторах с механическим перемешиванием или колоннах. При этом используются либо растущие культуры микроорганизмов, либо культуральная жидкость, полученная предварительно в отсутствие минералов, подвергающихся выщелачиванию.

Скорость выщелачивания растущими культурами относительно низка, тогда как в проточной системе (из пяти реакторов с железовосстанавливающими бактериями) за 40 дней из бокситов удаляется все железо [32].

Выщелачивание под действием предварительно полученной культуральной жидкости протекает с более высокими скоростями. Предложена технологическая схема микробиологического обезжелезнения минерально-

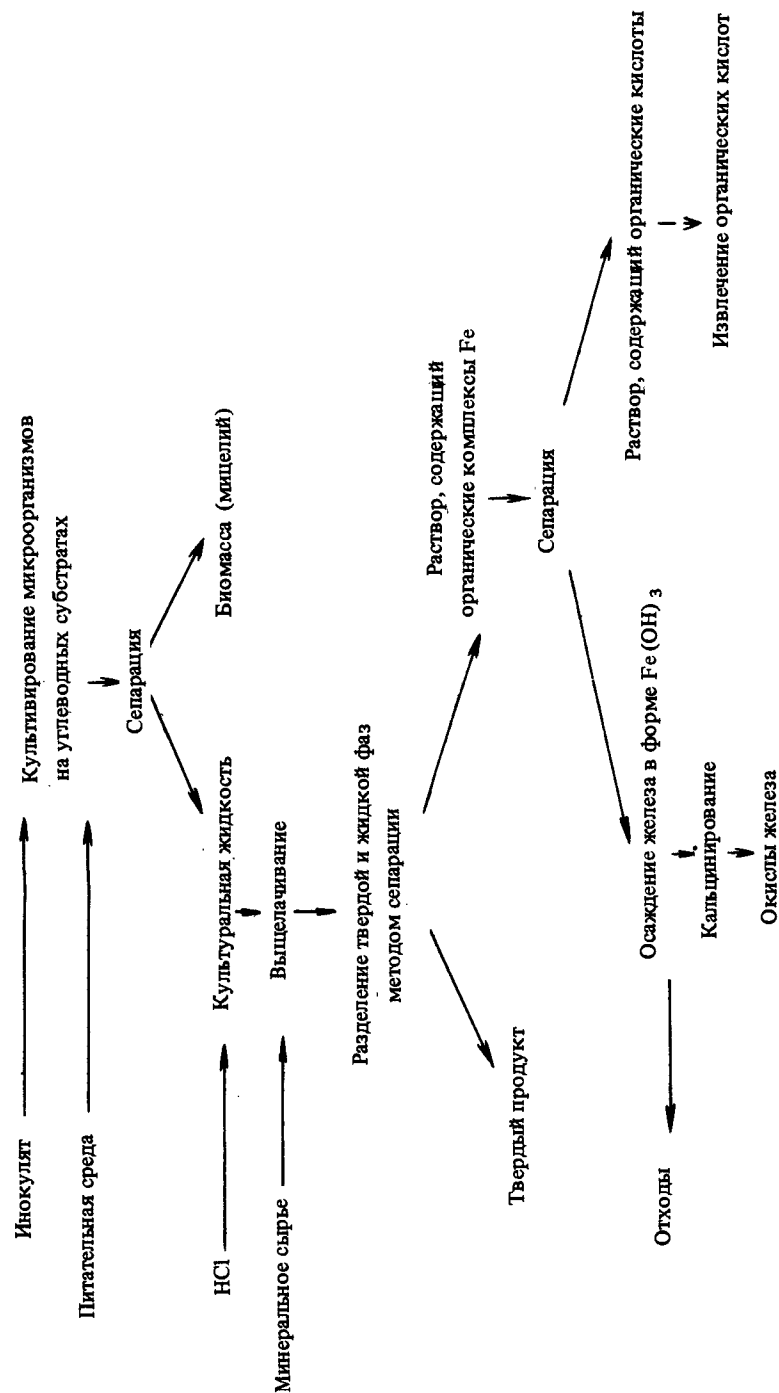


Рис. 6.6. Технологическая схема обезжелезнения минерального сырья

го сырья [20, 22]. Схема сходна с таковой для выщелачивания алюминия и включает те же основные стадии (рис. 6.6):

- приготовление выщелачивающего раствора,
- выщелачивание железа,
- выделение железа из выщелачивающего раствора.

Приготовление выщелачивающего раствора. Приготовление выщелачивающего раствора осуществляют способом, близким к описанному в разделе 6.2.2. для выщелачивания алюминия. Используют оптимальную для биосинтеза щавелевой кислоты соответствующими штаммами *A. niger* питательную среду. В состав этой среды должны входить физиологически щелочные минеральные соли, и начальный pH должен быть равен 7–8.

Состав типичной питательной среды для биосинтеза щавелевой кислоты приведен в главе 2 (среда № 33). Температура инкубации 20°C.

Культивирование *A. niger* можно осуществлять как в стационарных условиях, так и в глубинной культуре. По окончании инкубации культуральную жидкость отделяют от мицелия фильтрованием, разводят водой и подкисляют до pH 0,5 соляной кислотой. Этот раствор используют для выщелачивания железа. Концентрация органических кислот в растворе, т. е. степень разведения культуральной жидкости водой, зависит от подвергающегося обработке минерального сырья. Например, для устранения железа из песков, которые обычно содержат менее 0,1% Fe_2O_3 , эффективен раствор, содержащий 5–10 г/л органических кислот. Такие растворы можно использовать и для обработки каолинов, обычно содержащих около 1% Fe_2O_3 . Однако, при обезжелезнении некоторых типов глин и бокситов с высоким содержанием общего железа, используют растворы с концентрацией органических кислот выше 50 г/л. Выщелачивающая активность культуральной жидкости сходна с таковой растворов, содержащих коммерческие препараты органических кислот той же молярности.

Выщелачивание железа. Процесс выщелачивания осуществляют в кислотоупорных реакторах с механическим перемешиванием при температуре 90–100°C. Обезжелезнение кварца и каолина проводят как периодический процесс. Однако обработка глин с высоким содержанием железа, бокситов и т. д. может осуществляться как непрерывный процесс в системе из 2–4 реакторов.

Оптимальная плотность пульпы 35–40% для кварцевых песков и 20–25% для каолина и глин. При обезжелезнении кварцевых песков необходимо более интенсивное перемешивание, чем при обезжелезнении каолинов и глин. Продолжительность выщелачивания обычно 1–5 часов.

Алюмосиликаты (глины, каолин и т. д.) выщелачиваются без предварительной термообработки. Обезжелезнение необработанных алюмосиликатов протекает более интенсивно, чем выщелачивание алюминия, тогда как обратная закономерность наблюдается при выщелачивании алюмосиликатов, подвергнутых термообработке.

Содержание железа в песках, обработанных данным методом, снижалось с 0,035–0,088% до 0,012% Fe_2O_3 и ниже. Содержание железа в каолинах снижалось с 0,65–1,49% до 0,44–0,75% Fe_2O_3 и, как результат, их близна возрастала с 55–87% до 86–92%. Кальций также переходит в раствор

при обработке каолинов. Содержание железа в глине снижалось от 6,25 до 1,85% Fe_2O_3 , и огнеупорность при этом возрастала с 1670 до 1750°C. Только небольшие количества алюминия (около 1%) выщелачивались вместе с железом из каолинов и глин.

Необходимо отметить, что только железо, не входящее в состав кристаллической структуры минералов, может быть устранено этим методом.

Перед выщелачиванием некоторые кварцевые пески должны подвергаться механическому активированию. Активирование осуществляется в реакторах с механическим перемешиванием при плотности пульпы 60% и комнатной температуре. Продолжительность активации 15 мин.

Биологическое выщелачивание железа из кварцевых песков может применяться в сочетании с традиционными методами флотации и магнитной сепарации, т. е. микробиологическому выщелачиванию можно подвергать минеральное сырье, частично обезжелезненное методами флотации или магнитной сепарации.

Извлечение железа и выщелачивающего раствора. Железо устраняют из раствора после выщелачивания путем его подщелочения.

6.4. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ РАСТВОРЕНИЕ САМОРОДНОГО ЗОЛОТА

6.4.1. Характеристика золота

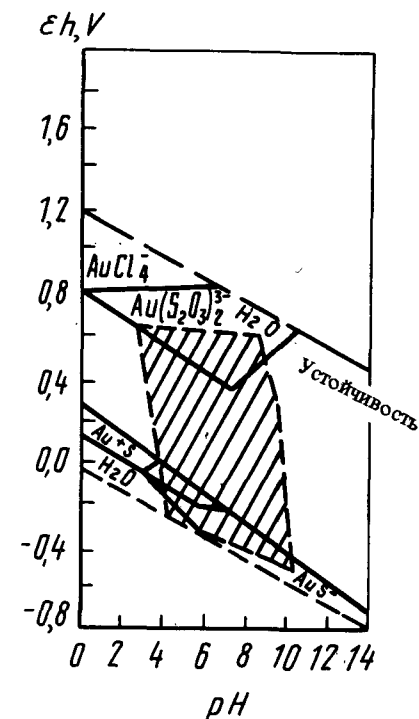
Золото находится в породах в самородном состоянии или входит в виде вкраплений в сульфидные минералы, такие как пирит, арсенопирит, пирротин, галенит, сфалерит, а также в силикатные минералы. Оно является одним из наиболее устойчивых элементов. Постоянными спутниками золота являются медь и серебро. В соединениях оно проявляет валентность +1 и +3. Несмотря на высокую химическую устойчивость, золото в природе весьма подвижно, что видно из данных, приведенных на рис. 6.7. На диаграмму $Eh - pH$ нанесены данные об активности ионов золота в различных условиях. Сравнение термодинамических характеристик показывает, что золотоорганические комплексы по сравнению с тиосульфатными устойчивы в более широкой области окислительно-восстановительного потенциала. Это свидетельствует о расширении ореолов рассеяния золота, связанного с органическими веществами.

6.4.2. Растворение самородного золота

Ниже приводятся несколько примеров использования микроорганизмов для растворения золота.

Опыты по выщелачиванию золотоносных латеритов [10] с использованием бактерий, выделенных из золотоносных приисков Ита, проводились в колбах объемом 1,5 л, содержащих 800 мл среды. Содержание золота в латеритах колебалось от 0,6 до 19,8 г/т. Латериты и питательная среда стерилизовались отдельно. После стерилизации среду засевают бактериями и после инкубации в течение 4-х суток полученной культурой заливают пробу латерита. В данных опытах использовали бактерии р. *Bacillus*.

Рис. 6.7. Соотношение устойчивости между некоторыми соединениями золота в воде при 25°C и 1 атм давления. Сумма растворенных хлоридных компонентов равна 10^{-3} , сумма растворенной серы равна 10^{-1} . Заштриховано поле устойчивости золотоорганических комплексов в природных водах.



Анализы растворов проводили по истечении 21 суток 2 раза в неделю. Для анализов отбирали пробы по 20 мл. После отбора 20 проб (400 мл) в колбы добавляли по 100 мл культуры бактерий в возрасте 4 суток. Отбор проб возобновлялся через 8 суток.

Золото в момент прекращения опыта извлекалось из раствора путем осаждения на активированный уголь, который затем подвергался обжигу. Получены следующие результаты (см. табл. 6.4).

Таблица 6.4

Колбы	Сутки	Извлечено Au, мг/л	Колбы	Сутки	Извлечено Au, мг/л
1	217	51,9	4	217	10,1
2	217	31,9	5	217	65,7
3	217	51,9	6	293	82

Опыты, проведенные Паре [10] с другими типами латеритов, позволили ей сделать следующие выводы:

1. Разные виды бактерий действуют избирательно на разные латериты.
2. Выбор питательной среды зависит от вида бактерий и типа выщелачиваемой руды.

3. Процент экстракции может быть повышен, но для этого требуется более продолжительное время выщелачивания.

Паре с сотрудниками выделили из образцов почв и золотых приисков Ити бактерии, относящиеся к р. *Aeromonas* [10]

Эти бактерии были эффективны как для растворения чистого золота, так и для выщелачивания золота из золотоносных руд. Содержание золота в растворе превышало после выщелачивания 10 мг/л.

Паре считала, что проблему растворения золота можно решать и другими методами, в частности, путем выяснения природы химического соединения, которое переводит золото в раствор. Отмечалось также то, что золото растворяется в средах, содержащих мертвые клетки бактерий, т. е. в этом случае можно говорить о действии органических веществ, переходящих в среду при разрушении бактериальных клеток. Однако, извлечение золота в этих опытах было низким.

В качестве второго примера можно привести растворение золота с использованием микроорганизмов, активно синтезирующих аминокислоты (глава 1) [4, 5, 7, 8].

Мутантные штаммы *Bacillus* spp. и других родов бактерий выделяют в питательную среду повышенные количества аминокислот, нуклеиновых кислот, пировиноградной, молочной, муравьиной и уксусной кислот, а также ряд ферментов: каталазу, пероксидазу, протеазы.

Однако, наиболее активно растворяют золото аминокислоты в присутствии окислителей. Оптимальная концентрация посевного материала составляет 3–4%. Дальнейшее возрастание концентрации посевного материала на биосинтез аминокислот практически не влияет.

Скорость растворения золота зависит от ряда факторов:

- 1 – от типа среды – возрастает на средах, содержащих углеводы (меласса, глюкоза),
 - 2 – от присутствия значительных количеств аминокислот, не менее 5 г/л,
 - 3 – от наличия окислителей (перекиси, электронно-обменные смолы).
- Оптимальный расход Na_2O_2 и других окислителей 2–4 г/л,
- 4 – от pH среды, оптимальными являются pH 8,0–10,0,
 - 5 – от крупности частиц золота и типа руды.

Т а б л и ц а 6.5

Характеристика биомассы разных типов микроорганизмов

Тип микроорганизма	Содержание в % к сухому весу		Сухой вес биомассы в г на 100 мл культуры
	белки	нуклеиновые кислоты	
Бактерии	40–50	13–25	0,02–2,9
Мицелиальные грибы	10–25	1–3	3–5
Дрожжи	40–50	4–10	1–5
Микроформы водорослей	10–60	1–5	0,4–0,9

Поскольку биосинтез аминокислот бактериями происходит при более низких значениях pH, чем растворение золота, то выращивание культур бактерий и биосинтез аминокислот следует вести в отдельном цикле.

Кроме живых микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности, для растворения золота можно использовать также реагенты, приготовленные из биомассы микроорганизмов или другие реагенты биологического происхождения.

Значительное количество аминокислот может быть получено при гидролизе белоксодержащих продуктов. Относительно большую биомассу с высоким содержанием белка могут накапливать многие микроорганизмы (табл. 6.5) [1]. Некоторые бактерии и дрожжи могут накапливать в биомассе и более 60% белка [9].

Щелочная обработка биомассы микроорганизмов при температуре 80–100°C приводит к глубокой деструкции белков и накоплению в растворах элементарных аминокислот – суммарное количество их составляет 3–10 г/л, т. е. того же порядка, что и в культуральных жидкостях золоторастворяющих бактерий р. *Bacillus*. Щелочные гидролизаты биомассы микроорганизмов можно использовать в присутствии окислителя (перекиси натрия, перманганата калия – последний предпочтительнее) для выщелачивания золота. Так, при обработке кормовых дрожжей раствором едкого натра получают гидролизаты, содержащие порядка 5 г/л аминокислот, 0,5–0,8 г/л нуклеиновых кислот, 1–2 г/л липидов.

Наибольший практический интерес для приготовления золоторастворяющих реагентов биологического происхождения представляют отходы ряда производств – микробиологических, пищевых и других.

Технологические аспекты. В опытах по выщелачиванию золота продуктами метаболизма бактерий были использованы хвосты обогащения руд, эфелей промывки песков россыпей. Опыты проводили при pH 9–10, при соотношении Т:Ж = 1:1–2 в присутствии Na_2O_2 (2–6 г/л). За 10 суток извлечение золота составило: из хвостов обогащения руд 25–35%, из песков россыпей 50–80%.

В слабокислой среде при прочих равных условиях извлечение золота составило 24–40%.

Проведены эксперименты со шлиховым золотом, извлеченным из россыпных песчано-галечных отложений при использовании аминокислотсодержащих отходов медицинской и пищевой промышленности (биомасса продуцентов антибиотиков, продукт БЗ) [2]. В опытах с навесками, содержащими 5–10 мг золота, добавляли по 200–300 мл выщелачивающего раствора, по ходу эксперимента отбирали пробы раствора и анализировали их на содержание золота атомно-абсорбционным методом на приборе Перкин-Эльмер. Результаты одной серии экспериментов представлены в табл. 6.6.

В опытах с продуктом БЗ при выщелачивании золота крупностью –0,5+ +0,049 мм концентрация металла в растворе составила 1,0–3,4 мг/л за 7–37 суток и была в среднем вдвое выше, чем в аналогичных опытах с биомассой дрожжей.

При перколяции руды крупностью –10.+0 мм, содержащей 2,4 г/т золота, извлечено в раствор до 71–73% металла за 16 суток; из руды с

Таблица 6.6

Выщелачивание шлихового золота
(продолжительность эксперимента 30 суток)

№ опыта	Основы для приготовления выщелачивающего раствора	Концентрация Au, в растворе, мг/л
1	Кормовые дрожжи	0,6
2	Отход производства сизамицина	0,6
3	Отход производства рифамицина	0,7
4	Продукт БЗ в концентрации 7 г/л	2,3
5	Продукт БЗ в концентрации 4 г/л	2,4

содержанием 0,75 г/т золота — 53,3% металла за 9 суток. Проведено кучное выщелачивание песчаной руды крупностью —300+0 мм с содержанием 0,75 г/т золота при массе рудного штабеля 10 т; выщелачивающий раствор приготовлен на основе кормовых дрожжей, выращенных на парафинах. Было извлечено 46,7% металла за 12 суток при средней скорости фильтрации растворов 12–15 л/т в сутки и остаточном содержании в хвостах 0,4 г/т [8]. Испытанные растворители являются нетоксичными.

Перспективы использования подобных биоорганических продуктов связаны с детальным изучением их биохимического состава и направленным выбором наиболее подходящих из них, в частности, по качественно-количественному составу содержащих аминокислот.

Подавление посторонней микрофлоры. Важным условием успешного выщелачивания золота является подавление посторонней микрофлоры. Этого можно достичь внесением в толщу руды и в раствор небольших количеств антимикробного волокна, а также периодической фильтрацией выщелачивающих растворов через такое волокно. Перспективно, по-видимому, использование и других антисептиков.

Извлечение золота из растворов. Золото из растворов извлекается активированным углем или ионообменными смолами. Перспективным является также использование биосорбентов.

Экономические аспекты. Экономические расчеты показали рентабельность использования в качестве растворителя золота культуральной жидкости, содержащей аминокислоты и белки. В качестве недорогих субстратов для роста бактерий могут быть использованы отходы различных производств, содержащие углеводы и углеводороды.

Согласно проведенным расчетам, использование таких растворителей экономически целесообразно при содержании золота в исходной руде порядка 1,5 г/т, хотя себестоимость переработки руды несколько повышается по сравнению с цианистым процессом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аиба Ш., Хемфри А., Миллис Н., Биохимическая технология и аппаратура. Перевод с англ. М., Пищев. пром., 1975.
2. Верникова Л. М., Водопьянова Л. С., Горюшкина С. Я., Небера В. П., Фишкова Н. Л., Цветные металлы, 1985, № 7, 84.
3. Гаррелс Р. М., Крайст Ч. Л., Растворы, минералы, равновесия. Изд-во иностранной литературы. М., 1968, 314 pp.
4. Коробушкина Е. Д., Завьялова Л. Л., Коробушкин И. М., Изв. АН СССР, сер. биол., 1976, № 6, 936.
5. Коробушкина Е. Д., Минеев Г. Г., Прадед Г. П., Микробиология, 1976, 45, 3, 535.
6. Матвеева Л. А., В сб.: Кора выветривания, 1974, 14, 227.
7. Минеев Г. Г., Геохимия, 1976, № 4, 577.
8. Минеев Г. Г., Сыртланова Т. С., Цветные металлы, 1984, № 12, 74.
9. Мосичев М. С., Складнев А. А., Котов В. Б., Общая технология микробиологических производств, Легкая и пищевая пром., М., 1982, 264 с.
10. Паре И., В сб.: Труды VIII Международного конгресса по обогащению полезных ископаемых. Л., 1968, Е-5, 1, 1.
11. Туманова Е. С., В кн.: Неметаллические полезные ископаемые СССР. В. В. Петров (ред.), Недра, М., 1984, 407.
12. Agate, A.D., Absws. Ann. Conf. Assoc. Microbiol., India, Ludhiana, 1972, 32.
13. Agate, A.D., In: Proc. Symp. Biol. Approach to Problems in Medicine, Industry & Agriculture, Bhabha Atomic Res. Center, Bombay, India, 1974, 161.
14. Agate, A.D., Biovigyanam, 1984, 10, 199.
15. Agate, A.D., In: Biogeotechnology of Metals, G.I. Karavaiko, and S.N. Groudev (Eds.), Centre for International Projects GKNT, Moscow, 1985, 377.
16. Agate, A.D., and Deshpande, H.A., In: Conference Bacterial Leaching, W. Schwartz (Ed.), Verlag Chemie, N.Y., 1977, 243.
17. Berthelin, J., and Kogblevi, A., Rev. Ecol. Biol. Sol., 1974, 11, 499.
18. Ehrlich, H.L., Geomicrobiology, Marcel Dekker, N.J., 1981, 661pp.
19. Genchev, F.N., and Groudev, S.N., In: Travaux ICSOBA. ICSOBA Symposium "Alumina Production until 2000", Academic Yougoslave des Science et des Arts, Zagreb, 1982, 12, 17, 195.
20. Groudev, S.N., Genchev, F.N., and Gaidarjev, S.S., Bulgarian Patent No. 29063, 1978.
21. Groudev, S.N., Genchev, F.N., Petrov, E.C., Groudeva, V.I., Mochev, D.J., Genchev, D.G., and Rusenov, G.A., Bulgarian Patent No. 38 860, 1982.
22. Groudev, S.N., Groudeva, V.I., Genchev, F.N., Mochev, D.J., and Petrov, E.C., In: Proceedings of XV Int. Mineral Processing Congress, Vol. II, Flotation, Hydrometallurgy, 1985; 378.
23. Groudev, S.N., Groudeva, V.I., and Petrov, E.C., Biological Leaching of Aluminum from Aluminosilicates, Paper presented at the 5th Int. Congr. of ICSOBA, Zagreb, 1983.
24. Imai, K., Tano, T., Noro, H., Patent US, No. 3433629, 1970.
25. Mehta, A.P., Torma, A.E., and Murr, L.E., Biotechnol. Bioeng., 1979, 21, 875.
26. Mining J., Microbes treat ores & coal, 1958, 250, 6391, 90.
27. Murata, T., Patent, French, 1966, No. 1454727.
28. Murata, T., Patent, British, 1967, No. 1068308.
29. Perkins, E.C. & Novielli, F., Mining Congress Journ., 1958, 44, No. 8, 72.
30. Rohr, M., Kubicek, C.P., and Hominek, J., In: Biotechnology, H. Dellweg (Ed.), Verlag Chemie, Deerfield Basel, 1985, 3, 419.
31. Silverman, M.P., and Munoz, E.F., Science, 1970, 169, 985.
32. Starosta, J., Orłowska, B., and Jagello, V., In: Oktobarsko Savetovanje Rudara i Metalurga, Bor, 1980, 2, 385.

Глава 7

БИОАККУМУЛЯЦИЯ И ОСАЖДЕНИЕ МЕТАЛЛОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Получение металлов гидрометаллургическими способами связано с извлечением их из разбавленных растворов. Важной задачей является также очистка промышленных стоков от металлов. В последнее время наметился ряд новых подходов в решении этих задач с использованием микроорганизмов. К наиболее реальным из этих подходов можно отнести следующие:

- 1) биосорбция;
- 2) образование летучих соединений металлов;
- 3) образование нерастворимых соединений металлов.

Ниже рассматриваются некоторые микробиологические способы извлечения металлов из растворов и очистки промышленных сточных вод:

7.1. ОЧИСТКА ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД ОТ МЕТАЛЛОВ

В основу микробиологического способа очистки промышленных сточных вод от металлов положено использование гетеротрофных микроорганизмов в сочетании со снабжением среды органическим веществом для окисления/восстановления или осаждения металлов в виде сульфидов.

7.1.1. Осаждение металлов в присутствии продуктов разложения растений [6]

Лабораторные опыты. Для разработки технологии осаждения металлов в результате жизнедеятельности гетеротрофных микроорганизмов необходимо изучить поведение металлов в присутствии промежуточных продуктов обмена, образующихся на ранних стадиях разложения растительности. Для принципиального выяснения этого вопроса проводят лабораторные опыты по изучению влияния продуктов распада растительности на подвижность ионов металлов, в частности, меди, свинца и цинка в растворе.

В колбы Эрленмейера емкостью 250 мл добавляли 150 мл раствора тяжелых металлов (содержание ионов меди, свинца и цинка в растворе соответственно составляло 5 мг/л), затем вносили размельченные растительные остатки рогоза (из расчета 10 г сухих растительных остатков в 1 л воды). Контролем служили сосуды с рогозом, залитым дистиллированной водой. Колбы выдерживали при комнатной температуре в течение 6 месяцев, а анализы содержания металлов в растворе проводили через каждые 10 суток по мере разложения органического вещества растений.

Осаждение меди происходило в результате взаимодействия накапливающихся в растворе органических соединений, образующихся при микробиологическом разложении рогоза. Уже на десятые сутки содержание ее в растворе снизилось на 78%. При этом основная часть меди (47%) выпала в осадок в виде устойчивых комплексов с органическими веществами. К концу второго месяца содержание меди в растворе снизилось на 96%.

Осаждение цинка также происходило при разложении растительных остатков рогоза спонтанной микрофлорой. Однако в первый период образуются неустойчивые комплексы цинка с органическим веществом и лишь через три месяца 82% цинка находилось в осадке в форме устойчивых металлоорганических комплексов.

Свинец осаждался органическими веществами, образующимися при разложении растительного материала. Уже на 10-е сутки опыта содержание свинца в растворе снижалось на 90%.

Таким образом, изучение влияния продуктов разложения водной растительности на осаждение тяжелых металлов в модельных опытах показало, что образующиеся на различных этапах гумификации органические и минеральные соединения реагируют с ионами тяжелых металлов с образованием как растворимых, так и нерастворимых комплексов. Однако в стоках предприятий, кроме металлов, содержится целый комплекс токсичных реагентов, в связи с чем исследования необходимо проводить с использованием промышленных стоков.

При осаждении ионов металлов из промышленных сточных вод на дно проточного модельного сосуда укладывались пробы из отвалов обогатительной фабрики. С целью нейтрализации их токсического действия на микроорганизмы сверху насыпали почвенный гумусированный слой толщиной 1–2 см, служащий местом обитания микроорганизмов и связывания органическим веществом осаждающихся из растворов ионов металлов. В опытах использовали воду действующего хвостохранилища с исходным содержанием токсичных компонентов, как указано в табл. 7.1. Для интенсификации деятельности микроорганизмов в подаваемый раствор добавляли сахарозу из расчета 20 г/м³.

Таблица 7.1

Очистка сточной воды из хвостохранилища
в проточных условиях

Химический состав сточной воды	Исходное содержание, мг/л	Время очистки, сутки			% очистки
		10	20	30	
pH	10,2	9,0	8,4	8,2	
Цианиды	14	4,8	3,5	0,5	96
Медь	5,8	1,4	0,7	0,5	91
Цинк	1,3	1,0	0,5	н.о.	100
Свинец	0,25	н.о.	н.о.	н.о.	100

н.о. — не обнаружено.

Как видно из таблицы, степень очистки сточной воды составляла по меди — 91%, по цинку и свинцу — 100%, по цианидам — 96%. В контрольном сосуде без добавок почвы и сахарозы содержание токсичных компонентов в стоке не изменялось. В проточной системе в начале число микроорганизмов, поступающих с водой, было незначительным (400 кл/мл). При подаче сахарозы и за счет органического вещества подстилаемой почвы число клеток микроорганизмов увеличивалось до 190 тыс. кл/мл в середине сосуда, а на выходе из него уменьшалось до 100 клеток в 1 мл.

Очистка сточных вод в прудах. Результаты экспериментальных работ по моделированию процессов самоочищения от металлов в условиях лабораторной проточной системы легли в основу нескольких проектов строительства биологических прудов для доочистки слива хвостохранилищ при обогатительных фабриках. Ряд проектов приведен ниже. Слив одного из хвостохранилищ составлял 7500 м³/сутки со средним содержанием меди 5 мг/л и цианидов 10 мг/л. Для его очистки запроектирован 3-секционный окислительный пруд общей площадью 75 тыс. м². Рабочая глубина пруда 1 м, но для эксплуатации в зимних условиях предусмотрена возможность его заполнения на глубину 3 м. Для интенсификации процессов жизнедеятельности гетеротрофных микроорганизмов осуществляется принудительная аэрация сточных вод, подача свекловичной патоки и культивирование прибрежно-водной растительности.

Для интенсификации процессов очистки стоков во вторичном отстойном пруду другого хвостохранилища на площади 34,6 га произведено скашивание тростника, что позволило значительно снизить концентрацию меди, мышьяка и молибдена в воде. Активность осаждения ионов металлов из раствора связана с развитием микроорганизмов в воде и иле пруда и с растительностью. Так, если в начале биологического пруда, где нет растительности, количество микроорганизмов составляет в среднем 500–1000 клеток в 1 мл, то в зоне, занятой водной растительностью, их число возрастает до 50–80 тыс. клеток в 1 мл. Донные осадки, естественно содержат больше микроорганизмов, чем водная фаза. В начале пруда, не занятой растительностью, в донных отложениях содержится небольшое количество микроорганизмов — 200–400 тыс. на 1 г сухого ила, тогда как в верхнем слое ила в зоне корневой системы растений количество их резко увеличивается, составляя в среднем 194–400 млн. в 1 г. ила.

Под действием микроорганизмов воды и ила биологического пруда идет процесс очистки воды от ионов металлов. Наблюдения за изменением химического состава воды по мере прохождения промышленных стоков через биологический пруд показали, что скорость очистки от металлов в различных зонах пруда неодинакова (рис. 7.1). На начальном участке пруда, не занятом растительностью, концентрация металлов в стоках изменяется незначительно. Так, после того, как ионы металлов поступают в зону, занятую водной растительностью, интенсивность очистки резко возрастает. Это согласуется с увеличением в этой зоне численности микроорганизмов, минерализующих органическое вещество. Осаждающийся металл накапливается в донных осадках преимущественно в связанной с органическим веществом форме, а также в виде сульфидов.

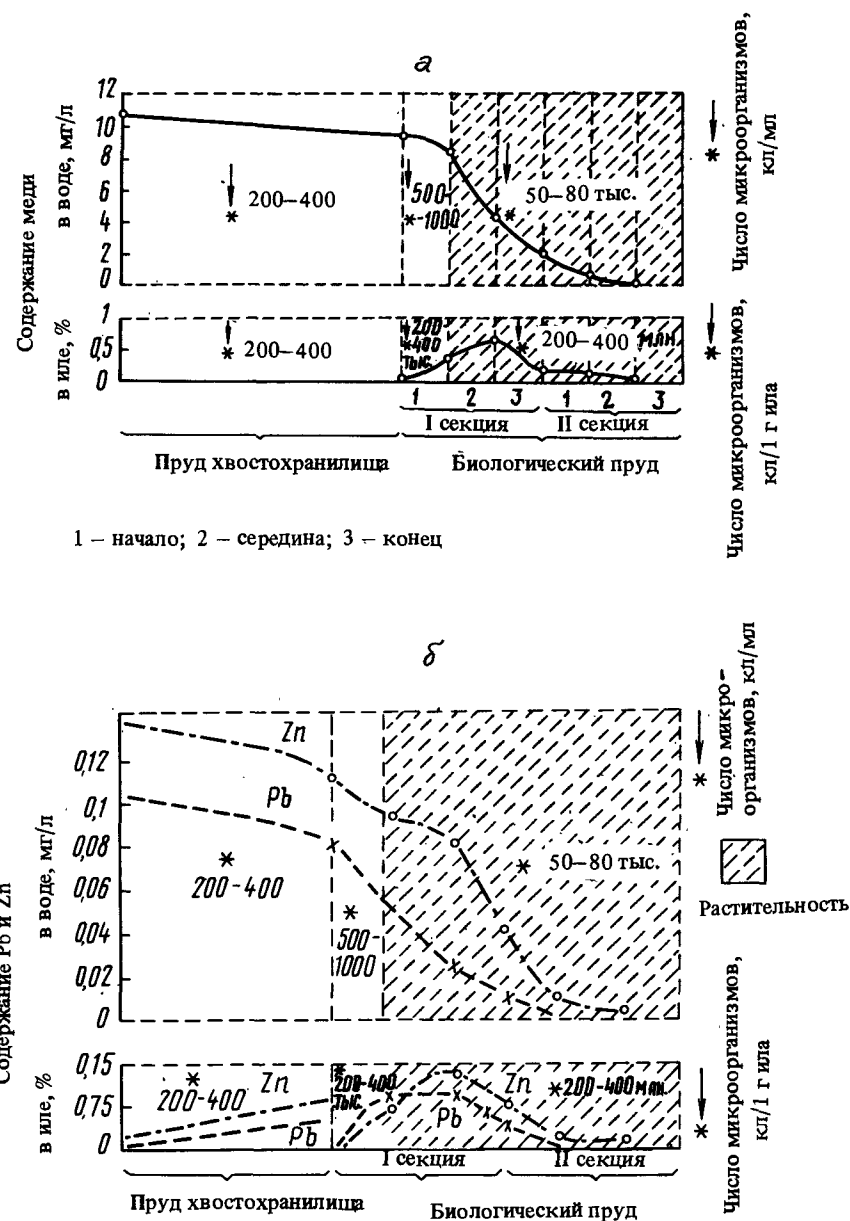


Рис. 7.1. Динамика содержания меди (а), свинца и цинка (б) в воде и илах очистных сооружений предприятия цветной металлургии

7.1.2. Использование активного ила для осаждения ионов металлов

Активный ил обладает большой сорбционной емкостью по отношению к тяжелым металлам, что позволяет использовать его для удаления металлов из сточных вод. Наиболее активное поглощение ионов ртути происходит в вариантах с илом, выдержанном при 100°C в течение 2 и 3 часов. Ил, который прогревали 2 часа, через 15 минут адсорбировал 90% ртути из раствора. После термообработки в течение 3 часов, за 6 часов было извлечено 62% ртути (рис. 7.2). Активный ил и сам по себе без термической обработки может быть использован в качестве адсорбента ионов ртути на стадии, предшествующей биологической очистке. Для этого может быть использован избыточный активный ил, который обычно вывозится на иловые площадки. Контакт сточной воды с избыточным илом может происходить в первичных отстойниках. Схема подачи активного ила в первичные отстойники для предварительной сорбции ионов ртути в количестве 25 тыс. м³/сутки была внедрена на очистных сооружениях ацетальдегидного производства. В результате эффект осаждения ртути в первичных отстойниках

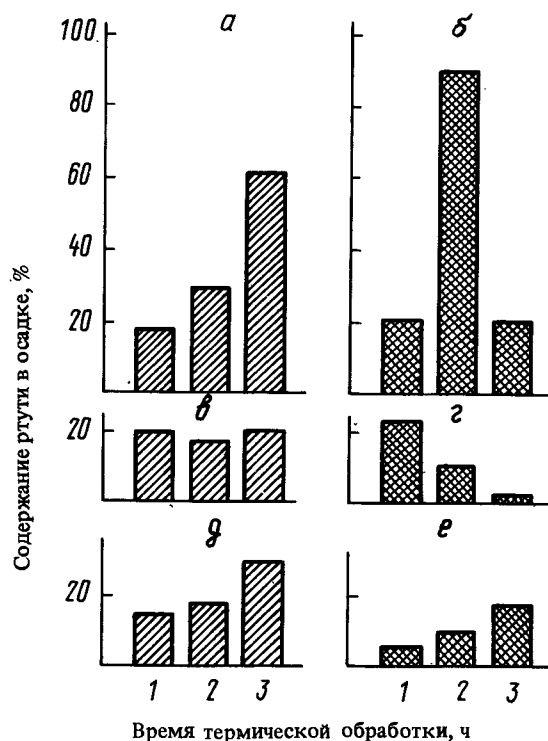


Рис. 7.2. Поглощение ионов ртути активным илом из раствора через 6 часов (а, в, д) и 15 минут (б, г, е) после предварительной термической обработки при 100°C (а, б), 150°C (в, г), 200°C (д, е)

увеличился на 40%. Нагрузка по органическим загрязнителям при этом снизилась на 30%.

Для извлечения ионов ртути из сточных вод использовали также концентрированную биомассу *Micrococcus luteus*, агрегированную латексом, т. е. искусственно созданные биофлоры. Агрегированные в флоры клетки бактерий позволили адсорбировать 85% ионов ртути за 12 часов. Сточную воду, содержащую производственные концентрации ртути (0,65–0,7 мкМ), смешивали с биофлорами в течение 15 минут, затем отстаивали в течение 30 минут. Адсорбция ртути при этом составила 92%.

Результаты лабораторного эксперимента по адсорбции ионов ртути искусственными биофлорами *M. luteus* были проверены в условиях очистных сооружений ацетальдегидного производства. Биомассу *M. luteus* получали в ферментерах, затем флокулировали с помощью дивинилстирольного латекса, высушивали или концентрировали до пастообразного состояния. Биомасса испытывалась в лабораторных условиях на сточной воде с содержанием ртути 0,638 мкМ. При содержании биомассы 0,7 г/л после 15-минутного перемешивания и 30-минутного отстаивания концентрация ртути в сточной воде снижалась на 65–68%.

При проведении полупромышленных испытаний осаждения ртути доза флор равнялась 0,3 г/л. На входе в отстойник концентрация ртути в сточной воде составляла 2,37 мкМ. Через 30 минут содержание металла в опытном отстойнике снизилось до 0,723 мкМ, а в контрольном (без биофлор) только до 2,24 мкМ, то есть искусственные биофлоры адсорбировали 69,5 % ртути из сточной воды. Указанная выше исходная концентрация ртути соответствует одновременному ее сбросу. Поэтому извлечение из стока за 30 минут до 70% металла при дозе биофлор 0,3 г/л является доказательством эффективности применения концентрированной микробной массы для экстракции ртути.

7.1.3. Осаждение металлов в виде сульфидов

При развитии гетеротрофных микроорганизмов, поглощающих растворенный кислород, подготавливается почва для развития анаэробов в водной толще и особенно в иловых отложениях. При этом сульфатредуцирующие микроорганизмы наиболее активно участвуют в осаждении металлов.

И. В. Катаева [12] показала возможность применения сульфатредуцирующих бактерий для очистки шахтных вод. Добавление биогенных элементов, содержащихся в хозяйственно-бытовых водах, интенсифицирует процесс биологической очистки, причем наиболее эффективно очистка происходила при температуре 20°C.

Ниже приводятся примеры использования процесса бактериальной редукции сульфатов в очистке промышленных сточных вод от меди [8, 9, 15, 16]. Была использована сточная вода отстойного пруда хвостохранилища, содержащая 0,08 мг/л меди и 1200 мг/л сульфатов. Для обеспечения углеродного питания микроорганизмов в воду добавляли лактат кальция из расчета 5 г/л. Указанная среда использовалась для выращивания суль-

фатредуцирующих бактерий. После ее стерилизации в трубки со средой вносили инокулят. Контролем служила стерильная среда. При засеве среды суспензией сульфатредуцирующих бактерий через несколько недель наблюдалось усиленное образование сероводорода и выпадение осадка черного цвета. Концентрация меди в растворе снижалась с 0,08 до 0,02 мг/л. В отфильтрованном осадке содержалось 0,26 мг/л меди. В стерильном контроле медь из раствора не осаждалась.

Главным фактором, регулирующим численность сульфатредуцирующих бактерий, служит обеспеченность их доступным органическим веществом. В сточную воду из хвостохранилища мы добавляли сахарозу, мелко измельченный тростник, тростник с сернокислым аммонием. Во все варианты вносили чистую культуру сульфатредуцирующих бактерий *Desulfovibrio desulfuricans*.

В целях стимулирования жизнедеятельности гетеротрофных, в том числе сульфатредуцирующих микроорганизмов, на пути течения промышленных стоков вторичного отстойного пруда обогатительной фабрики было проведено скашивание тростника. Благодаря внесению в водную толщу дополнительного количества органического вещества и его разложению в отдельных участках с высокой концентрацией растительных остатков наблюдалось снижение величины окислительно-восстановительного потенциала.

В таких местах численность гетеротрофов увеличивалась до 10^5 – 10^6 кл/мл, появлялись сульфатредуцирующие бактерии в количестве 10^2 кл/мл. Содержание кислорода снижалось с 5,6 мг/л в открытой части пруда до 2,1 мг/л у предполагаемого выпуска стоков. В открытой части сероводорода в воде не было, в местах повышенного содержания остатков камыша обнаруживали до 5,1–6,8 мг/л H_2S , на выпуске стоков количество меди в воде снижалось до очень низких величин – 0,014 мг/л, что удовлетворяет требованиям по очистке стоков предприятий цветной металлургии.

В ходе эксперимента была выявлена прямая зависимость между численностью сульфатредуцирующих бактерий, наличием в среде доступного для них органического вещества и снижением концентрации меди в растворе до нулевых значений.

Первые этапы минерализации органического вещества растительных остатков осуществляются анаэробными гетеротрофными микроорганизмами, продукты жизнедеятельности которых активно реагируют с металлом и осаждают его. По мере развития микроорганизмов растворенный в воде кислород расходуется на окисление органического вещества, величина окислительно-восстановительного потенциала падает. При значительном дефиците кислорода затрудняется деятельность аэробных сапрофитов, начинают развиваться анаэробы, среди которых сульфатредуцирующие бактерии образуют сероводород, осаждающий металл.

Отдельные производства и промышленные предприятия (бумажные фабрики, производство хлора и щелочей) в своих стоках содержат ионы тяжелых металлов, например ртути, в десятки – тысячи раз больших количествах, чем в обычных водоемах. В большинстве случаев из всего комплекса цехов крупного промышленного предприятия лишь один-два являются источниками загрязнения ионами тяжелых металлов. Такие стоки приходится

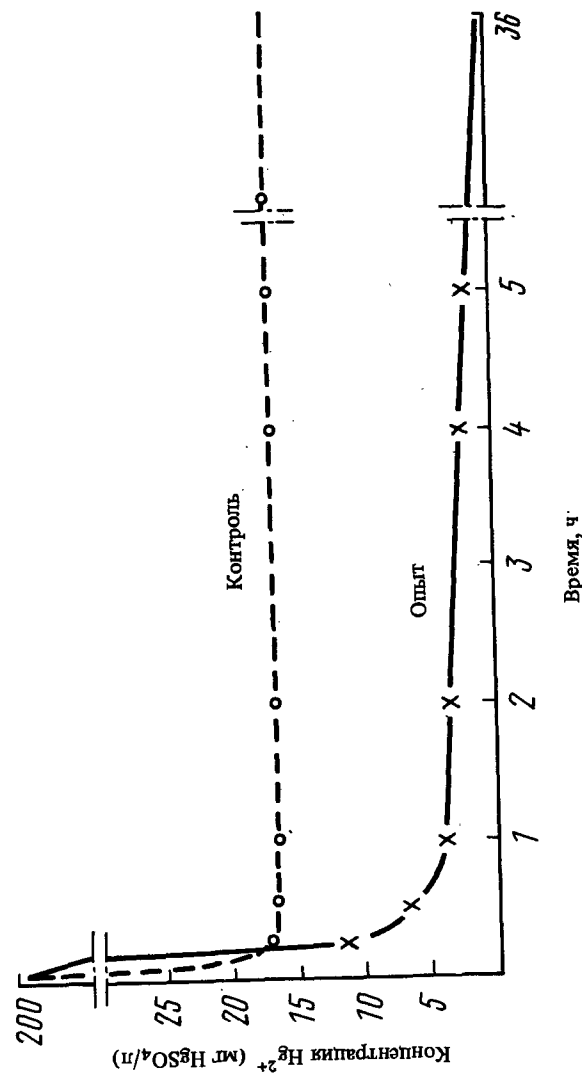


Рис. 7.3. Осаждение ртути сероводородом бактериального происхождения

многократно разбавлять для обеспечения нормальной работы микроорганизмов очистных сооружений. Во избежание этого следует осуществлять локальную очистку стоков таких цехов. Спонтанная популяция сульфатредуцирующих бактерий на отдельных участках технологической цепи очистных сооружений промышленного предприятия подвергается риску гибели при внезапном возникновении экстремальных условий: залпового сброса токсикантов, резкого изменения pH, Eh или температуры сточной воды. В случае стоков с повышенным содержанием ионов тяжелых металлов предполагается культивировать сульфатредуцирующие бактерии в емкостях из полупроницаемой мембраны, например целлофана, и располагать их в очищаемой сточной воде на пути стока растворов, содержащих ионы тяжелых металлов [3, 7]. Полупроницаемая мембрана в данном случае предохраняет микроорганизмы от вредного воздействия внешних факторов, не препятствует диффузии сероводорода в сточную воду. В лабораторных условиях изучали осаждение ионов ртути, меди, свинца, кадмия, кобальта при их концентрации в растворе, превышающем на 3–4 порядка их содержание в производственной сточной воде. На рис. 7.3 показано, как идет осаждение ртути культурой сульфатредуцирующих бактерий, выращиваемой в целлофановой емкости (опыт) и в емкости из трехслойной хроматографической бумаги (контроль) при исходной концентрации Hg (II) 200 мг/л в виде HgSO₄. Объем воды составлял 7 литров в опыте и контроле. В контрольном варианте осаждение ртути практически прекратилось по истечении 15 минут вследствие попадания ионов металла внутрь емкости, где выращивались микроорганизмы. В опыте за 5 часов концентрация ионов ртути уменьшилась в 50 раз с момента прекращения осаждения в контроле и в 1000 раз от начала эксперимента.

Культивирование сульфатвосстанавливающих бактерий в емкостях с добавлением органических соединений служит эффективным средством очистки промышленных сточных вод, содержащих тяжелые металлы в частности вольфрам и молибден [11]. В качестве источников органического питания используют керосин, олеиновую кислоту, терпиениол, ксантогенат натрия. Биохимическую очистку сточных вод осуществляют в установке, состоящей из емкости (биотенка) для культивирования микроорганизмов, емкости для сырья и отстойника. Очистка происходит в течение 10 дней непрерывно в анаэробных условиях при постоянной циркуляции активного ила. Скорость потока жидкости 0,5 л/ч. Температура в биотенке 18–20°C, скорость перемешивания не более 96 об/мин. Культура сульфатредуцирующих бактерий, выделенная из Ромашкинского нефтяного месторождения, предварительно адаптировалась к источникам углеродного питания, а затем к ионам вольфрама и молибдена. Степень очистки от этих ионов тяжелых металлов достигает 94–98%.

7.1.4. Окисление и/или восстановление металлов

Очистка сточных вод от мышьяка. Сточные воды многих предприятий цветной металлургии содержат мышьяк в трехвалентной форме в виде арсенитов, которые более растворимы, чем арсенаты [5]. Поэтому для пол-

ной очистки необходимо перевести мышьяк в пятивалентную форму, то есть окислить.

Известен пиролюзитно-фосфатный метод очистки растворов от мышьяка. Схема очистки включает следующие операции:

- 1) окисление арсенитов пиролюзитом (MnO₂);
- 2) осаждение арсенита известковым молоком в присутствии фосфат-ионов в виде смешанных арсенитов и фосфатов кальция.

В результате образуются практически нерастворимые осадки пятивалентного мышьяка.

Однако использование пиролюзита в качестве химического окислителя имеет ряд недостатков. Ионы Fe, Cu, Zn и As и других металлов сорбируются на поверхности пиролюзита. Это постепенно приводит к уменьшению окислительной способности пиролюзита. Также происходит зашламливание поверхности его зерен. Поэтому колонки с пиролюзитом необходимо регенерировать через 72 часа работы 10-процентной серной кислотой [4]. Для активного окисления арсенита пиролюзитом, концентрация его в сточных водах не должна превышать 100–150 мг/л. При большей его концентрации не достигается полное окисление трехвалентного мышьяка и он обнаруживается в фильтрате. Исходная же концентрация арсенита в стоках, поступающих из сернокислого цеха, составляет 2000–3000 мг/л, что вызывает необходимость разбавлять промышленные стоки до требуемой концентрации мышьяка.

В связи с этим большой интерес представляет использование в процессах очистки сточных вод от мышьяка микроорганизмов. Для этих целей может быть использован *Pseudomonas putida* 18, окисляющий As (III) при слабощелочной и нейтральной реакции среды [1, 10].

Для того, чтобы микроорганизмы не вымывались сточными водами, их адсорбируют на древесных стружках. Опыт в окислительных колонках с пропусканием растворов через древесную стружку проводили без добавления органического вещества. На протяжении месяца бактерии активно окисляли арсенит при использовании в качестве адсорбентов пластмассы и древесной стружки при скорости потока 1 л в сутки и рабочем объеме колонки 2 л. Прекращение аэрации резко снижало скорость окисления арсенита.

Полученные данные показывают возможность использования адсорбированных клеток микроорганизмов для окисления арсенита в промышленных сточных водах.

Очистка сточных вод от хрома [13, 14]. Основные характеристики способа биологической очистки хромсодержащих сточных вод приведены в табл. 7.2.

В качестве примера можно привести опытно-промышленные испытания технологии на автозаводе „Коммунар” в г. Запорожье (рис. 7.4).

Установка производительностью 47 м³/ч работает с 1976 г. Бытовая сточная вода со средним значением БПК (биологическое потребление кислорода) 100 мг/л поступает в отстойник 1 и затем самотеком в камеру смешения 3. В камеру смешения поступают также хромсодержащие сточные воды, предварительно усредненные и освобожденные от крупных час-

Таблица 7.2

Условия очистки сточных вод от хрома

Показатели	Основные характеристики технологии
Субстрат	Хромосодержащие воды и бытовые сточные воды как источник органического вещества
Культура бактерий	<i>Pseudomonas dechromaticans</i>
Реагенты	Специальные реагенты не требуются
Условия процесса восстановления	Анаэробные
Время реакции $\text{Cr}^{6+} \rightarrow \text{Cr}^{3+}$	От 0,5 до 4 часов (зависит от исходной концентрации Cr^{6+}) 1 г хромата калия восстанавливается за 3 суток одним г сухого вещества биомассы
Температура	20–25°C
pH	7,7–8,3
Коррозионно-стойкое оборудование	Не требуется. Основные сооружения – железобетонные
Расход электроэнергии	Незначителен
Капитальные затраты и стоимость оборудования	Снижаются в 3–5 раз по сравнению с существующими способами
Эксплуатационные затраты	Снижаются в 5–7 раз на м ³ обезвреживаемой воды
Стоимость очистки 1 м ³ хромосодержащих вод	5–10 копеек

тиц, а также активный ил. Последний поступает из отстойника очищенных стоков 4. Расход хромосодержащих сточных вод контролируется расходомером.

Смесь вод и активного ила в камере смешения разделяется на два потока и поступает в бак 6, в котором при постоянном перемешивании Cr^{6+} восстанавливается до Cr^{3+} . Вода с гидроокисью хрома и активным илом поступает в отстойник 4. Часть активного ила после осаждения возвращается в камеру смешения, а избыток сбрасывается в резервуар станции перекачки 2. В этот резервуар поступает и очищенная от Cr^{6+} вода из отстойника бытовых стоков 1.

Смесь стоков поступает в городскую канализацию.

Очистка хромосодержащих сточных вод происходит устойчиво. Концентрация Cr^{6+} в камере смешения колеблется от 10 до 40 мг/л, а в отстойнике очищенных стоков – от 0,04 до 0,2 мг/л.

Основные учитываемые факторы:

1. Температура.
2. Объем воды, поступающий в реактор, м³/сут.
3. Доза ила, г/л.
4. Концентрация Cr^{6+} в камере смешения, мг/л.
5. Концентрация Cr^{6+} в отстойнике очищенной воды, мг/л.

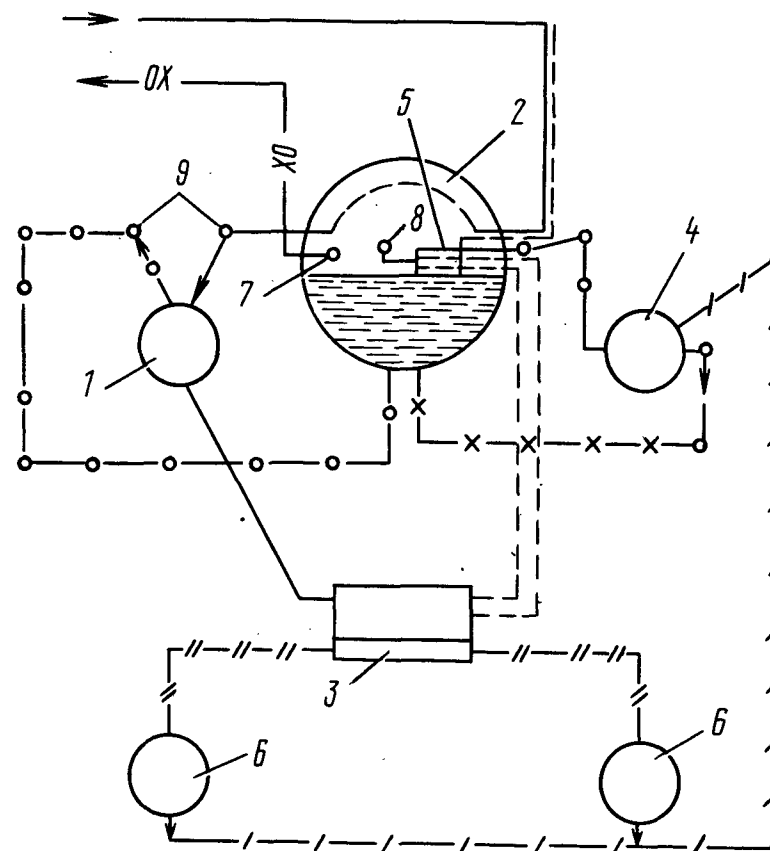


Рис. 7.4. Технологическая схема установки биологической очистки хромосодержащих сточных вод:

1 – отстойник бытовых сточных вод; 2 – станция перекачки; 3 – камера смешения; 4 – отстойник очищенных сточных вод; 5 – насос активного ила; 6 – биовосстановитель; 7 – насос для откачки вод и осадков; 8 – бак отработанного хромового электролита; 9 – распределительная камера

—	— бытовая вода из городской канализации, $Q=65 \text{ м}^3/\text{ч}$
- - -	- хромосодержащие сточные воды из цеха металлопокрытий, $Q=47 \text{ м}^3/\text{ч}$
— · —	— анаэробный активный ил
— " —	— смесь вод и активного ила
— / —	— вода с гидроокисью хрома и активным илом
— x —	— очищенная вода
— o —	— осадок бытовых вод
— ox —	— смесь воды и осадков – в городскую канализацию, $Q=112 \text{ м}^3/\text{ч}$

6. Концентрация Cr^{3+} в отстойнике очищенной воды, мг/л.

7. pH в реакторе.

Для восстановления Cr^{6+} может быть использован также *A. dechromatica* [13]. Целесообразно использовать микробные ассоциации, состоящие из *A. dechromatica* и выделенных из ила производственной установки *Rhodococcus rubropertinica*, *Micrococcus varians*, *Pseudomonas fluorescens*. Они способны утилизировать субстраты, не используемые монокультурой *A. dechromatica*, например, γ -бутиролактон, являющийся отходом органического синтеза на основе природного газа. Имобилизация бактерий значительно увеличивает скорость восстановления Cr^{6+} (на керамзите K_3 — до 9 раз).

7.2. БИОСОРБЦИЯ МЕТАЛЛОВ

В основе биосорбции металлов лежат процессы взаимодействия их с поверхностными структурами клеток микроорганизмов, микробными метаболитами и экзополимерами.

7.2.1. Сорбция металлов экзополисахаридами

Экзополисахариды бактерий активно аккумулируют металлы из растворов [18–20, 21–23, 24, 29–31, 33, 36]. Ниже приводятся примеры использования их для извлечения из растворов ряда цветных металлов и радиоактивных элементов.

Экзополисахариды *Zoogloea ramigera* [29–31]

Приготовление биомассы. Использовали культуру *Z. ramigera* 115 (ATCC 25935), образующую большое количество экзополисахаридов при росте на среде с углеводами. Указанный штамм поддерживают периодическими пересевами на триптиказосоевом агаре, а биомассу наращивают в ферментере на среде следующего состава (в г/л): глюкоза — 25; K_2HPO_4 — 2; KH_2PO_4 — 1; NH_4Cl — 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2; дрожжевой концентрат — 0,01 при температуре 26°C, перемешивании 800 об/мин и продувании воздуха (0,5 объема/объем/мин.). Продолжительность культивирования — 120 часов. При общем выходе биомассы из 3-х литров культуральной среды 17,5 г/л вес клетки составляет 2,5 г/л, а вес экзополисахаридов — 15 г/л.

Биомассу отделяют от культуральной жидкости центрифугированием ($11,4 \cdot 10^3$ г в течение 10 мин) или отстаиванием с последующей декантацией. Осадок промывают дистиллированной водой и используют в экспериментах. Отмытый препарат не теряет свойств при хранении его в замороженном состоянии.

Сорбция меди, кадмия и урана. Навеску отмытой биомассы примерно 0,83 г (в пересчете на сухую биомассу) вносят в растворы, содержащие определенные концентрации отдельных солей металлов ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{CdSO}_4 \cdot 8/3\text{H}_2\text{O}$, $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$) или их смесь. Устанавливают pH раствора, используя 0,05 М раствор бората натрия. Затем раствор перемешивают

(800 об/мин) в течение 15 минут. Насыщение биомассы и ее флокуляция осуществляются в течение 15 минут и дальнейшее увеличение времени экспозиции не меняет концентрации сорбированного металла.

После трехкратной обработки раствора, содержавшего 0,525 г/л Cu^{2+} , биомассой в концентрации 0,83 г/л при pH 4,7–5,5, концентрация Cu^{2+} в растворе снижается до 0,01 г/л.

Емкость биомассы в этих экспериментах составляла 0,323 г Cu и 0,223 г Cd на г сухой биомассы.

Сорбция отдельных металлов происходит при разных значениях pH. Так, оптимальные значения pH для сорбции U, Cd и Cu равны соответственно 3,5; 5,5 и 6,5.

Селективное извлечение Cu, Cd и U из растворов при их совместном присутствии достигается регулировкой значений pH. Для этого к раствору, содержащему 0,5 г/л Cd^{2+} , 0,308 г/л Cu^{2+} и 1,28 г/л UO_2^{2+} , имеющему pH 3,1, при непрерывном перемешивании добавляли биомассу бактерий до конечной концентрации 0,83 г/л (по сухому весу). Через 15 минут флокулировавшую биомассу отделяли центрифугированием и обработку повторяли при том же pH. После четырехкратной обработки при pH 3,1 концентрация урана в растворе снижалась до 0,0005 г/л. Сорбция урана достигала 0,37 г/г биомассы (по сухому весу).

Медь из этого раствора удаляется после 4–5 флокуляций при pH 4,7–5,5. Кадмий наиболее эффективно удаляется после шестикратной обработки при pH 6,5. Емкость 1 г сухой биомассы составляла 0,171 г Cd. Общая концентрация сорбированных из растворов металлов составила 2,06 г при концентрации сухой биомассы 6,13 г.

Ионы Na^+ и Mg^{2+} не влияли на сорбцию меди, но добавление 10 мМ Al^{3+} снижало количество сорбированной меди от 0,305–0,323 до 0,241 г/г биомассы (по сухому весу).

Регенерация биомассы. Отделенные от раствора флоксы биомассы с сорбированными металлами разбавляют дистиллированной водой (объем/объем), устанавливают значения pH 3,0–4,0 добавлением HCl и перемешивают в течение 15 мин. Скорость перемешивания не должна превышать 100–150 об/мин, чтобы избежать разрушения флоков и растворения экзополисахаридов. В указанном диапазоне значений pH сорбированные Cd и Cu переходят в раствор, который отделяется от флоков центрифугированием или декантацией. Флоксы биомассы растворяют в воде при интенсивном перемешивании (800 об/мин) и повторно используют для осаждения металлов.

Эмульсан и эмульсанзоль

Эмульсан — полианионный гетерополисахарид, основными компонентами которого являются N-ацетил-D-галактозамин (25%) и N-ацетил-аминоуроновая кислота (33%) [37]. Эмульсан проявляет сорбционную активность по отношению к металлам и может использоваться в качестве биосорбента как в виде гомогенных водных растворов, так и в виде эмульсий с углеводородами (эмульсанзоль) [25]. Причем активность эмульсанзоля в сорбции урана превышает таковую эмульсана [36].

Получение эмульсана. Продуцентом эмульсана является культура *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 (ATCC 31012). Культивирование осуществляют на среде с этанолом. Из культуральной жидкости эмульсан выделяют высаливанием серноокислым аммонием [33].

Для получения очищенных препаратов эмульсана используют следующий метод [37]. Культуральную жидкость отделяют от бактериальных клеток, выпаривают и полученный сухой осадок обесцвечивают, промывая его в подогретом этаноле, затем растворяют в 80-процентном этаноле и осаждают добавлением насыщенного раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ в 90%-ном этаноле. Осадок эмульсана растворяют в 80-процентном этаноле и повторно осаждают. Полученные препараты эмульсана очищают от белков, обрабатывая их горячим раствором фенола [37] с последующим диализом в течение ночи против 0,02 н HCl при 40°C и затем против дистиллированной воды. При выделении и очистке эмульсана указанным способом не происходит его деполимеризации. Полученный препарат содержит 1–2% белка и менее 3% зольных элементов.

Связывание урана эмульсаном [36]. Водные растворы эмульсана (1 мг/мл) и уранилнитрата (0,2–1,7 мкМ/мл) инкубировали при температуре 27°C в течение 1 часа при перемешивании на качалке (100 об/мин). Затем эмульсан отделяли от раствора ультрафильтрацией, используя мембранные фильтры CF-50A Diaflo. При исходном содержании UO_2^{2+} в растворе менее 100 мкг/мл свыше 90% его связывается эмульсаном. Максимальная сорбционная емкость 1 мг эмульсана – 0,9 мкМ UO_2^{2+} .

Одновалентные и двухвалентные катионы Li^+ , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Ba^{2+} , Rb^+ существенно не влияют на способность эмульсана связывать UO_2^{2+} .

Получение эмульсанзоля [36]. Эмульсанзоль получают, подвергая обработке ультразвуком (35–40W в течение 60–75 сек) смесь 1,5 мл гексадекана и 8,5 мл водного раствора, содержащего 5,5–6,0 мг эмульсана, 0,02 М трис-буфера (pH 7,2) и 0,01 М MgSO_4 . После отстаивания в течение 24 часов эмульсию центрифугировали при 8000 g в течение 20 мин. Верхний слой – эмульсанзоль – имел следующий состав: 1,5–2,0 мг эмульсана/мл, 38–45% воды, 55–62% гексадекана. Эмульсия гексадекана в воде, не стабилизированная эмульсаном, разрушается в течение 1 часа. Эмульсанзоль сохраняет стабильность в течение нескольких суток.

Связывание урана эмульсаном. Для изучения способности эмульсанзоля связывать UO_2^{2+} 1 мл свежеприготовленного эмульсанзоля смешивали с равным объемом раствора уранилнитрата, содержащего известные концентрации UO_2^{2+} , и инкубировали в стационарных условиях при 23°C в течение 18–20 ч. Затем эмульсанзоль отделяли центрифугированием при 8000 g в течение 20 мин и определяли концентрацию Урана в водной фазе. Активность эмульсанзоля в связывании UO_2^{2+} значительно превышает таковую эмульсана и характеризуется следующими показателями. 50 мкл эмульсанзоля, содержащие 90 мкг эмульсана, поглощают 3,55 мкМ UO_2^{2+} из раствора с концентрацией UO_2^{2+} 0,33 мМ. Степень очистки раствора возрастает с возрастанием концентрации эмульсанзоля. При внесении в раствор с 16,8 мкг UO_2^{2+} /мл 50 и 75 мкл/мл эмульсанзоля (содержание эмульсана

75 и 113 мкг/мл соответственно) концентрация UO_2^{2+} в растворе снизилась до 1,9 и 1,2 мкг/мл соответственно.

Эмульсия гексадекана в воде, стабилизированная метилцеллюлозой, в 2,5 раза менее активно связывает уран, чем эмульсанзоль.

По активности связывания урана эмульсанзоль превосходит также и другие биосорбенты микробиологической природы. Так, если препараты хитина из клеточных стенок *Rhizopus arrhizus* связывают 6 мг UO_2^{2+} /г, мицелий *R. arrhizus* связывает 180 мг UO_2^{2+} /г, то 1 г эмульсана в эмульсанзоле связывает 800 мг UO_2^{2+} . При исходной концентрации UO_2^{2+} в растворе 15 мкг/мл однократная обработка эмульсаном позволяет снизить концентрацию UO_2^{2+} до 1 мкг/мл. Для приготовления эмульсанзоля вместо гексадекана можно использовать разнообразные природные и синтетические углеводороды [35], что снизит стоимость препарата.

Влияние pH. Способность эмульсана и эмульсанзоля связывать UO_2^{2+} снижается при значениях pH ниже 4,0. При этом в растворе эмульсана при pH 1,0 более 50% UO_2^{2+} остается связанным, тогда как в системе с эмульсаном при pH 3,0 более 70% урана ресорбируется и переходит в водную фазу.

Регенерация эмульсанзоля. Использованный эмульсанзоль можно регенерировать при pH 2,0, когда более 90% связанного урана десорбируется. При этом в раствор переходит до 10% эмульсана. Эмульсан – экологически безопасный препарат, т. к. не содержит фосфора, не токсичен и легко подвергается биodeградации. Зосим и др. [36] полагают, что эти показатели свидетельствуют о перспективности использования эмульсанзоля в технологических схемах очистки сточных вод от урана.

7.2.2. Биосорбенты на основе биомассы микроорганизмов

7.2.2.1. Очистка раствора от урана и нитратов денитрифицирующими бактериями

Иммобилизованная на частицах каменного угля биомасса денитрифицирующих бактерий может использоваться для очистки промышленных сточных вод от урана [34] и нитратов [36].

Сорбция урана. Для получения иммобилизованной биомассы использовали смешанную культуру денитрифицирующих бактерий. Культивирование осуществляли в реакторах кипящего слоя [26] на жидкой среде с частицами антрацита размером 30–60 меш. В качестве питательной среды могут использоваться нитратсодержащие промышленные сточные воды, к которым в качестве источника углерода и энергии добавляют этанол в концентрации 250–500 г/м³ и NaNO_3 – 500–5000 г/м³. В реакторе поддерживается температура 25°C . Бактерии развиваются в виде пленки, покрывающей частицы угля, причем вес иммобилизованной биомассы не должен превышать 5–10% от веса частиц сухого угля. Для устранения избыточной биомассы частицы с клетками пропускают через вибрационный грохот марки Sweco с диаметром отверстий 30 меш. Прошедшие через грохот частицы с иммобилизованной биомассой отделяют от среды центрифугированием или фильтрованием и используют для биосорбции урана.

В лабораторных условиях эксперименты проводили в периодическом режиме в колбах Эрленмейера на 250 мл (инкубация на качалке), в ферментерах фирмы „Нью-Брунсвик” (модель М19) с рабочим объемом 7 л, снабженных мешалкой и устройством для контроля pH и температуры, или в 7-литровой цилиндрической емкости с коническим дном, в которой перемешивание осуществляли продуванием воздуха. В растворе, содержащем определенную концентрацию $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$, поддерживали pH равным 4,0, ионную силу раствора, равной 1,0 М, используя азотную кислоту, гидроксид аммония и нитрат натрия. Температуру поддерживали 40°C. В этот раствор вносили суспензию иммобилизованных клеток и через определенные промежутки времени отбирали образцы для анализа. Отобранные образцы центрифугировали при 21000 g в течение 10 мин. и в надосадочной жидкости определяли концентрацию остаточного урана.

Одновременно в пробе равного объема определяли биомассу. Для этого покрытые биомассой частицы угля отделяли от раствора центрифугированием, отмывали водой, чтобы устранить неприсоединенную биомассу, высушивали 24 часа при 105°C, охлаждали до комнатной температуры и взвешивали. Затем эти образцы вымачивали в 4 М NaOH в течение 4-х часов, чтобы десорбировать иммобилизованную биомассу. Очищенные частицы угля промывали водой, высушивали при 105°C в течение 24 часов и взвешивали после охлаждения. Биомасса вычислялась как разность между весом частиц, покрытых клетками, и частиц, отмываемых от них.

В условиях данных экспериментов за 15 мин 1 г биомассы (по сухому весу) сорбирует 0,14 г U. Изменение температуры от 25 до 50°C не влияет на активность сорбции урана.

Биосорбцию урана в непрерывном режиме проводили в реакторе колонного типа (рис. 7.5), представлявшем собой стеклянную трубку диаметром 5 см и высотой 1 м. Частицы биосорбента подавались с постоянной скоростью в верхнюю часть реактора. Раствор, содержащий 25 г/м³ урана поступал в нижнюю часть реактора. Частицы биосорбента со связанным ураном оседают на дно реактора, откуда периодически удаляются. Очищенный раствор, содержащий 0,5 г/м³ урана, отводится из верхней части реактора. Процесс осуществляется при температуре 22–24°C. Оптимальный для биосорбции pH раствора находился в пределах значений 3,0–4,0. За время контакта 8 мин сорбируется до 98% урана.

Очистка сточных вод от нитратов [26]. Промышленные сточные воды, в том числе и образующиеся при производстве ядерного топлива, нуждаются в очистке от нитратов. Для этого могут быть применены денитрифицирующие бактерии, которые осуществляют превращение нитратов в газообразный азот. Ханчер и др. [26] использовали смешанную культуру денитрифицирующих бактерий, иммобилизованных на частицах антрацита.

Процесс денитрификации осуществляется в реакторах колонного типа из стекла Пирекс диаметром 5 или 10 см и высотой до 6 м. На рис. 7.6 представлена схема установки, включающей два колонных реактора с конусообразным дном. Реакторы состоят из секции, длиной 60 см, отвода для замены твердой фазы, отвода для удаления образующихся газов. Сточные воды, обогащенные этанолом (в концентрации, обеспечивающей отношение C/N

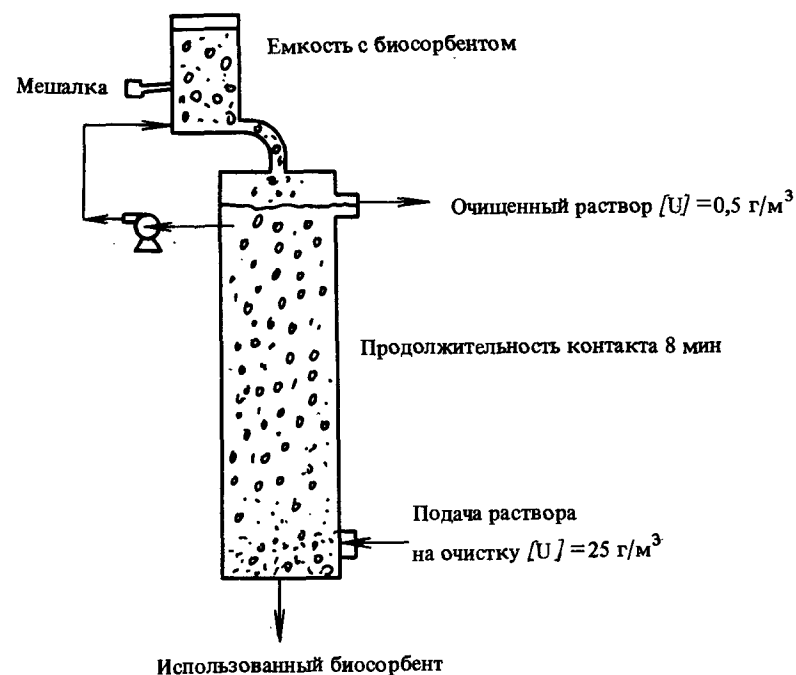


Рис. 7.5. Схема реактора для биосорбции урана денитрифицирующими бактериями, иммобилизованными на частицах каменного угля

равным 1,5), фосфором и микроэлементами, поступают на дно реактора со скоростью 800–1000 см³·мин⁻¹ в реакторах с диаметром 5 см и со скоростью 4000 см³·мин⁻¹ в реакторах с диаметром 10 см. Носитель с иммобилизованными клетками подается в верхнюю часть реактора. Частицы каменного угля с клетками бактерий поддерживаются во взвешенном состоянии в толще поступающего раствора, не оседая на дно. Рост клеток приводит к тому, что частицы полностью покрываются пленкой бактерий и тем самым затрудняется выделение в среду образующегося N₂. Частицы с накопившимися пузырьками газа всплывают в верхние слои среды в реакторе, откуда их периодически удаляют и пропускают через вибрационный грохот с диаметром отверстий 0,5 мм, затем снова возвращают в цикл. Наиболее активно процесс протекает, если концентрация иммобилизованных клеток не превышает 5–10% от веса частиц носителя. Клетки, не закрепленные на частицах угля, удаляются из реактора (верхней части) с потоком очищенных вод. Процесс осуществляется при температуре 22°C.

Повышение концентрации нитратов в среде от 200 до 7500 г/м³ при прочих равных параметрах повышает скорость денитрификации. Катионы Na⁺ и NH₄⁺ до концентрации 1 М не ингибируют денитрификацию.

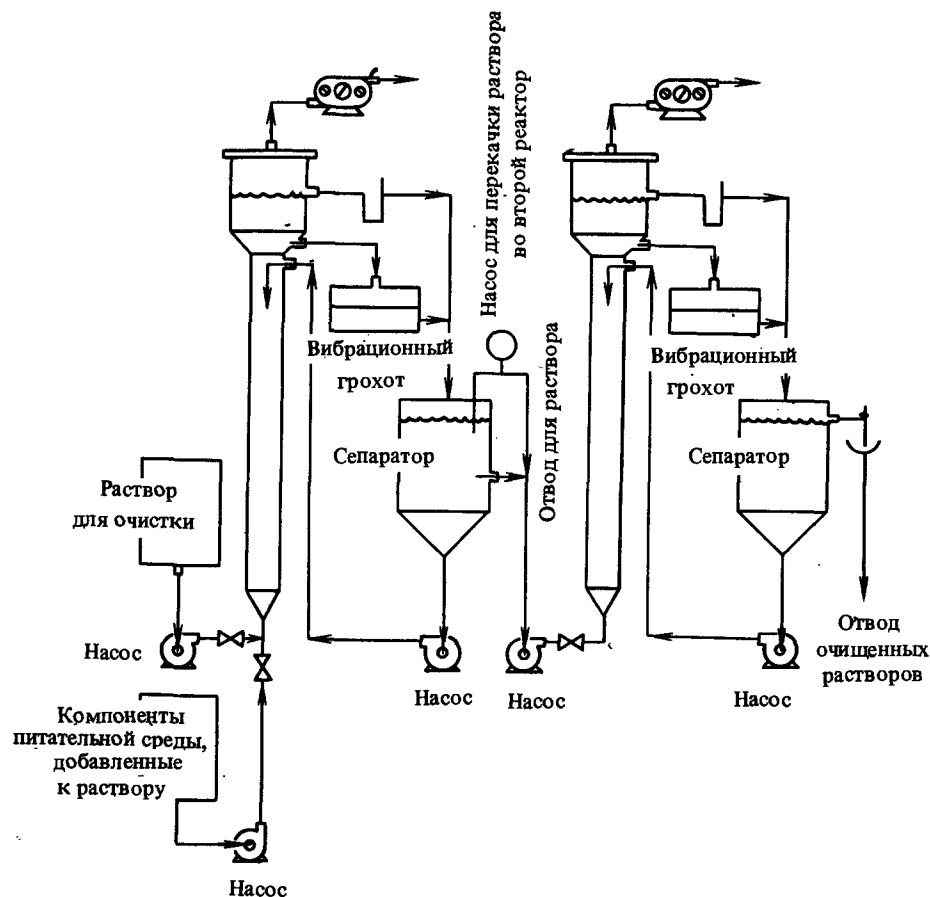


Рис. 7.6. Схема установки с двумя реакторами кипящего слоя

Авторы метода предлагают создать подвижную пилотную установку, состоящую из двух колонных реакторов диаметром 20 см и высотой 7 м. Она позволит получать на выходе растворы с концентрацией нитратов не выше $5-10 \text{ г/м}^3$ при исходной их концентрации 4000 г/м^3 и скорости потока 16 л/мин. Температура работающей установки должна поддерживаться на уровне $22-30^\circ\text{C}$.

7.2.2.2. Биосорбент М [2,27]

Для получения биосорбента М мицелий *Penicillium chrysogenum* (отход производства антибиотиков) подвергают обработке мочевиноформальдегидным поликонденсатом. В результате получают твердый продукт, в состав которого входят мицелий и его компоненты, поликонденсат и продук-

ты реакции мочевины и формальдегида с компонентами мицелия. Затем продукт измельчают до зерен размером $0,3-0,8 \text{ мм}$. Полученный препарат имеет гидрофильный характер — зерна набухают в воде и растворах электролитов. Препарат характеризуется высокой механической прочностью и устойчивостью к воздействию физико-химических параметров. Механизм связывания биосорбентом М катионов, в том числе и радиоактивных элементов, определяется следующими основными типами взаимодействий:

- 1) реакция замещения ионов;
- 2) комплексообразование;
- 3) сорбционно-осаждающий механизм.

Первый и второй типы взаимодействий аналогичны процессам, протекающим на ионообменных смолах.

Третий тип взаимодействия включает в себя как связывание катионов и анионов, так и одновременное образование осадков нерастворимых соединений на частицах и внутри частиц биосорбента М.

Авторы, предложившие данный препарат, показали возможность использования биосорбента М для очистки сточных вод от радиоактивных элементов в полупромышленной установке. Установка представляла собой две последовательно соединенные колонны, заполненные биосорбентом М. Сточные рудничные воды с радиоактивными элементами пропускали через установку с определенной скоростью. В этих условиях коммерческие препараты ионообменных смол не позволяли достигнуть нужной степени очистки, чтобы концентрация U не превышала $0,05 \text{ мг/л}$, а концентрация Ra — $3-30$ пикокюри/л. Тогда как биосорбент М обеспечивает нужную степень очистки. В течение одного цикла 1 объем биосорбента М очищает $800-1200$ объемов раствора. Емкость биосорбента М в данных испытаниях составила 5 г U/кг сухого препарата. Максимальная емкость колеблется в пределах $80-120 \text{ г U/кг}$ сухого препарата при содержании в исходном растворе 1 г/л U .

При средней концентрации радия в исходном растворе 396 пикокюри/л 1 объем биосорбента очищал $1000-1500$ объемов раствора.

Регенерацию биосорбента М осуществляют, элюируя связанный уран раствором, содержащим $10\% \text{ NaCl}$ и $0,5\% \text{ Na}_2\text{CO}_3$. Радий элюируют $0,1 \text{ н}$ раствором HCl .

7.2.2.3. Способ „АМТ-биоклейм” [17]

„АМТ-биоклейм” — способ очистки сточных вод и выделения металлов из растворов с помощью биосорбента, который получают из специальным образом обработанной биомассы микроорганизмов. Способ разработан фирмой „Advanced Mineral Technologies” (США). Обработанную биомассу высушивают, измельчают до гранул определенного размера ($-30+65$ меш) и используют для биосорбции цветных и благородных металлов.

Лабораторные испытания. Стеклообразные колонки размером $16 \text{ мм} \times 20 \text{ см}$ заполняли $6,5 \text{ г}$ препарата биосорбента и пропускали через них растворы со скоростью 10 мл/мин , содержащие катионы металлов. Эксперимент прекращали тогда, когда извлечение металлов падало ниже 90% . Сравнительное изучение активности нескольких сорбентов, полученных по данному спо-

собу, показало (табл. 7.3), что активность их в сорбции металлов зависит от природы используемой биомассы. Биосорбенты готовили из следующих типов биомассы: 1 — биомасса, подготовленная по способу „АМТ-био-клеим”; 2 — биомасса — отход промышленных ферментаций; 3 — биомасса выращенных в лаборатории микроорганизмов; 4 — биомасса водорослей.

Таблица 7.3

Аккумуляция металлов различными типами биомассы
(концентрация катионов металлов в растворе 100 мг/л)

Металлы	Тип препарата			
	1	2	3	4
	аккумуляция (мг металла/г препарата)			
Ag	86	65	129	—
Cd	101	135	112	—
Cu	152	76	146	—
Pb	601	373	269	62
Zn	137	98	78	—

Наиболее активным в сорбции изученных металлов был препарат, полученный по способу „АМТ-био-клеим”, который эффективно очищал растворы, содержащие 9 мг/л Cu^{2+} (при pH 5,4) и 100 мг/л Pb^{2+} (при pH 3,87). Изменение содержания Cu, Cd, Zn и Pb в исходном растворе с 10 до 100 мг/л не влияет на эффективность сорбции их данным препаратом.

Эффективность сорбции меди возросла с повышением температуры до 90°C.

Опыты, проведенные в колонке, показали, что 6,5 г препарата без замены и регенерации аккумулируют 99% металлов при пропускании 50 л раствора, содержащего 9 мг/л Cu, и 20 л раствора, содержащего 100 мг/л Pb.

Препарат сорбирует также благородные металлы, даже если они находятся в растворе в виде комплексов с цианидами или в присутствии других металлов. Колонку заполняли 20 г гранул препарата и пропускали раствор, содержащий следующие концентрации металлов (мг/л): Au — 954; Ag — 30; Cu — 291. Содержание CN равнялось 6,5 мг/л. Раствор имел pH 10,4. При пропускании первых двух литров сорбировалось 99% вышеперечисленных металлов. После пропускания 4 литров раствора извлечение золота снижалось до 58%. Фракция сорбента, составляющая 1/3 общего объема сорбента и расположенная в нижней части колонки, связывала до 390 мг Au/г, до 1,5 мг Ag/г и до 194 мг Cu/г.

Испытания на пилотной установке. Рассмотрев описанные в литературе [28, 32, 34] устройства для осуществления процессов биосорбции, авторы способа „АМТ-био-клеим” предложили собственную технологическую схему [17], в которой используются два типа реакторов для осуществления контакта гранул сорбента с раствором металлов.

Если объем промышленных сточных вод не превышает 4540 л в день, применяются установки, состоящие из небольших чанов.

Схема очистки сводится к следующим операциям. Сточные воды накапливаются в чане-смесителе до определенного уровня. Как только этот уровень превышает, автоматически включается насос, перекачивающий избыточные объемы раствора с постоянной скоростью (до 4,5 л/мин) в первый чан, который, как и все последующие, содержит 18 кг гранул биосорбента. После насыщения биосорбента в первом чане металлами, этот чан отключают и направляют на регенерацию. Его место занимает аналогичный чан со свежим биосорбентом.

Для производств с объемом сточных вод 4500—36000 л/день используют установку с реакторами кипящего слоя. Эта установка состоит из реакторов высотой 4,5 м и диаметром 0,45 м с пропускной способностью 4,5—3,6 л/мин или 2700—17000 л/8 ч. В реактор вносят 80 кг гранул биосорбента. Толщина слоя гранул 1,8—2,1 м. Сточные воды из чана-смесителя подаются в реактор с гранулами. Так как раствор из чана-смесителя подается в рабочий чан со дна, гранулы биосорбента распределяются по всему слою жидкости. При этом крупные, более тяжелые гранулы постепенно оседают, а меньшие мигрируют вверх, образуя стабильный взвешенный слой биосорбента, который и обеспечивает эффективную очистку растворов от металлов. Гранулы, сорбирующие металлы, становятся тяжелее и опускаются на дно реактора. Вследствие этого на дне реактора накапливается наиболее насыщенный металлами материал. Его периодически удаляют. Общий объем удаляемого сорбента составляет 1/7—1/10 от общего объема реактора, а взамен в реактор вводят равный объем свежего биосорбента.

Укрупненная установка работала в течение 39 дней на очистке сточных вод производства свинца. В реактор загружали 100 кг гранул и со дна реактора со скоростью 4,5—18 л/мин подавали содержащие свинец сточные воды.

Концентрация свинца в стоках колебалась в широких пределах от 0,01 до 4,30 мг/л. Значение pH варьировало от 4,6 до 9,7. Это не влияло на эффективность очистки сточных вод предложенным методом.

Установка стабильно обеспечивала очистку растворов от свинца на 98—99%, независимо от того, проводилась ли предварительная обработка стоков каустической содой или нет. Шлам, образующийся при обработке каустической содой, не снижает эффективности работы установки.

Заключительный этап — элюирование связанного гранулами металла, т. е. регенерация гранул и возвращение их в цикл.

Испытания показали, что система „АМТ-био-клеим” обеспечивает эффективную очистку промышленных сточных вод, несмотря на изменения pH и концентрации металлов. В промышленных условиях предполагается использовать реакторы кипящего слоя высотой около 4,6 м, диаметр таких реакторов будет зависеть от объема обрабатываемых сточных вод.

Предложенная система может использоваться независимо или в сочетании с другими методами очистки промышленных сточных вод.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдраштова С. А., Илялетдинов А. Н., Мынбаева Б. Н., Абдуллина Г. Г., Прикладная биохимия и микробиология, 1982, 18, № 8, 248.
2. Биосорбент М. Издано отделом научно-технической информации Чехословацкой комиссии по атомной энергии, Збраслав-на-Влтаве, 1973, 11 с.
3. Глазунов В. Д., Илялетдинов А. Н., Известия АН Казахской ССР, сер. биол., 1982, № 6, 54.
4. Григорьев Ю. О., Пушкарев В. В., Пустовалов Н. Н., Передерий О. Г., В кн.: Очистка сточных и оборотных вод предприятий цветной металлургии, Труды Института Казмеханобр. 1975, № 15, 123.
5. Доливо-Добровольский В. В., Удаление арсенит-ионов из водных растворов низкой концентрации, М., 1958, 104 с.
6. Илялетдинов А. Н., Микробиологические превращения металлов, Наука, Алма-Ата, 1984, 268 с.
7. Илялетдинов А. Н., Глазунов В. Д., Авторское свидетельство СССР, № 812762, Б.И., 1981, № 10, 93.
8. Илялетдинов А. Н., Логинова Л. В., Энкер П. Б., В кн.: Труды Института Казмеханобр., Алма-Ата, 1971, 121.
9. Илялетдинов А. Н., Энкер П. Б., Логинова Л. В., Микробиология, 1974, 46, № 1, 113.
10. Илялетдинов А. Н., Абдраштова С. А., Мынбаева Б. Н., Махмудова Г. С., Авторское свидетельство СССР, № 844630, Б.И., 1981, № 25, 137.
11. Илялетдинов А. Н., Зайнуллин Х. Н., Смирнова Г. Ф., Галиакбаров М. Ф., Авторское свидетельство СССР, № 922088, Б.И., 1982, № 15.
12. Катаева И. В. В кн.: Биологическое самоочищение и формирование качества воды, М., 1975, 156.
13. Квасников Е. И., Ключникова Т. М., Касаткина Т. П., Серпокрылов Н. С., Микробиологический журнал, 1986, 48, № 6, 39.
14. Кореньков В. Н., Воробьева Л. Ф., Еременко Н. Д., Водоснабжение и сантехника, 1980, № 3, 24.
15. Логинова Л. В., Илялетдинов А. Н., Энкер П. Б. В сб.: Труды Института Казмеханобр, Алма-Ата, 1971, № 7, 40.
16. Логинова Л. В., Илялетдинов А. Н., Энкер П. Б. В сб.: Труды Института Казмеханобр, Алма-Ата, 1972, № 9, 126.
17. Brierley, J.A., Brierley, C.L., and Goyak, G.M., In: Fundamental and Applied Biohydrometallurgy. W. Lawrence, R.M.R. Branion, and M.G. Ebner (Eds.), Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo, 1986, 291.
18. Brown, M.J., and Lester, J.N., Water Res., 1979, 13, 817.
19. Brown, M.J., and Lester, J.N., Appl. Environ. Microbiol., 1980, 40, 179.
20. Brown, M.J., and Lester, J.N., Water Res., 1982, 16, 1549.
21. Dugan P.R., In: Removal of Mine Water Ions by Microbial Polymers. Symposium of Coal Mine Drainage Res., Mellon Inst., Pittsburgh, USA, 1970, 279.
22. Dugan, P.R., In: A report to the Water Quality Office. Environmental Protection Agency, 1971.
23. Dugan, P.R., and Pickrim, H.M., Eng. Bull. Purdue Univ., Eng. Ext. Ser., 1972, pt2, 1019.
24. Friedman, B.A., and Dugan, P.R. Develop. Ind. Microbiol., 1968, 9, 381.
25. Gale, N.L., Biotechnol. Bioeng. Symp., 1986, No. 16, 171.
26. Hancher, C.W., Taylor, P.A., and Napier, J.M., Biotechnol. Bioeng. Symp., 1978, 8, 361.
27. Jilek, R., Füska, J., and Nemec, P., Biologiya, 1978, 33, No. 3, 201.
28. Lechevalier, H.A., and Drobot, W., U.S. Patent, 1981, No. 289531.
29. Norberg, A.B., and Enfors, S.O., Appl. Environ. Microbiol., 1982, 44, 1231.
30. Norberg, A.B., and Persson, H., Biotechnol. Bioeng., 1984, 26, 239.
31. Norberg, A.B., Rydin, S., Failla, M.L., Benedict, C.D., and Weinberg, E.D., J. Gen. Microbiol., 1976, 94, 23.
32. Remacle, J., and Houba, C., Environ. Tech. Ltrs., 1983, 4, 53.
33. Rozenberg, E., Zuckenberg, A., Rubinovitz, C., and Gutnick, D.L., Appl. Environ. Microbiol., 1979, 37, 402.
34. Shumate II, S.E., Strandberg, G.W., McWhriter, D.A., Parrot, J.R., Bogacki, G.M., and Locke, B.R., In: Biotechnol. Bioeng. Symp., 1980, No. 10, 27.
35. Zosim, Z., Gutnick, D., and Rosenberg, E., Biotechnol. Bioeng., 1982, 24, 281.
36. Zosim, Z., Gutnick, D., and Rosenberg, E., Biotechnol. Bioeng., 1983, 25, 1725.
37. Zuckenberg, A., Diver, A., Peeri, Z., Gutnick, D.L., and Rosenberg, E., Appl. Environ. Microbiol., 1979, 37, 414.