УДК 504.062.2

Микробиологическая характеристика отвалов обогащения сульфидных медно-цинковых руд Уральского региона

© 2012. Д. В.Черкасова, аспирант, М. Д. Бакаева, к.б.н., с.н.с., Н. Н. Силищев, д.б.н., в.н.с., О. Н. Логинов, д.б.н., зав. лабораторией, Институт биологии Уфимского научного центра РАН, e-mail: biolab316@yandex.ru

Исследованы сообщества ацидофильных микроорганизмов на территории отвалов флотационного обогащения медно-цинковых руд горно-обогатительных предприятий Урала. Обилие автотрофных, гетеротрофных и миксотрофных микроорганизмов и состав ацидофильного сообщества зависели от таких факторов как время существования отвалов, присутствие влаги, взаимодействие с органическим веществом почв.

Communities of acidophile microorganisms in territory of copper-zinc ores flotation dumps of the Ural concentrating mills are investigated. An abundance of autotrophic, heterotrophic and mixotrophic microorganisms and acidophile community structure depended on such factors as dumps lifetime, moisture presence, interaction with organic substance of soils.

Ключевые слова: ацидофильные микроорганизмы, отвалы обогащения руд

Keywords: acidophile microorganisms, ores' enrichment dumps

В процессе хранения отходов флотационного обогащения руд в отвалах горнообогатительных предприятий формируются селективные условия для развития сообществ ацидофильных микроорганизмов. В период активного изучения литотрофных микроорганизмов разными авторами были собраны сведения об их численности на некоторых месторождениях Казахстана и Урала [1, 2]. На модельных системах исследованы микробные сукцессии, приводящие к формированию типичных ацидофильных сообществ [3, 4]. Показано, что минералогический состав руд является одним из факторов, оказывающих влияние на развитие микроорганизмов [5, 6].

По мере ввода в эксплуатацию новых месторождений меняется состав размещаемых в отвалы отработанных руд и условия для существования микроорганизмов. Поэтому для оценки численности и функционального состояния микроорганизмов в отвалах обогащения важно их периодическое исследование. Однако современных сведений о микроорганизмах отвалов флотационного обогащения медно-цинковых руд Урала нами обнаружено не было.

Цель работы — оценить разнообразие ацидофильных микроорганизмов в образцах отходов обогащения медно-цинковых руд, подотвальных водах и водоёмах-накопителях на территории хвостохранилищ горнообогатительных комбинатов Южного и Среднего Урала.

В течение летнего сезона 2010 г. трёхкратно были отобраны образцы отработанных руд и вод на территории отвалов обогащения следующих горно-обогатительных комбинатов: Бурибаевский горно-обогатительный комбинат I – руд, намытых в 2010 г., II – руд, намытых до 1970 г., III – воды из эксплуатируемого ныне водоёма с оборотной водой для флотации, IV – воды из водоёма с оборотной водой для флотации, эксплуатировавшегося до 1970 г., V – воды из водоёма, сформировавшегося у подножия отвалов из фильтрующейся через них воды; Учалинский горно-обогатительный комбинат VI – руд, намытых в отвалы в 2010 г., VII – руд, намытых в отвалы в 2009 г., VIII – воды из эксплуатируемого ныне водоёма с оборотной водой для флотации, ІХ – воды из водоёма, сформировавшегося у подножия отвалов из фильтрующейся через них воды, Х – почва у подножия отвалов флотационного обогащения руд; Сибайский филиал Учалинского горно-обогатительного комбината: XI – руд, намытых в отвалы в 2010 г., XII – руд, намытых в отвалы в 2004 г., XIII – воды из водоёма в 300 м от отвалов, загрязнённого твёрдыми отходами флотации, XIV – воды из водоёма, сформировавшегося у подножия отвалов из фильтрующейся через них воды, XV - почва у подножия отвалов флотационного обогащения руд; Медногорский медно-серный комбинат XVI - руда, хранившаяся в отвалах в течение 20 лет, XVII – руда, хранившаяся в отвалах в течение 20 лет, заводнённая,

Таблица 1 Химический состав образцов воды и водных вытяжек из образцов руд и почвы

NC . C	. 11	Концентрация				
№ образца	pН	Cu ²⁺	Zn^{2+}	Fe ³⁺	SO_4^{2-}	общий азот
жидкие образцы, мг/л						
III	$3,51\pm0,21$	$1,0\pm0,7$	$0,4\pm0,3$	_	334 ± 17	10,6±0,6
IV	$2,51\pm0,37$	85,4±4,3	$100,6 \pm 9,9$	257,6±14,7	4309 ± 266	13,7±1,8
V	$2,35\pm0,62$	714,0±21,6	$216,8\pm18,7$	1400±104,3	8951±328	6,4±0,4
VIII	$11,31\pm0,08$	0.5 ± 0.4	_	_	766 ± 69	11,7±0,4
IX	$3,44 \pm 0,53$	35,8±7,8	$77,0\pm 10,2$	147,7±24,2	1337 ± 98	$3,1\pm0,3$
XIII	$2,49\pm0,44$	$9,0\pm 5,3$	$42,9\pm 9,0$	491,4±11,3	686 ± 75	$2,1\pm0,19$
XIV	$3,4\pm0,72$	205,2±17,1	$529,0\pm24,2$	$75,6\pm12,0$	4756 ± 421	$2,5\pm0,5$
XVIII	$4,33\pm0,19$	8,1±3,2	$4,82\pm3,9$	_	835 ± 134	1,5±0,1
вытяжки из твёрдых образцов, мг/кг						
I	$4,39\pm0,42$	270±26	420 ± 51	_	1590 ± 80	91±23
II	$1,96\pm0,51$	400±31	660 ± 85	13300±1240	5750 ± 230	161±65
VI	$5,48\pm0,33$	120±5	70 ± 13	20±6	100 ± 20	_
VII	$3,40\pm0,47$	370±22	850 ± 97	350±32	1310±40	12±6
X	$4,71\pm0,63$	11±4	80 ± 11	_	2520 ± 30	489±87
XI	$5,92 \pm 0,27$	20±1	23 ± 9	10±3	320 ± 20	_
XII	1,33±0,08	200±9	370±10	500±10	12150±250	112±8
XV	$1,97\pm0,17$	240±28	330 ± 22	23970±1050	6170 ± 80	575±45
XVI	$2,25\pm0,28$	265±35	138±9	28700±3050	6350 ± 120	105±12
XVII	$2,25\pm0,32$	477±27	752±123	12070±1070	4580±110	326±65

Примечание: – не обнаружены.

Таблица 2 Численность автотрофных микроорганизмов в образцах, отобранных с территории горно-обогатительных комбинатов

Место отбора проб	Железоокисляющие, КОЕ/мл(г)	Сероокисляющие, КОЕ/мл(г)	Окисляющие пиритную руду, КОЕ/мл(г)		
Бурибаевский горно-обогатительный комбинат					
II (руда)	(1,3±0,4)·10	$(1,2\pm0,5)\cdot10^2$	(6,5±0,6)·10		
III (вода)	$6,5\pm0,2$	$(1,4\pm0,3)\cdot10^4$	_		
IV (вода)	$(7.0\pm0.6)\cdot10^2$	(2,0±0,4)·10	_		
V (вода)	$(5.0\pm0.6)\cdot10^4$	$(2,0\pm0,4)\cdot10^2$	$(1,7\pm0,5)\cdot10^3$		
Учалинский горно-обогатительный комбинат					
VII (руда)	(2,0±0,3)·10	_	_		
IX(вода)	$(3.5\pm0.5)\cdot10^4$	$(1,1\pm0,3)\cdot10^3$	$(6,5\pm0,6)\cdot10^3$		
Х (почва)	$(6.0\pm0.3)\cdot10^2$	$(6,5\pm0,6)\cdot10^3$	$(1,1\pm0,5)\cdot10^2$		
Сибайский филиал Учалинского горно-обогатительного комбината					
XII(руда)	_	$(1,7\pm0,5)\cdot10^2$	_		
XIII(вода)	$(8,2\pm0,7)\cdot10^3$	$(1,1\pm0,3)\cdot10^5$	$(1,7\pm0,6)\cdot10^3$		
XIV(вода)	_	$(3,5\pm0,8)\cdot10$	_		
XV(почва)	$(6.5\pm0.6)\cdot10^4$	$(6.0\pm0.5)\cdot10^5$	$(1,1\pm0,3)\cdot10^2$		
Медногорский медно-серный комбинат					
XVI (руда)	$(2,0\pm0,5)\cdot10^3$	$(1,2\pm0,3)\cdot10^2$	_		
XVII(руда)	$(1,4\pm0,4)\cdot10^7$	$(6,0\pm0,3)\cdot10^5$	$(4.5\pm0.4)\cdot10^4$		
XVIII(вода)	$0.9 {\pm} 0.5$	(3,0±0,7)·10	_		

Примечание: – не обнаружены.

XIII – воды из ручья, собирающего в себя подотвальные и родниковые воды. Образцы для каждого варианта опыта отбирали из пяти разных точек отвалов в стерильные контейнеры, твёрдые образцы с глубины 20 см. Химический состав образцов и вытяжек из них представлен в таблице 1.

Концентрацию меди и цинка в растворах измеряли на атомно-абсорбционном спектрофотометре КВАНТ-2А, концентрацию трёхвалентного железа титрованием с ЭДТА. Содержание сульфат-иона в воде и водной вытяжке отходов измеряли турбидометрическим методом, общий азот —титриметрическим методом и по методу Кьельдаля.

Численность микроорганизмов определяли посевом на стандартные селективные среды: железоокисляющие бактерии — на среду К9, сероокисляющие автотрофы — на среду Ваксмана, ацидофильные гетеротрофы — на среду Маннинга, сульфатвостанавливающие бактерии — Постгейта В, миксотрофные микроорганизмы — на среды с дрожжевым экстрактом с добавлением железа, серы и руды в качестве источника энергии (умеренно термофильные при 50 °C) [7].

Автотрофные микроорганизмы были обнаружены в руде, водах и почвах, соприкасающихся с отвалами. В таблице 2 представлены данные об их численности в образцах, где было зафиксировано их присутствие. В целом, численность автотрофных микроорганизмов была невысока и редко превышала $10^5 \, \mathrm{KOE/r}$ (мл). Окисляющие пирит микроорганизмы встречались реже и в чуть меньшем количестве, чем серо- и железоокисляющие бактерии. Существенных отличий в численности автотрофов в отвалах разных горно-обогатительных комбинатов зарегистрировано не было, что, по видимому, связано с тем, что слагающие их руды относятся к одному типу.

Наличие автотрофных бактерий зависело от характера пробы: срока хранения руды в отвале, влажности образца и т.п. Например, автотрофные микроорганизмы удалось выделить лишь из отработанных руд, какое-то время пролежавших в отвалах. В отходах обогащения, намытых в текущем сезоне, их обнаружено не было. Отвалы, сроком хранения один год, были найдены лишь на Учалинском горно-обогатительном комбинате, из всех изученных групп микроорганизмов стабильно там выделялись лишь железоокисляющие бактерии. В других, более старых образцах, одновременно присутствовали микроорганизмы разных физиологических групп, наряду с ав-

тотрофами — миксотрофы и гетеротрофы. Уже через год после отсыпки в отвалы в рудах обнаруживались продукты окисления: водные вытяжки содержали ионы Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , SO_4^{2-} и имели кислую реакцию среды. Просачиваясь с подотвальными водами, металлы аккумулировались в прилежащих к отвалам почвах и водоёмах, находясь в них в растворённом или осаждённом состоянии в зависимости от кислотности среды.

В большинстве образцов, содержащих автотрофные микроорганизмы показатель рН колебался от 1,3 до 3,7, т. е. был благоприятен для развития ацидофильных микроорганизмов. Исключение составляли образцы почв, отобранные возле отвалов Учалинского горно-обогатительного комбината. Несмотря на рН 4,7, в них присутствовали ацидофильные микроорганизмы, возможно, в неактивном состоянии.

На примере отработанных руд из отвалов Медногорского медно-серного комбината по-казано, что влажность грунта имела значение для развития автотрофных бактерий, в образцах, пропитанных водой, их численность была гораздо выше.

Несмотря на невысокое содержание аммонийного и нитратного азота в лежалых отходах обогащения, он, по-видимому, не являлся лимитирующим фактором для развития автотрофных микроорганизмов, так как не было обнаружено зависимости между численностью автотрофов и содержанием азота в среде.

Миксотрофными считают микроорганизмы, нуждающиеся одновременно в органических и неорганических источниках энергии, не способные к стабильному росту при длительном культивировании на одном источнике энергии. Миксотрофный тип питания характерен для многих обитающих в неорганических субстратах термофильных микроорганизмов. Исследуемые образцы были проверены на наличие в них умеренно термофильных (50°С) и живущих при комнатной температуре микроорганизмов, способных к росту за счёт окисления железа, серы, пирита в присутствии дрожжевого экстракта. Полученные результаты представлены в таблице 3.

Из всех приведённых в таблице групп наиболее часто выделялись умеренно термофильные железоокисляющие микроорганизмы. Более активный их рост наблюдался в образцах отработанных руд по сравнению с подотвальными водами. Меньше всего было обнаружено микроорганизмов, способных к окислению пирита в условиях повышенной тем-

Таблица 3 Присутствие миксотрофных микроорганизмов в образцах, отобранных с территории горно-обогатительных комбинатов

	7	Нормоторынца				
Место отбора проб	железо- окисляющие	сероокисляющие	пиритокисляющие	Нормотермные сероокисляющие		
Бурибаевский горно-обогатительный комбинат						
II(руда)	+	+	+	_		
IV(вода)	+	_	_	+		
V(вода)	_	+	_	+		
Учалинский горно-обогатительный комбинат						
VII(руда)	+	+	_	_		
IX(вода)	_	_	_	+		
Х(почва)	+	_	_	+		
Сибайский филиал Учалинского горно-обогатительного комбината						
XII(руда)	+	+	+	_		
XIII(вода)	_	_	_	+		
XIV(вода)	_	_	_	+		
Медногорский медно-серный комбинат						
XVI(руда)	+	+	_	_		
XVII(руда)	+	_	_	+		
XVIII(вода)	+	_	_	_		

Примечание: + – активный рост, – не обнаружены.

Таблица 4
Присутствие гетеротрофных микроорганизмов в образцах, отобранных с территории горно-обогатительных комбинатов

Маана анбана	C ¥					
Место отбора	Ацидотолерантные гетер	ротрофы, кое/мл(г)	Сульфатвосстанавливающие бактерии, КОЕ/мл(г)			
проб	бактерии	грибы				
Бурибаевский горно-обогатительный комбинат						
II(руда)	$(1,9\pm0,5)\cdot10$	$(2,6\pm0,8)\cdot10^2$	_			
IV(вода)	4,5±0,3	_	_			
V(вода)	$(3,6\pm0,5)\cdot10^2$	5,5±0,7	_			
Учалинский горно-обогатительный комбинат						
IX(вода)	$5,7\pm0,4$	$(2,4\pm0,4)\cdot10$	+			
Х(почва)	$(3,1\pm0,7)\cdot10^3$	_	+			
Сибайский филиал Учалинского горно-обогатительного комбината						
XIII(вода)	$(4,4\pm0,8)\cdot10^2$	6,2±0,5	+			
XIV(вода)	$(3,5\pm0,6)\cdot10^2$	-	-			
XV(почва)	_	$(1,2\pm0,3)\cdot10^5$	+			
Медногорский медно-серный комбинат						
XVI(руда)	_	$(4,1\pm0,7)\cdot10^4$	+			
XVII(руда)	$(2,6\pm0,9)\cdot10^3$	$(3,7\pm1,2)\cdot10^3$	+			
XVIII(вода)	_	$(7,6\pm0,9)\cdot10$	+			

 Π римечание: +- активный рост, - не обнаружены.

пературы. Они зафиксированы в отработанных рудах Сибайского филиала Учалинского горно-обогатительного комбината и Бурибаевского горно-обогатительного комбината

Обнаружена обратная зависимость между присутствием окисляющих серу умеренно термофильных и нормотермных бактерий. Первые обитали, в основном, в рудных отва-

лах и были обнаружены лишь в одном водоёме. Сероокисляющие бактерии, развивающиеся при обычной температуре, напротив, были выделены из образцов воды, почвы и руды с высокой влажностью. Наблюдаемое явление можно объяснить разным температурным режимом этих объектов. Водоёмы и почва обладают большой теплоёмкостью и способны под-

держивать более стабильную температуру, тогда как руды в жаркое время суток прогреваются на определённую глубину.

Похожая закономерность прослеживалась и в распределении гетеротрофных ацидотолерантных бактерий и микроскопических грибов в образцах разного состава (табл. 4). Максимальная численность микроскопических грибов была зарегистрирована в твёрдых образцах: кислой почве с территории Сибайского филиала Учалинского горно-обогатительного комбината и отработаной руде из отвалов Медногорского медно-серного комбината и Бурибаевского горно-обогатительного комбината. Доминирующие там виды микроскопических грибов были определены как представители рода *Torula* [8, 9]. Они обладали типичной для литобионтных микромицетов морфологией: на питательной среде образовывали мелкие тёмноокрашенные врастающие в агар колонии, на руде формировали микроколонии, состоящие из фрагментированного мицелия, распадающегося на цепочки дрожжеподобных клеток [10]. В подотвальных водах были обнаружены единичные представители микроскопических грибов с характерной для родов Penicillium и Monilia морфологией.

Ацидотолерантные бактерии были выделены, в основном, из образцов подотвальных вод, а так же пропитанной подотвальной водой почвы и руды. То есть, ацидотолерантные бактерии были связаны с более влажными местообитаниями, тогда как литобионтные микромицеты с менее влажными (поверхностью отвалов, почвой без избыточного увлажнения).

В связи с накоплением на территории отвалов сульфатных соединений был также проведён мониторинг содержания сульфатвосстанавливающих бактерий. Микроорганизмы данной группы были обнаружены в почвах и водоёмах у подножия отвалов. Сульфатвосстанавливающие бактерии не были выделены из подотвальных вод, которые собирались в котловинах на территории самих отвалов. Наличие сульфатвосстанавливающих бактерий было связано с миграцией сульфатов из руд в близлежащие среды (водоёмы и почвы).

Таким образом, в обследованных отвалах отработанных медно-цинковых сульфидных

руд Уральского региона, а также в соприкасающихся с ними почвах и водоёмах складывались ацидофильные сообщества микроорганизмов сложного состава, включающие групны автотрофных, гетеротрофных и миксотрофных микроорганизмов. Обилие микроорганизмов и состав ацидофильного сообщества зависели от таких факторов как срок существования отвалов, присутствие влаги, взаимодействие с органическим веществом почв.

Литература

- 1. Ляликова Н. Н., Соколова Г. А. Микробиологическая характеристика некоторых месторождений Казахстана // Микробиология. 965. Т. 34. Вып. 2. С. 335–343.
- 2. Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик Э. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М.: Наука, 1972. $248~\rm c.$
- 3. Коваленко Э.В., Малахова П.Т. Микробные сукцессии в сульфидных забалансовых рудах // Микробиология. 1990. Т.59. Вып.2. С. 336–342.
- 4. Lawrence J.R., Kwong Y.T.J., Swerthone G.D.W. Colonization and weathering of natural sulfides mineral assemblages by *Thiobacillus ferrooxidans* // Can. J. Microbiol. 1997. V. 43. P. 178–188.
- 5. Варданян Н.С. Окисление пирита и халькопирита смешанными культурами сульфобацилл и железо- или сероокисляющих бактерий // Биотехнология. 2003. № 6. С. 79–83.
- 6. Тупикина О.В., Кондратьева Т.Ф., Саморукова В.Д., Рассулов В.А., Каравайко Г.И. Зависимость фенотипических характеристик штаммов Acidithiobacillus ferrooxidans от физических, химических и электрофизических свойств пиритов // Микробиология. 2005. Т. 74. \mathbb{N} 5. С. 596–603.
- 7. Практикум по микробиологии /Под ред. А. И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.
- 8. Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л.: Изд-во «Наука», Ленингр. отд., 1967. 303 с.
- 9. Domsh K. H., Gams W., Andersen T. H. Compendium of soil fungi. London: Acad. Press, 1993. V. 1. 859 p.
- 10. Богомолова Е.В., Зеленская М.С., Власов Д.Ю. Морфологические особенности микроколониальных грибов изолированных с поверхности камня // Микология и фитопатология. 2001. Т. 35. Вып. 2. С. 6–12.