

Г. И. КАРАВАЙКО
С. И. КУЗНЕЦОВ
А. И. ГОЛОМЗИК

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ
В ВЫЩЕЛАЧИВАНИИ
МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
Институт микробиологии

Г. И. КАРАВАЙКО
С. И. КУЗНЕЦОВ
А. И. ГОЛОМЗИК

1216
В книге В. Г. Франца
553.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ
В ВЫЩЕЛАЧИВАНИИ
МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА» · МОСКВА 1972



Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик А. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М., «Наука», 1972, стр. 248.

Книга посвящена вопросам бактериального выщелачивания цветных, редких и благородных металлов из руд.

Приведена характеристика микроорганизмов, участвующих в окислении и восстановлении соединений цветных металлов, железа и марганца, методы их учета и выделения в чистую культуру, рецептура питательных сред для основных групп бактерий, имеющих наибольшее значение в микробиологических процессах выщелачивания металлов из руд. Большое внимание уделяется выяснению роли бактерий в гидрометаллургии цветных, редких металлов и золота, а также факторам, регулирующим эти процессы.

Даны основные схемы и принципы кучного и подземного выщелачивания меди и других металлов, используемые в зарубежной и отечественной практике.

Книга рассчитана на микробиологов, геохимиков, гидрометаллургов и других специалистов, занимающихся вопросами выщелачивания металлов из руд.

Табл. 22, илл. 30, библи. на 14 стр.

Григорий Иванович Каравайко,
Сергей Иванович Кузнецов,
Артур Иванович Голомзик.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВЫЩЕЛАЧИВАНИИ МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД

Утверждено к печати
Институтом микробиологии Академии наук СССР

Редактор Т. А. Матвеевко
Художник А. В. Коврижкин
Художественный редактор Т. П. Поленова
Технический редактор О. Г. Ульянова

Сдано в набор 29/IX 1971 г. Подписано к печати 27/1 1972 г.
Формат 60×90¹/₁₆. Бумага № 2. Тираж 1150 экз. Тип. зак. 4761
Т-01177. Усл. печ. л. 15,62. Уч.-изд. л. 15,4. Цена 1 р. 27 к.

Издательство «Наука». Москва, К-62, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства. Москва, Г-99, Шубинский пер., 10

ПРЕДИСЛОВИЕ

Предметом рудной микробиологии является изучение роли микроорганизмов в образовании и разрушении рудных месторождений, а также разработка теоретических основ технологии бактериального способа выщелачивания цветных, редких и благородных металлов из руд и рудных концентратов.

Рудная микробиология рассматривается нами как составная часть геомикробиологии.

Основные задачи геомикробиологии были сформулированы С. И. Кузнецовым, М. В. Ивановым и Н. Н. Ляликовой (1962) и заключаются в изучении роли микроорганизмов в круговороте серы, железа, марганца, кальция и других элементов в природе. Долгое время эта наука была исключительно теоретической. Объясняется это тем, что в целом скорость различных геологических процессов весьма низкая. Однако изучение деятельности микроорганизмов в месторождениях полезных ископаемых, как, например, серы и сульфидных руд, показало, что при разработке рудного тела ряд процессов, вызываемых микробами, протекает с большой скоростью. Это позволило поставить вопрос о применении бактериальных процессов окисления сульфидных минералов для выщелачивания цветных и редких металлов из руд. Большой частью эти вопросы решаются еще в лаборатории. Однако гидрометаллургические способы добычи меди из забалансовых руд все шире внедряются в народном хозяйстве. Таким образом, можно уже говорить о существовании новой отрасли геомикробиологии — бактериальной гидрометаллургии.

Очевидно, что на первом этапе исследований необходимо иметь подробные горно-геологические, экономические и другие данные, позволяющие оценить перспективность того или иного месторождения для выщелачивания цветных металлов. При бактериальном выщелачивании предварительно проводится детальное изучение распространения и условий жизнедеятельности бактерий в месторождении, намеченном для отработки. В связи с этим в книге приводятся основные подходы по изучению микроорганизмов, участвующих как в окислительных, так и в восстановительных процессах, происходящих в месторождениях. И, наконец, при разработке технологии бактериального или химического способа выщелачивания цветных металлов необходимо

предварительное проведение лабораторных и полупроизводственных исследований.

В книге дана характеристика микроорганизмов, участвующих в окислении и восстановлении соединений цветных металлов, железа и марганца, методы их учета и выделения в чистую культуру, а также рецептура питательных сред для микроорганизмов, которые имеют наибольшее значение в микробиологических процессах выщелачивания цветных, редких и других металлов или вообще часто встречаются в месторождениях сульфидных руд. Рассматривается геохимическая роль микроорганизмов в месторождениях сульфидных руд. Большое внимание уделяется выяснению роли бактерий в гидрометаллургии цветных, редких металлов и золота, а также условиям, при которых этот процесс следует вести.

Даны основные схемы постановки укрупненных и лабораторных опытов с малыми навесками, а также полупромышленных испытаний для выяснения механизма и разработки технологии процесса выщелачивания металлов.

Приводятся основные схемы кучного и подземного выщелачивания меди и других элементов, используемые в зарубежной и отечественной практике.

Нам кажется, что все это должно в известной мере облегчить решение вопроса о целесообразности выщелачивания отдельных цветных металлов из забалансовых или богатых руд данного месторождения, или очистки рудных концентратов от нежелательных примесей.

Хотя в последнее время в свет вышли ряд книг по вопросам выщелачивания цветных и других металлов из руд (Калабин, 1969; Митрофанов и др., 1970; Novapес, 1969, и др.), данная книга, посвященная рассмотрению роли микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд, несомненно будет важным дополнением к предыдущим монографиям по рассматриваемой проблеме.

Предисловие, введение и глава 1 написаны С. И. Кузнецовым и Г. И. Каравайко, главы 2—5 и 9— Г. И. Каравайко, а 8 и 10— Г. И. Каравайко совместно с А. И. Голомзиком.

А. И. Голомзиком написаны глава 6 (совместно с Г. И. Каравайко и С. И. Кузнецовым), глава 7 и в главе 5 раздел «Потенциал сульфидов».

Авторы пользуются случаем, чтобы принести благодарность доктору биологических наук Г. А. Заварзину, кандидатам биологических наук Г. А. Дубининой, Е. П. Розановой и Н. Н. Ляликовой за ценные указания, данные при подготовке рукописи.

ВВЕДЕНИЕ

Выщелачивание цветных металлов из руд включает в себя окисление сульфидных минералов и вымывание образовавшихся растворимых солей этих металлов из руд. Выщелачиванию наиболее легко поддаются металлы, находящиеся в руде в виде окислов. В этом процессе в качестве растворителя используются большей частью слабые растворы серной кислоты. Редкие элементы, как известно, входят в кристаллические решетки многих сульфидов, изоморфно замещая такие элементы, как медь, цинк, свинец и др. Собственные сульфиды редких элементов встречаются редко. При окислении сульфидных минералов их кристаллическая решетка разрушается, редкие элементы при благоприятных условиях переходят в раствор и выносятся из руды.

Таким образом, в основе выщелачивания цветных и редких металлов лежат два процесса: окисление сульфидного минерала и вымывание металлов растворами.

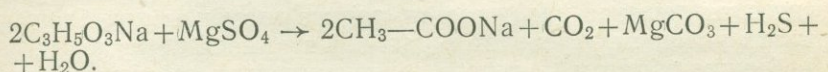
Большое значение в выщелачивании цветных и других металлов придается деятельности микроорганизмов. Наиболее доступны для бактериального выщелачивания сульфидные руды цветных металлов, поэтому при изучении процессов бактериального выщелачивания этих металлов основное внимание уделяется типовым бактериям.

Сам подход к определению пригодности бактериального метода для извлечения цветных металлов из руд определенного месторождения складывается из трех моментов: это анализ данных, характеризующих месторождение (запасы руд, геология, степень обработки, геохимическая обстановка и пр.), распространения соответствующих групп микроорганизмов в самом месторождении и лабораторные и полупроизводственные исследования отдельных типов руды. Это дает возможность рационально выбрать соответствующую технологию и объект выщелачивания металлов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ПОЛЕЗНЫХ ИСКОПАЕМЫХ

Микроорганизмы, восстанавливающие сульфаты

Значительное образование сероводорода в природе обусловлено деятельностью этой группы бактерий. При культивировании на средах с молочнокислым кальцием они восстанавливают сульфаты с образованием сероводорода.



Типичный вид этой группы *Desulfovibrio desulfuricans*. Бактерии представляют собой слегка искривленные, грамотрицательные палочки размером 0,5—1×1—5 мк, с одним полярным жгутиком, обычно одиночные, а зачастую соединены в пары или короткие цепочки, которые выглядят как спириллы. Обладают большой подвижностью. Желатину не разжижают. В отсутствие кислорода на средах с железом образуют черный осадок сульфида железа.

Постгейт и Кемпбелл (Postgate, Campbell, 1966) собрали все существующие виды сульфатредуцирующих бактерий и произвели ревизию систематики этих видов. Все существующие виды по способности образовывать споры они делят на два рода: спорообразующие — *Desulfotomaculum* и неспорообразующие — *Desulfovibrio*.

Упрощенный ключ Постгейта и Кемпбелла классификации сульфатредуцирующих бактерий приведен в табл. 1.

Одним из важных условий для развития сульфатредуцирующих бактерий является низкий окислительно-восстановительный потенциал (Eh). Для начала развития, как указывает Постгейт (Postgate, 1959), необходимо, чтобы Eh среды был ниже —200 мв или $\text{rH}_2=7$. С этой точки зрения понятно, что добавка в среду цистеина или Na_2S , как это рекомендуют Гроссман и Постгейт (Grossman, Postgate, 1953), снижает Eh и спо-

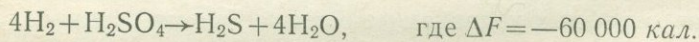
способствует росту этих бактерий. Такие вещества, как закисное железо или аскорбиновая кислота, имеют более высокий Eh и поэтому менее благоприятны для начального развития сульфатредуцирующих бактерий.

Однако для *Desulfovibrio gigas* более благоприятен окислительно-восстановительный потенциал — $Eh=80$ мв (Postgate, Campbell, 1966).

Первоначально считалось (Таусон, Алешина, 1932), что *Desulfovibrio desulfuricans* способен использовать в качестве источника органического вещества весьма различные соединения, в том числе углеводы, углеводороды нефти, нелетучие жирные кислоты, спирты и тому подобное. Однако последующие исследования показали, что все эти вещества используются лишь культурами накопления или культурами *Desulfovibrio desulfuricans*, содержащими сопутствующие бактерии (Кузнецова, Горленко, 1965; Горленко, Кузнецова, 1966).

В качестве органического вещества для чистых культур *Desulfovibrio desulfuricans* или *Des. desulfuricans* var. *aestuarii* могут служить лактаты, которые через пировиноградный альдегид окисляются до ацетатов. Пировиноградный альдегид также может служить источником углерода, разлагаясь с выделением спирта или ацетата, углекислоты и водорода. *Des. desulfuricans* v. *aestuarii* окисляет соли яблочной кислоты через соли фумаровой до янтарной кислоты. Последние в присутствии сульфатов окисляются до ацетата. Все эти наблюдения показывают, что у сульфатредуцирующих бактерий превращение органических веществ в процессе обмена идет согласно конечным стадиям цикла Кребса, остается неясным.

Способность *Des. desulfuricans* к автотрофному образу жизни впервые показали Старки и Уайт (Starkey, Wight, 1943), выращивая в атмосфере водорода накопительную культуру *Des. desulfuricans* на чисто минеральной среде, содержащей сульфаты и бикарбонаты. Сам процесс они представили следующим образом:



В дальнейшем Батлин и Адамс (Butlin, Adams, 1947; Butlin et al., 1949) подтвердили их наблюдения на чистых культурах.

Способность к фиксации углекислоты за счет энергии окисления водорода кислородом сульфатов была доказана Ю. И. Сорокиным путем применения меченой углекислоты ($C^{14}O_2$). Он нашел, что на каждые 10—20 г эквивалентов восстановленной SO_4^{2-} фиксируется 1 моль углекислоты. Таким образом, на фиксацию одного моля CO_2 используется примерно такое же количество энергии, как у других автотрофов. Опыты Сорокина (1956) с *Des. desulfuricans*, который получал энергию путем

таблица 1

Систематика сульфатредуцирующих бактерий (Postgate, Campbell, 1966)

Микроорганизм	Форма клетки	Жгутики	Спорообразование	Тип цитохрома
<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	Палочка	Перитрих	+	<i>v</i>
<i>D. orientis</i>	Искривленная палочка	»	+	<i>v</i>
<i>D. ruminis</i>	Палочка	»	+	<i>v</i>
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Вибрион	Монотрих	—	<i>c₃</i>
<i>D. vulgaris</i>	»	»	—	<i>c₃</i>
<i>D. salexigens</i>	»	»	—	<i>c₃</i>
<i>D. africanus</i>	Изогнутая палочка	Лофотрих	—	<i>c₃</i>
<i>D. gigas</i>	Спираль	»	—	<i>c₃</i>

Примечание. Плюс—присутствуют, минус—отсутствуют.

анаэробного окисления водорода кислородом сульфатов, показали, что этот организм потребляет водород в большем количестве, чем это необходимо для восстановления сульфатов до H_2S . Отсюда он считает, что избыточный водород идет непосредственно на восстановление CO_2 при хемосинтезе. Подтверждением этого мнения было то, что отношение $\frac{\text{Избыточный } H_2}{\text{Ассимилированная } CO_2}$ было равно от 1,9 до 2,3.

Это указывает, что в хемосинтезе в качестве восстановителя служит молекулярный водород, а не водород воды, тем более, что реакция хемосинтеза $CO_2 + 2H_2 \rightarrow CH_2O + H_2O$, где $\Delta F = +1700 \text{ кал}$, идет с малым поглощением энергии, в то время как $CO_2 + H_2O \rightarrow CH_2O + O_2$, где $\Delta F = +115000 \text{ кал}$, требует очень большой затраты энергии.

Способность развития чистой культуры *Des. desulfuricans* в строго автотрофных условиях в последнее время оспаривалась Сенезом, Постгейтом и другими авторами, которые указывали, что этот организм нуждается в дрожжевом автолизате. В последних работах Сорокин (1966) показал, что действительно на чисто минеральной питательной среде этот организм не развивается, однако достаточно добавить туда несколько мг CH_3COONa , как начинается его нормальное развитие. Сорокин считает, что минимальные количества ацетата необходимы для образования и нормального функционирования ацетил-КоА при фиксации углекислоты по циклу Кребса, хотя сами уксуснокислые соли в отсутствие водорода не могут служить источником органического вещества для *Des. desulfuricans*. *Des. desulfu-*

Десульфоксиридин	Гуанин-цитозин в ДНК, %	Рост без SO ₄ на		Соли кислот с SO ₄		Ацетаты+SO ₄	Галофилия	Термофилия	Устойчивость к хабитану, мг/л
		пирувате	холине	яблочная	муравьиная				
—	44,7	+			—	—	—	+	0,25
—	41,7	—			—	—	—	—	0,25
—	45,6	+			+	—	—	—	1
+	53,3±1	+	+	+		—	—	—	10—25
+	61,2±1	—	—	—		—	—	—	2,5
+	46,1±1	—	—	+		—	+	—	100,0
+	61,2±1	—	—	+		—	—	—	2,5
+	60,2	—	—	—		—	+	—	2,5

Desulfosphaerulum чрезвычайно богат флавопротеинами, которые обладают высоким отношением флавинадениннуклеотида к мононуклеотиду. Кроме того, эти организмы содержат цитохром *c*₃, действующий в щелочной среде при pH 10,5, который обладает двойной функцией гематогемина с низким окислительно-восстановительным потенциалом — $E_0 = -204$ мВ, молекулярным весом 13 000 и содержанием железа 0,9%. Протеин растворим в воде, устойчив к нагреванию и кислоте, имеет тиозефирные связи между двумя остатками гематина и апопротеином. Пока не доказано, что препараты этого фермента способны восстанавливать сульфаты и таким образом нет прямых доказательств, что фермент участвует в редукции сульфатов, однако Постгейт (Postgate, 1959) считает, что в живом организме цитохром *c*₃ служит конечным переносчиком электрона, аналогично цитохромным системам аэробов.

Была испытана способность *Des. desulfuricans* восстанавливать ряд соединений серы и некоторых других соединений, используя их в качестве акцептора электронов.

Так, по данным Постгейта (Postgate, 1959), сульфатредуцирующие бактерии восстанавливают сульфаты, сульфиты, различные полиотионаты, коллоидальную серу, муравьиную, яблочную кислоты и не способны восстанавливать кристаллическую серу, таурин, цистеин, цистеиновую кислоту, соли хромовой кислоты, фосфаты, перхлораты, нитраты и некоторые другие соединения.

О их способности использовать кислород солей селеновой кислоты на окисление органического субстрата имеются противоречивые сведения.

Хироши с соавторами (Hiroshi et al., 1969) из прудовой воды и образцов грязи, собранных в восточной части Антарктиды, выделили культуру сульфатредуцирующих бактерий, которая отнесена к роду *Desulfotomaculum* и определена как новый вид *Des. antarcticum*. В отличие от других известных видов этого рода, выделенные бактерии могут сбраживать глюкозу и разжижать желатину. Бактерии содержат цитохром типа *b*. Оптимум температуры 20—30°.

Микроорганизмы, участвующие в окислении восстановленных соединений серы

В окислении восстановленных соединений серы в месторождениях полезных ископаемых практически участвуют лишь тионовые бактерии. Ниже приводится описание отдельных видов этих организмов.

Тионовые бактерии

Тионовые бактерии представляют собой высокоспециализированную группу, входящую в порядок *Pseudomonadales*. Сюда относятся несколько видов, которые можно подразделить на две группы: 1) истинные тионовые бактерии — это автотрофные микроорганизмы, способные существовать на минеральной среде за счет энергии, выделяющейся при окислении серы, восстановленных соединений серы, а для некоторых организмов и железа, и фиксировать свободную углекислоту на построение своего тела и 2) миксотрофные тионовые бактерии, те, которые способны как к автотрофному, так и к гетеротрофному образу жизни, т. е. развиваться, используя готовые органические вещества.

Все виды рода *Thiobacillus* являются неспорообразующими мелкими грамотрицательными палочками с одним или несколькими полярными жгутиками. Подразделение на виды основано на различиях их культуральных и физиологических свойств.

Тионовые бактерии, способные к автотрофному образу жизни

Thiobacillus thioparus впервые выделен в чистую культуру Бейеринком (Beijerinck, 1904). Физиология его изучена Бейеринком, Старки (Starkey, 1935), Соколовой (Соколова, Каравайко, 1964). Бактерии имеют форму палочки с закругленными концами размером 0,5—0,8×0,9—1,4 мк, с одним полярным жгутиком, размножаются поперечным делением (рис. 1). В молодой культуре подвижны, но на четвертый-пятый дни подвижность теряют. В зависимости от состава среды размеры клеток несколько варьируют. *Thiobacillus thioparus* способен окислять сероводо-

род, элементарную серу, тиосульфат, тетратионат; слабее три- и дитионат, гидросульфид. Тиоцианат *Th. thioragus* не использует. Сульфиды тяжелых металлов, за небольшими исключениями, не подвергаются воздействию *Th. thioragus*.

Оптимальные значения рН для роста разных штаммов *Th. thioragus* колебались в пределах 8,5—9,8. Развитие полностью отсутствовало при рН 10. Нижний предел развития лежит при рН 5. При начальном значении рН питательной среды—4,5—5,0—бактерии не развиваются, но в старых культурах наблюдалось подкисление культуральной жидкости до рН 2,8—3,3.

Хотя *Th. thioragus* считается строгим аэробом, но развитие его лучше идет при ослабленной аэрации, а в природной обстановке он часто встречается в условиях, исключающих свободный доступ кислорода. Нитраты, как источник кислорода, не используются.

Th. thioragus лучше всего развивается при пониженных значениях окислительно-восстановительного потенциала, при $rH_2 = 10-16$, однако при обязательном поступлении кислорода.

На жидких средах образует пленочку из бактериальных клеток и элементарной серы. Жидкость мутнеет, и рН снижается до 4,5.

На тиосульфатном агаре образует маленькие колонии диаметром 1—2 мм, желтые от выпавшей серы, которые в старых культурах принимают коричневый оттенок.

В качестве источника азота использует как аммиак, так и нитраты.

Органические вещества в небольших концентрациях могут стимулировать развитие, но в отсутствие восстановленных соединений серы *Th. thioragus* на органических средах не развивается.

Thiobacillus X, выделенный Паркером (Parker, 1945, 1947; Parker, Prisk, 1953), близок к *Th. thioragus*. Позднее он был включен в группу тионовых бактерий, как *Th. neapolitanus*. В новой систематике рода *Thiobacillus* *Th. neapolitanus* выделяется в самостоятельный вид (Hutchinson et al., 1969).

К *Th. neapolitanus*, по мнению Заварзина, относятся организмы 58S и 70S, выделенные им из оз. Горячего в кальдере вулкана Головинина. Характеристика их приводится в статье Заварзина и Жилиной (1964).

Б. Л. Исаченко и А. Г. Салимовская (1928) выделили несколько галофильных форм, которые А. С. Заславский (1928, 1952) объединил в один вид *Thiobacterium issatchenkoi*. Однако он же наблюдал их адаптацию к различным концентрациям NaCl. Правильнее этот вид считать разновидностью *Th. thioragus*.

Thiobacillus thiooxidans. Первое выделение этого организма в чистую культуру и изучение его морфологии было проведено

Ваксманом и Иоффе (Waksman, Joffe, 1922). Позднее его изучали Умбрейт, Андерсон (Umbreit, Anderson, 1942), Найзи (Knaysi, 1943) и др.

Организм имеет форму палочки размером 0,5—0,8×1,0—2,0 мк, с одним полярным спиралевидным жгутиком (рис. 2). Клетки *Th. thiooxidans* имеют сложную клеточную стенку, со держат в большом количестве включения (Mahoney, Edwards, 1966; Каравайко, Авакян, 1971) и снаружи иногда покрыты слизью.

В процессе эндогенного дыхания *Th. thiooxidans* использует запасные вещества, состоящие из полисахаридов.

На тиосульфатном агаре растет слабо, колонии почти прозрачные. На жидкой среде с серой образует равномерную муть. Осадка не образует. Среду подкисляет до pH 1 и ниже. В жидкой среде клетки одиночные, однако иногда образуют цепочки из двух и более клеток. По Граму красятся отрицательно.

Th. thiooxidans при кислой реакции среды хорошо использует различные по физическому составу формы серы. При исходном pH среды, равном 4,8, окисление тиосульфата подавляется. При более кислой реакции тиосульфат сначала распадается с образованием элементарной серы и далее происходит резкое снижение pH за счет окисления серы с образованием серной кислоты. Источником энергии для *Th. thiooxidans* служит окисление элементарной серы.



Окисляет ли *Th. thiooxidans* сероводород, остается неясным, так как в природной обстановке при низких значениях pH, которые необходимы для развития *Th. thiooxidans*, H_2S легко окисляется кислородом воздуха.

Из сульфидов тяжелых металлов *Th. thiooxidans* окисляет в слабой степени только антимонит. Другие сульфиды тяжелых металлов не окисляет.

Одной из наиболее характерных особенностей *Th. thiooxidans* является его способность развиваться лишь при сильно кислой среде в пределах pH от 0,6 до 4,5, при оптимуме pH 2,5. Он может накапливать в среде до 5—7% серной кислоты.

Th. thiooxidans — строгий аэроб и окисление серы хорошо идет при усиленной аэрации среды. Это хорошо согласуется и с тем, что оптимальные условия для его развития создаются при gH_2 24—26, а нижний предел лежит при gH_2 17.

Большое влияние на его жизнедеятельность оказывает влажность породы: при снижении влажности чистой серы ниже 11,4% и почвы до 2,3% бактерии погибают.

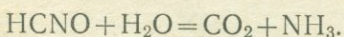
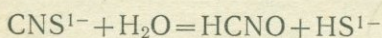
Близкими видами, отличающимися от *Th. thiooxidans* по форме колонии на агаризованной среде Эмото, является *Th. terminalis*, *Th. umbonatus*, *Th. lobatus*, *Th. crenatus*. Их правильнее

рассматривать как экологические варианты *Th. thiooxidans*. К этой же группе можно отнести *Th. concretivorus*, способный, в противоположность *Th. thiooxidans*, в качестве источника азота использовать не только аммиак, но и нитраты.

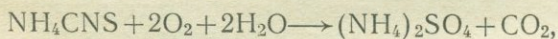
К экологическому варианту *Th. thiooxidans* Г. Заварзин относит и выделенный им из оз. Горячее в кальдере вулкана Головина (о. Кунашир) организм 58R (Заварзин, Жилина, 1964).

Thiobacillus y. Бактерии имеют форму мелкой палочки размером $0,5 \times 0,8$ — 1 мк, перед делением достигают длины до 2 мк, с одним жгутиком, размножаются поперечным делением (рис. 3). Организм был выделен Ляликовой (1967) на минеральной среде с Sb_2S_3 . На агаризованной среде с гипосульфитом образует мелкие колонии около 0,5 мм диаметром, белые от выпавшей серы. На МПА, МПБ, сусло-агаре, картофельном агаре, минеральной среде с глюкозой не растет. Хорошо развивается на жидкой среде Бейеринка с серой, гипосульфитом или антимионом. При этом среда подкисляется до pH 8 до 5. Подкисление среды до pH 4,5 вызывает отмирание бактерий. Способен окислять сульфид сурьмы (Sb_2S_3), галенит (PbS) и висмутин (Bi_2S_3), сульфиды других металлов, по-видимому, не окисляет. Строгий автотроф. Отличается от других автотрофов тем, что окисляет сульфиды при нейтральной реакции.

Thiobacillus thiocyanoxidans. Впервые Бейеринк (Beijerinck, 1904) обнаружил, что бактерии способны разрушать тиоцианаты. Этот организм в чистую культуру выделили Хаппольд и Кей (Happold, Key, 1937) и назвали *Th. thiocyanoxidans*. Это мелкая подвижная палочка размером $0,3 \times 0,5$ — 1 мк, строгий автотроф. Физиология его изучена Юатом (Youatt, 1954). Окисление начинается с гидролиза тиоцианата под действием фермента с образованием сульфида, который далее окисляется до серной кислоты



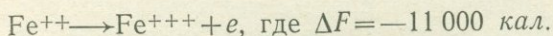
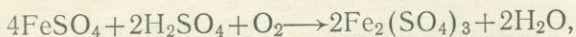
Суммарно процесс идет по следующей схеме



где $\Delta F = -220\,000$ кал.

Кроме тиоцианата эти бактерии могут окислять тиосульфат, серу и сероводород до сульфата. Политионаты в среде обнаружены не были. Оптимум развития лежит при нейтральной реакции. В новой систематике, предложенной Гатчинсоном и др. (Hutchinson et al., 1969), *Th. thiocyanoxidans* объединяется с *Th. thioparus*. Вопрос о систематике этого организма нельзя считать решенным окончательно, и мы рассматриваем его как самостоятельный вид.

Thiobacillus ferrooxidans. Кольмер, Темпл и Хинкль (Colmer, Hinkle, 1947; Colmer et al., 1949) выделили организм, представляющий короткую палочку размером $0,3-0,4 \times 0,7-1,7$ мк с одним полярным жгутиком (рис. 4). Клетки имеют сложную клеточную стенку и богаты внутриклеточными включениями (Remsen, Lundgren, 1966; Авакян, Каравайко, 1970). Кольмер и Хинкль показали, что бактерии способны окислять тиосульфат ($S_2O_3^{2-}$) до серы и серной кислоты, но основной особенностью их является окисление закисного железа в кислой среде



Летен и Брайли (Leathen, Braley, 1955) подвергли сомнению данные Кольмера и Хинкля о способности данного организма окислять соединения серы и предложили изменить название его на *Ferrobacillus ferrooxidans*. Однако исследования Бека (Beck, 1960), В. И. Иванова и Ляликовой (1962) подтвердили прежние данные Кольмера и за организмом осталось прежнее название. Сильвер (Silver, 1970) показал, что *Th. ferrooxidans* окисляет различные соединения серы — S^0 , S^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, $S_4O_6^{2-}$, $S_2O_4^{2-}$ и SO_3^{2-} . Тиосульфат, тетраионат и сульфиды окисляются бактериями в 5—8 раз быстрее, чем другие серные соединения. Тиоцианат *Th. ferrooxidans* не окисляет. Однако в зарубежной литературе часто встречается название *Ferrobacillus ferrooxidans*.

Th. ferrooxidans — строгий автотроф. Оптимум развития при рН около 2,5; при рН выше 4,5 бактерии не развиваются, тем не менее *Th. ferrooxidans* обнаруживается в рудах с нейтральной реакцией, где наблюдается микроразнональное окисление сульфидных минералов. Организм устойчив к ядовитому действию тяжелых металлов: развивается, если в питательной среде содержится даже до 6% $CuSO_4$. Колонии на тиосульфатном агаре очень маленькие и тонкие, с неровными краями, по мере старения — в центре белеют. На жидкой среде с тиосульфатом образуют неравномерную муть и на вторую-третью неделю на поверхности среды образуется пленочка. На гелевых пластинках с солями закисного железа вид колоний зависит от концентрации железа в среде: при маленьких концентрациях железа появляются зоны янтарного цвета, которые указывают на присутствие микроскопических колоний, покрытых окисью железа; при больших концентрациях закисного железа рост пышный и колонии становятся инкрустированными окисным железом. Жидкая среда с закисным железом сначала прозрачная, быстро приобретает янтарный оттенок, переходящий в красно-коричневый от образования окисного железа. Образуется пленочка из бактерий и окислов железа.

Рис. 1

Клетки *Th. thioragus* со жгутиком (четырёхсуточная культура), $\times 8000$ (Соколова, Каравайко, 1964)

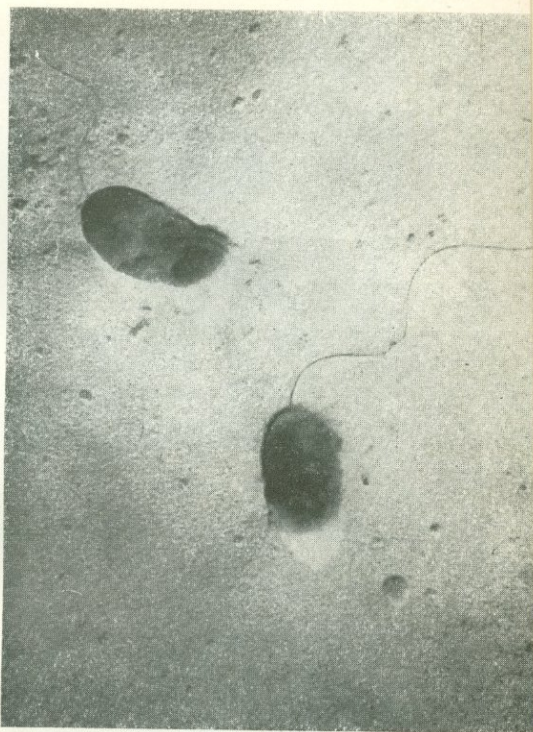
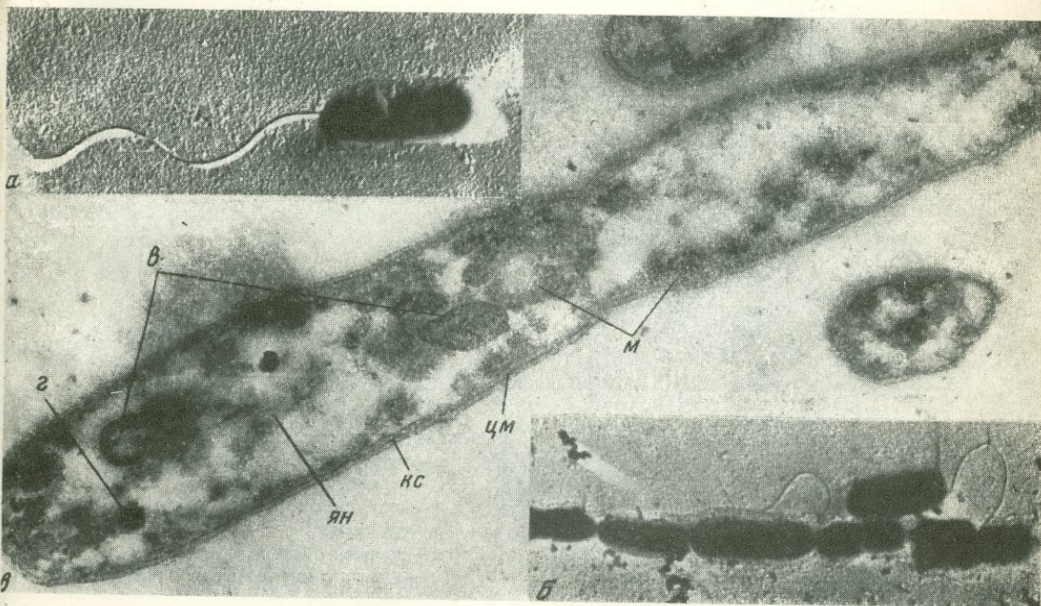


Рис. 2

Клетки *Th. thiooxidans* (Соколова, Каравайко, 1964; Каравайко, Авакян, 1971)

а — клетка со жгутиком, $\times 16\ 000$; *б* — цепочка клеток, $\times 12\ 000$; *в* — тонкое строение *Th. thiooxidans*, $\times 55\ 000$; *кс* — клеточная стенка; *в* — внутриклеточные включения, имеющие внутреннюю структуру; *г* — гранулы полиметафосфата; *м* — мезосомы, *ян* — ядерные нити, *цм* — цитоплазматическая мембрана



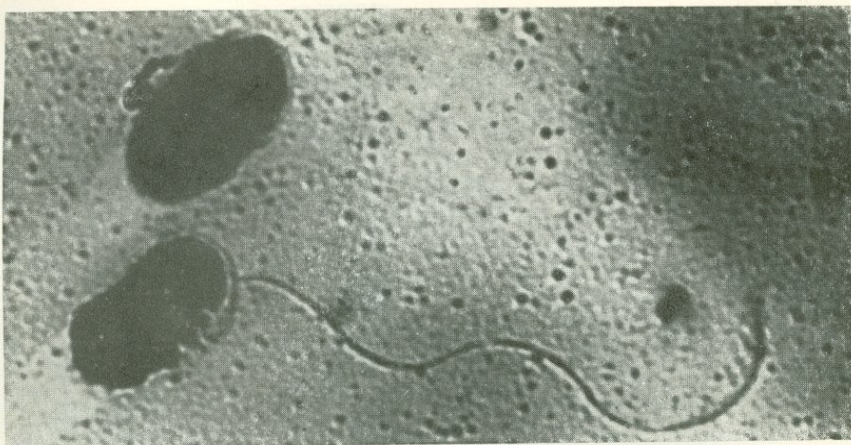


Рис. 3

Клетки *Thiobacillus «y»* со жгутиком,
 ×16 000
 (Ляликова, 1967)

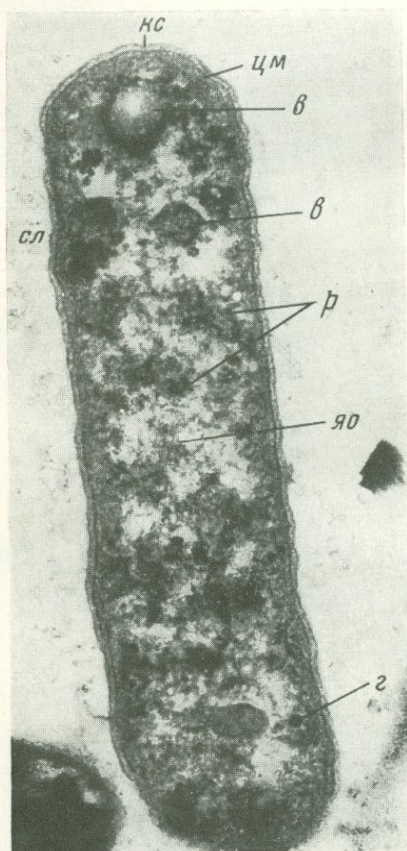


Рис. 4

Тонкое строение *Th. ferrooxidans*,
 ×66 500
 (Авакян, Каравайко, 1970)

сл — слизь,
 кс — клеточная стенка,
 в — внутриклеточные включения, имеющие
 внутреннюю структуру,
 з — гранулы полиметафосфата,
 р — рибосомы,
 яо — ядерная область,
 цм — цитоплазматическая мембрана

В качестве источника азота использует соли аммония, в меньшей мере нитраты.

По мере окисления закисного железа и накопления окисного растёт и величина окислительно-восстановительного потенциала. Пределы развития *Th. ferrooxidans* колеблются от rH_2 16 до rH_2 30. Организм лучше развивается при сильной аэрации среды.

В природе деятельность *Th. ferrooxidans* происходит там, где сульфиды выходят на дневную поверхность или к ним имеется доступ вод, богатых кислородом.

Основную роль в окислении сульфидов тяжелых металлов играет *Th. ferrooxidans*. Этот организм окисляет практически все известные сульфидные минералы (Ляликова, 1968). Перечень их следующий: пирит и марказит (FeS_2), пирротин (FeS), халькопирит (CuFeS_2), борнит (Cu_5FeS_4), ковеллин (CuS), халькозин (Cu_2S), тетраэдрит ($\text{Cu}_8\text{Sb}_2\text{S}_7$), энаргит ($3\text{Cu}_2\text{S} \cdot \text{As}_2\text{S}_5$), арсенопирит (FeAsS), реальгар (AsS), аурипигмент (As_2S_3), кобальтин (CoAsS), пентландит [$(\text{FeNi})_9\text{S}_8$], виоларит (Ni_2FeS_4), бравоит [$(\text{NiFe})\text{S}_2$], миллерит (NiS), полидимит (Ni_3S_4), антимонит (Sb_2S_3), молибденит (MoS_2), сфалерит (ZnS), марматит (ZnS) (сульфидный минерал цинка, содержащий железо), галенит (PbS), геокронит [$\text{Pb}_5(\text{Sb}, \text{As}_2)\text{S}_8$]. Окислению подвергается сульфидная сера, а в таких минералах, как пирит и халькопирит, сера и железо (Beck, Brown, 1968), что приводит к разрушению кристаллической решетки и переходу металлов в раствор.

Thiobacillus coproliticus был выделен и изучен Липманом и Мак Лисом (Lipman, Mc Lees, 1940). Этот организм служит как бы переходной формой к миксотрофным видам. Клетки длинные тонкие палочки размером $0,1-0,2 \times 6-8$ мк, подвижные, их длина колеблется от 3 до 40 мк. Палочки прямые, S-образные или изогнутые, на органических питательных средах рост слабый или отсутствует, имеют один жгутик.

На агаризованных тиосульфатных средах растёт в виде мелких водянистых колоний, которые в дальнейшем становятся белыми от осажённой серы. На жидкой среде с тиосульфатом последний окисляется, жидкость слегка мутнеет, но ни пленки, ни осадка не образуется. Реакция среды изменяется от pH 7,6 до 6,1. Сера в жидкой среде окисляется, но среда не мутнеет. Факультативный автотроф, аэроб.

Thiobacillus denitrificans. Впервые был выделен Бейеринком, а затем более подробно исследовался Лиске и Баалсрудани. Основное отличие от *Th. thioaragus* то, что он способен развиваться в анаэробных условиях, используя кислород нитратов для окисления серы или тиосульфата.

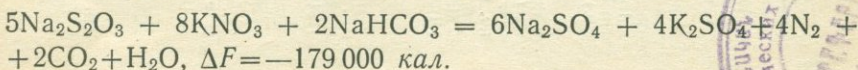
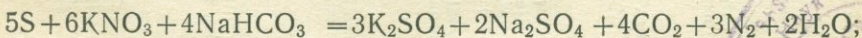


таблица 2

Некоторые свойства основных индикаторных микроорганизмов

Микроорганизм и литературный источник	Отношение к кислороду	Отношение к органическому веществу	рН		гН ₂		Источник энергии	Характер роста на средах	
			оптимум	пределы	оптимум	пределы		твердых	жидких
Desulfovibrio desulfuricans (Beijerinck, 1895, 1896, и др.)	Строгий анаэроб	Нуждается	7,5	4—10	7	3—10	Окисление органического вещества или молекулярного водорода за счет кислорода сульфатов	В пробирках сначала образование черных зон, затем общее почернение	Почернение среды
Thiobacillus thioparus (Beijerinck, 1904; Соколова, Каравайко, 1964)	То же	Не нуждается	7—9	4—11	17	11—25	S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰ , H ₂ S	На чашках колонии с аморфной и кристаллической серой	Пленка серы на поверхности среды
Thiobacillus у (Дяликова, 1967)	» »	То же	7,5—8,5	5—9,5	—	—	Sb ₂ S ₃ , PbS, BiS ₃ , S ₂ O ₃ ²⁻	На чашках со средой Бейеринка колонии с выпадением серы	На среде со Sb ₂ S ₃ сильное помутнение и прикрепление сульфида сурьмы ко дну колбы
Th. denitrificans (Baalsrud, Baalsrud, 1954)	Факультативный анаэроб	» »	7,0	6—8	—	—	H ₂ S, S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₄ O ₆ ²⁻ , SO ₃ ²⁻	В анаэробных условиях разрывы среды за счет образования свободного азота из нитратов	В аэробных условиях помутнение, образование пленки серы, а в анаэробных—газообразного азота
Th. denitrificans (Lieske, 1912)	Строгий анаэроб	» »	Слабощелочная реакция	—	—	—	H ₂ S, S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₂ O ₆ ²⁻ Окисляют эти соединения за счет кислорода нитратов	То же	То же
Th. denitrificans (Beijerinck, 1904, 1920)	Факультативный анаэроб	Растет на минеральных и органических средах	То же	—	—	—	S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻ , органическое вещество окисляют за счет кислорода воздуха и нитратов	» »	В аэробных условиях рост на минеральной среде аналогичен росту Th. thioparus

Th. thiooxidans (Waksman, Yoffe, 1922; Соколова, Ка- равайко, 1964)	Строгий аэроб	Не нуждается	2,5—3,5	0,5— 5,0	25	17—29	S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻	Очень мелкие коло- нии в виде капель росы, слегка опа- лесцирующие	Помутнение и сни- жение pH
Th. ferrooxidans (Colmer, Hinkle, 1947; Кузнецов и др., 1962)	То же	То же	1,8—3,5	1,5— 4,8	—	20—27	FeSO ₄ ; S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₄ O ₆ ²⁻ , S ²⁻ , S ₂ O ₄ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , пирит и др. сульфидные минера- лы	Желтые ореолы вокруг мельчайших колоний	Среда становится оранжевой от обра- зования сернисто- го окисного железа
Th. trautweinii (Trautwein, 1921, 1924; Starkey, 1935)	Факультатив- ный аэроб. В анаэробных условиях окис- ляет тиосуль- фат или органи- ческое ве- щество за счет кислорода нит- ратов	Растет на органическом ве- ществе и лучше окисляет тиосульфат в присутствии органического вещества	7—8—8,5	6—10	—	—	S ₂ O ₃ ²⁻ , органические вещества	Мелкие плоские сильно опалесциру- ющие колонии с го- лубоватым оттенком на среде с тиосуль- фатом	Помутнение без обра- зования элемен- тарной серы, pH не снижается
Th. coproliticus (Lipman, Mc Lees, 1940)	Аэроб	Не нуждается	7,0	4,0— 10,0	—	—	S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	На среде с тиосуль- фатом водянистые колонии с выпадени- ем серы	Помутнение среды; пленка серы и оса- док не образуются
Th. novellus (Star- key, 1934; Santer et al., 1959)	То же	Растет на органическом ве- ществе хорошо, слабо на средах с тио- сульфатом	8—9	Ниже pH 6 не растет	—	—	Органическое ве- щество, частично тиосульфат	Пышный рост на МПА, колонии опа- лесцируют; на тио- сульфатной среде— слабый	Равномерное помут- нение, сера не обра- зуется
Th. intermedius (London, 1963)	» »	На тиосуль- фатной среде рост хороший с осаждением серы. На сре- де с добавкой дрожжевого экстракта и других органи- ческих ве- ществ ско- рость роста увеличивается	4,0	1,9— 7,0	—	—	S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	Небольшие колонии с осаждением серы в центре	Жидкая среда с тио- сульфатом не мут- неет, но сильно под- кисляется вследст- вие образования серной кислоты

таблица 2 (окончание)

Микроорганизм и литературный источник	Отношение к кислороду	Отношение к органическому веществу	рН		гН ₂		Источник энергии	Характер роста на средах	
			оптимум	пределы	оптимум	пределы		твердых	жидких
Th. perometabolis (London, Rittenberg, 1967)	Строгий аэроб	Нуждается в дрожжевом автолизате, добавка тиосульфата стимулирует рост	6,9	2,8—8,0	—	—	Органические вещества совместно с тиосульфатом	На среде S ₂ O ₃ ²⁻ при наличии дрожжевого автолизата колонии 1—3 мм, на поверхности выпадает сера	Жидкая среда с тиосульфатом мутнеет и подкисляется
Thiobacillus A2 (Taylor, Hoare, 1969)	Факультативный аэроб	Хорошо растет на органических средах	8,45	5,5—9,5	—	—	Окисляет S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰ , сульфиды, сульфит и органические вещества. Автотрофный рост возможен только на среде с S ₂ O ₃ ²⁻	На тиосульфатном агаре колонии маленькие, прозрачные. Через неделю в центре утолщаются и окружены прозрачной бахромой, размер колонии от 0,5 до 2 мм	Жидкая среда с тиосульфатом мутнеет
Th. thiooxyanoxidans	Строгий аэроб	Не нуждается	6,8—7,6	—	—	—	H ₂ S, S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰ , CNS-	На тиоцианатном агаре колонии круглые с ровным краем, выпуклые. Молодые—прозрачные, голубоватые; старые—желтоватые	Пленка серы на среде с S ₂ O ₃ ²⁻ не образуется
Th. neapolitanus	То же	То же	6,0	3,0—8,5	—	—	H ₂ S, S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰ , S ₄ O ₆ ²⁻	Образует мелкие, круглые колонии, желтовато-белые от отжившей серы	Пленка серы на поверхности среды

По-видимому, под одним названием существуют два различных организма.

Th. denitrificans, описанный Лиске (Lieske, 1912) и Баалсрудами (Baalsrud, Baalsrud, 1954), является строгим автотрофом. Это мелкие грамтрицательные палочки, $0,4-0,5 \times 1$ мк, с одним жгутиком. По данным Баалсрудов, этот организм очень чувствителен к нитритам и в качестве источника азота может использовать лишь аммонийные соли. Для предотвращения накопления нитритов в среде в процессе денитрификации молярное отношение азота нитратов к сере (N/S) не должно превышать 0,4.

Бактерии лучше развиваются на минеральной среде при pH 6—8, а на органических средах не развиваются.

Процесс восстановления нитратов до газообразного азота при окислении субстрата можно представить следующим образом: $\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$.

Нитратредуцирующая ферментная система оказалась весьма чувствительной к нитритам. При добавлении в среду 0,003% KNO_2 процесс задерживается на 40%, а при 0,03% KNO_2 — вообще приостанавливается. При культивировании на воздухе бактерии развиваются хорошо, но при этом, как отмечают Баалсруды, теряют способность к денитрификации. Эти бактерии не только не развивались на органических средах, но присутствие 0,2% солей уксусной, масляной или янтарной кислот, сахаров или аминокислот угнетает их рост.

Штаммы *Th. denitrificans*, выделенные Бейеринком (Beijerinck, 1904, 1920) и Тюльпановой-Мосевич (1930), миксотрофы. Они способны к денитрификации на минеральных средах с серой и хорошо развиваются на обычном мясо-пептонном агаре, при этом способность к денитрификации на минеральных средах задерживается или вовсе утрачивается.

В качестве источников энергии при автотрофном росте они используют элементарную серу и тиосульфаты.

Выделенный Бейеринком штамм представляет палочку, имеющую 6—8 жгутиков.

Систематика отдельных видов *Th. denitrificans* изучена еще недостаточно хорошо, чтобы эти два организма рассматривать, как отдельные виды, тем более, что Баалсруды высказывают мнение, правда мало обоснованное, что все три вида тионовых бактерий следует рассматривать, как разновидности одного организма.

Миксотрофные штаммы тионовых бактерий

Сюда относятся из наиболее изученных *Thiobacillus novellus*, *Th. trautweinii*, *Th. intermedius*, *Th. perometabolis*, *Th. A2*.

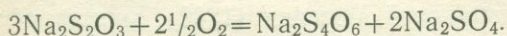
Thiobacillus novellus. Впервые этот организм был выделен Старки (Starkey, 1934, 1935). Клетки короткие неподвижные,

почти кокковидные, палочки, $0,4-0,6 \times 0,6-1,8$ мк. На минеральной среде растет медленно, тиосульфат до конца не окисляет. Продуктом окисления являются сульфаты. Оптимум развития при рН 8—9, нижний предел—при рН 5—6. На тиосульфатном агаре образует мелкие колонии с включениями серы (Starkey, 1935; Parker, Prisk, 1953). Внутри тиосульфатного агара появляются кристаллы CaSO_4 .

Th. novellus значительно лучше растет на МПА, особенно хорошо на средах с солями глутаминовой и аспарагиновой кислот. Сахара не усваивает. Желатину слегка разжижает. Строгий аэроб.

Thiobacillus trautweinii был впервые выделен в чистую культуру Траутвейном (Trautwein, 1921, 1924), а впоследствии исследовался Старки (Starkey, 1935), Паркером и Приском (Parker, Prisk, 1953). Это мелкие палочки, $0,5 \times 1-2$ мк, подвижны, имеют 6—8 жгутиков. По морфологическим и физиологическим свойствам близок к миксотрофному штамму *Th. denitrificans*, выделенному Бейеринком. Факультативный аэроб. В анаэробных условиях развивается за счет восстановления нитратов до газообразного азота.

Отличается от *Th. denitrificans* тем, что на жидкой среде с тиосульфатом растет слабо, очень медленно окисляет тиосульфат до тетратрионата. Элементарной серы не образует, среду подщелачивает.



Окисление тиосульфата ускоряется в присутствии органических веществ. Оптимум роста при рН 7,8—8,5, пределы развития при рН 6—10. Хорошо растет на органических средах, образуя слизистые колонии. По новой систематике рода *Thiobacillus* эту группу бактерий предлагают исключить из тионовых и отнести к гетеротрофам (Hutchinson et al., 1969).

Thiobacillus intermedius выделен в чистую культуру Лондоном (London, 1963). Клетки в виде палочек, $0,5 \times 1-2$ мк, граммотрицательные, не спорообразующие, с одним полярным жгутиком. На минеральном тиосульфатном агаре образует колонии меньше 1 мм в диаметре, желтоватые, с выпуклым центром. Такой вид колонии зависит от наличия мельчайших капелек серы, но выпадение серы гораздо слабее, чем у *Th. thioragus*. Поверхность агара кажется как бы покрытой пылью, благодаря малой величине колоний и выпадению вокруг колоний серы из тиосульфата. Колонии на среде с дрожжевым экстрактом и тиосульфатом гораздо большей величины.

Клетки способны к автотрофному росту и тогда тиосульфатная среда подкисляется до рН 1,9—2,2. В качестве источников энергии *Th. intermedius* использует тиосульфат и серу.

Скорость роста на тиосульфатной среде увеличивается при добавлении дрожжевого экстракта, глюкозы, фруктозы, сахарозы, мальтозы, аспарагиновой или глутаминовой кислот.

Выделение культуры лучше вести на минеральной среде при рН 3—4 с добавлением окисляемых неорганических соединений серы и небольшого количества дрожжевого экстракта.

Организм может расти на средах с дрожжевым экстрактом и глюкозой или глутаминовой кислотой в отсутствие окисляемых соединений серы.

Thiobacillus perometabolis выделен в чистую культуру Лондоном и Риттенбергом (London, Rittenberg, 1967). Клетки в виде палочек размером $0,5 \times 1-2$ мк, граммотрицательные, неспорообразующие, подвижные, с одним жгутиком. На тиосульфатной минеральной среде с агаром едва заметный рост. На агаре с 0,5% дрожжевого экстракта колонии маленькие, примерно 1 мм диаметром, белые, опалесцирующие. Колонии на агаре с 0,1% дрожжевого экстракта и 5% тиосульфата с гладким краем и кремового оттенка имеют диаметр 1—3 мм. У двухнедельной культуры центр колонии становится оранжевым от выпадения серы, но отложений серы в центре колонии значительно меньше, чем у *Th. thioparvus* или *Th. intermedius*.

Клетки не способны к автотрофному росту. Хороший рост наблюдается на минеральной среде с тиосульфатом или серой при добавлении дрожжевого экстракта, казеинового гидролизата, фруктозы, ксилитозы или арабинозы. Окисление серы идет с образованием серной кислоты; рН среды при этом снижается до 2,8. Растет на средах с дрожжевым или казеиновым гидролизатом. При малом количестве казеинового гидролизата рост стимулируется добавкой различных органических соединений. На одних органических соединениях без добавления казеинового гидролизата не растет.

Оптимальная температура роста 30°, верхняя граница —40°. Строгий аэроб, не способен расти в анаэробных условиях в присутствии нитратов.

Thiobacillus A2. Организм, близкий к *Th. novellus*, выделен Тейлором (Taylor, Hoage, 1969) из накопительной культуры *Th. denitrificans*. Клетки короткие, безжгутиковые, граммотрицательные палочки, почти кокковидные по форме, размером $0,5-0,7 \times 1,1-1,8$ мк. Соединены по две или образуют короткие цепочки при росте на органических средах. Спор не образует.

На тиосульфатном агаре при рН 8,5 образует маленькие прозрачные колонии. Старые колонии (через неделю) в центре утолщены и окружены прозрачной бахромой. Оптимальный рН 8,0—9,0. Клетки, выросшие на тиосульфате, окисляют тиосульфат, серу, сульфиды. Тетратионат и тиоцианат не окисляют. Автотрофный рост возможен только за счет окисления тиосульфата.

Организм хорошо растет на органических средах. После посева с органической на минеральную среду с тиосульфатом организм также растет, вызывая снижение рН.

В анаэробных условиях бактерии хорошо растут на среде с KNO_3 и ацетатом, формиатом, глюконатом и др. Нитриты не образуются. Автотрофный рост в анаэробных условиях не происходит. В качестве источника азота организм использует мочевины, нитраты, глутаминовую и аспарагиновую кислоты. Организм также растет на тиосульфате после замены NH_4Cl мочевиной.

Другие факультативно-автотрофные тионовые бактерии были выделены Померанц (1966) из подземных вод нефтяных и серных месторождений на среде Старки (Starkey, 1935). Клетки грамотрицательные, беспоровые, подвижные палочки размером $0,5\text{—}0,8 \times 1,5\text{—}2$ мк, с одним полярным жгутиком. Организм образует две формы колоний (S и R). Колонии S — круглые, с гладкой блестящей поверхностью, ровными краями, выпуклые; колонии R — плоские, с сетчатой поверхностью и волнистыми краями. При старении образует сине-зеленый пигмент, проникающий в агар. Окисляет тиосульфат, рН среды изменяется от 7,6 до 6,8. В процессе окисления образуется сера и небольшое количество сульфатов. Растет на РПА, молоке, желатине, картофеле. Способны также использовать в качестве источника углерода пропан, нафталин и нафтеновые кислоты. Способность расти в анаэробных условиях не изучена. Организм отнесен к новому виду миксотрофов.

В последнее время из месторождений сульфидных руд нами были выделены организмы, которые в накопительной культуре окисляют $\text{S}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ и серу и растут на органических средах. На МПА и аспарагине выделяется сине-зеленый пигмент. Из накопительной культуры нами выделен автотроф, подобный *Th. thiocupoxidans*, и три спутника, которые растут на органических средах, а на минеральной среде окисляют только $\text{S}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ до $\text{S}/\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$. Эти бактерии близки к *Pseudomonas denitrificans* и *Ps. fluorescens*. Два из них выделяют сине-зеленый пигмент на МПА и некоторых других органических средах. Физиология выделенных организмов изучается.

Поэтому чистота культуры, с которой работала Померанц, вызывает сомнение.

Сравнительная характеристика тионовых бактерий представлена в табл. 2 (см. стр. 18—20).

Ключ для определения видов

Thiobacillus (по Бердже), дополненный авторами.

I. Тиосульфат окисляют с подкислением среды

A. Тетратионат, как промежуточный продукт не образуется

1. Строгие автотрофы

а. Аэробы

б. Соли закисного железа не окисляют
Thiobacillus thioaragus

бб. Соли закисного железа не окисляют, окисляют тиоцианаты, оптимум pH 7,0. *Thiobacillus thiocyanoxidans*

ббб. Соли закисного железа не окисляют, окисляют антимонит ($Sb_2 S_3$), галенит ($Pb S$) и висмутин ($Bi_2 S_3$). *Thiobacillus y*

бббб. Соли закисного железа окисляют. . . . *Thiobacillus ferrooxidans*

аа. Факультативный анаэроб, растет в присутствии нитратов. *Thiobacillus denitrificans* (Baalsrud, Baalsrud, 1954)

ааа. Строгий анаэроб, растет в присутствии нитратов. . . . *Thiobacillus denitrificans* (Lieske, 1912)

2. Факультативные автотрофы

а. Аэробы

б. Элементарную серу не окисляет. . . . *Thiobacillus novellus*

бб. Окисляют элементарную серу до сульфатов. . . . *Thiobacillus coproliticus*, *Thiobacillus intermedius*, *Thiobacillus perometabolis*

ббб. В анаэробных условиях с KNO_3 развивается как гетеротроф на органических средах. . . . *Thiobacillus A2*

аа. Факультативные анаэробы, растут в присутствии нитратов. *Thiobacillus denitrificans* (Beijerinck, 1920; Тюльпанова-Мосевич, 1930)

Б. Тетратрионат образуется как промежуточный продукт окисления

1. Строгие автотрофы

а. Аэробы

б. Конечное pH 3,0. . . . *Thiobacillus neapolitanus*

бб. Конечное pH 1,0 или ниже: нитраты использует. *Thiobacillus concretivorus*; нитраты не использует. *Th. thiooxidans*

II. Тиосульфат окисляет с подщелочением среды. . . *Th. trautweinii*

Микроорганизмы, участвующие в восстановлении железа и марганца

Процессы восстановления и окисления соединений железа и марганца в основном происходят биогенным путем. Этот вопрос детально разобран в монографии С. И. Кузнецова (1970). В кру-

говороте этих соединений принимают участие микроорганизмы, относящиеся к различным систематическим группам. Поскольку подвижны преимущественно восстановленные соединения марганца, то наибольший интерес с точки зрения выщелачивания этих элементов из руды представляют бактерии, способные переводить марганец в закисное состояние.

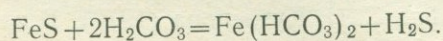
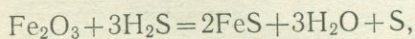
Восстановление железа и марганца теснейшим образом связано с деятельностью микрофлоры в целом, создающей в окружающей среде пониженный окислительно-восстановительный потенциал. Железо и марганец весьма чувствительны к изменению окружающих окислительно-восстановительных условий и поэтому можно было ожидать, что при снижении окислительно-восстановительного потенциала окружающей среды они могут легко переходить в закисную форму за счет химических процессов.

Однако исследования Гальворсона и Старки (Halvorson, Starkey, 1927) показали, что восстановление $\text{Fe}(\text{OH})_3$ в стерильных условиях в почве не идет, одного снижения окислительных условий недостаточно, чтобы восстановить $\text{Fe}(\text{OH})_3$ даже при pH 3,0.

Робертс (Roberts, 1947) выделил 265 культур, способных в присутствии глюкозы восстанавливать соединения окисного железа, однако среди них специфической особенностью обладал лишь *Bac. polymyxa*. Далее эти вопросы изучал Бромфильд и показал, что наиболее активно из выделенных им культур восстанавливали соединения железа *Bac. polymyxa* и *Bac. circulans*.

Восстановление естественных железо-марганцевых отложений изучал Трошанов (1964). В опытах он использовал среду Бромфильда с сахарозой. Показано, что восстановление железа и марганца происходило только в присутствии различных штаммов *Bac. circulans* и *Bac. polymyxa*. Окислительно-восстановительный потенциал в среде снижался, а количество Fe^{2+} и Mn^{2+} за 15 суток возросло соответственно до 244 и 526 мг/л. Некоторые штаммы способны были восстанавливать только марганец. Другие же штаммы восстанавливали и железо, и марганец. В среде без бактерий восстановления железа и марганца не происходило.

Бромфильд (Bromfield, 1954) считает, что для восстановления железа бактерии должны обладать дегидрогеназной системой и образовывать специфические органические кислоты, при помощи которых труднорастворимые соединения трехвалентного железа переходят в раствор в виде ионов или органоминеральных комплексов. По мнению Н. Г. Холодного (Cholodny, 1929), процесс восстановления окислов железа и марганца особенно легко протекает при наличии некоторого количества сероводорода, который часто встречается в иловых отложениях. Он считает, что процесс этот можно выразить следующими уравнениями.



Очевидно, этот процесс в значительной мере связан с деятельностью как сульфатредуцирующих, так и спорообразующих бактерий, подобных *Bac. circulans* и *Bac. polymуха*.

Способностью к восстановлению Fe^{3+} до Fe^{2+} обладают многие представители *Bacillus* и *Pseudomonas* и некоторые грибы (Ottow, 1970). В этом процессе, вероятно, участвует нитратредуктаза. Список других микроорганизмов, способных восстанавливать MnO_2 , велик и включает бактерии из различных систематических групп, как, например, целлюлозоразрушающие, пропионовокислые, молочнокислые и др.

Восстановление марганца происходит, вероятно, и при окислении серы *Th. thiooxidans* (Vavra, Frederick, 1952).

Характеристика *Bac. circulans* и *Bac. polymуха*, как специфических восстановителей железа и марганца, приводится ниже (Bergey, 1957).

Bac. circulans имеют форму палочек размером $0,5-0,7 \times 2,0-5,0$ мк, слегка искривленные, с закругленными концами или заостренные, обычно не образуют цепочек. Активно подвижны, грамтрицательны. Содержат метахроматиновые гранулы. Образуют капсулу. Споры размером $0,8-1,4 \times 1,1-2,4$ мк, эллипсоидальные, терминальные до субтерминальных. На агаре образует тонкие, расплывчатые, полупрозрачные до прозрачных, иногда едва лишь видимые или маленькие до средних размеров, непрозрачные, цельные колонии. На среде с солями аммония в качестве источника азота газ не образует. На глюкозе образует кислоту. Кислота образуется из арабинозы, ксилозы и сахарозы. Крахмал гидролизует. На жидкой среде с глюкозой снижает рН ниже 5,5. Аэроб, обычно факультативный анаэроб. Растет на среде с глюкозой в анаэробных условиях при рН 4,8—6,0. Оптимум температуры около 30°. Широко распространен в почве, озерах и марганцевых месторождениях (Bergey, 1957; Соколова-Дубинина, Дерюгина, 1966, 1967а, б).

Bac. polymуха имеют форму палочки размером $0,6-1,0 \times 2,0-7,0$ мк, не образуют цепочек, подвижные. Окраска по Граму варьирует. Образует споры размером $1,2-1,5 \times 1,5-2,5$ мк, эллипсоидальные, центральные до субтерминальных.

На агаре образует обычно тонкие, полупрозрачные, расплывающиеся, лопастные или бахромчатые колонии. Шероховатая стадия колоний — маленькие, округлые, белесоватые, иногда вязкие. На среде с солями аммония в качестве источника азота образуют кислоту и обычно газ и слизь из арабинозы, ксилозы, рамнозы, глюкозы, лактозы, маннита и сорбита. Гидролизует крахмал. рН на среде с глюкозой от 4,8 до 7,2. Для роста необходим биотин. Аэроб, факультативный анаэроб. В анаэробных условиях на глюкозе растет с образованием газа. Оптимум температуры между 28 и 30°. Широко распространен в почве, воде, молоке и разлагающихся растительных остатках, а по данным Соколовой-Дубининой и Дерюгиной (1966, 1967а, б) — в озерах и марганцевых месторождениях.

ГЕОХИМИЧЕСКАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В МЕСТОРОЖДЕНИЯХ СУЛЬФИДНЫХ РУД

Геохимическая характеристика месторождений сульфидных руд

Месторождения сульфидных руд по типу образования разделяются на гидротермальные и осадочные. Отложение сульфидов в гидротермальных месторождениях происходит из термальных растворов путем замещения пород и заполнения трещин при разных температурах и давлениях.

Осадочные месторождения, к которым относятся, например, медистые песчаники, делятся на сингенетические и эпигенетические. В сингенетических месторождениях накопление сульфидов происходит одновременно с осадконакоплением. Эпигенетические месторождения сульфидных руд, будучи вторичными по отношению к вмещающим породам, образовались позднее — в стадии позднего диагенеза вмещающих пород.

Сульфидные минералы в поверхностной зоне литосферы неустойчивы и заменяются более инертными минералами, как например, сульфатами, окислами и др. Эти минералы широко распространены в поверхностных горизонтах сульфидных месторождений. Окисление сульфидов является экзотермической реакцией. Это видно из сравнений теплот образования некоторых сульфидов и сульфатов (в ккал на 1 моль при 25°) (Сауков, 1966).

ZnS—43	ZnSO ₄ —229
CdS—34	CdSO ₄ —219
CuS—10	CuSO ₄ —181
PbS—20	PbSO ₄ —215
Ag ₂ S—3	AgSO ₄ —167

В природных условиях выделение тепла при благоприятных условиях может быть настолько большим, что приводит к разогреву и самовозгоранию руды. Особенно эти процессы интенсивно развиваются при разработке колчеданных месторождений, когда

в рудное тело открывается свободный доступ поверхностным водам и кислороду. Явление это широко распространено на месторождениях сульфидных руд Урала (Смирнов, 1955) и получило название «подземных колчеданных пожаров».

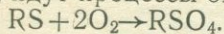
Вопрос об образовании зон окисления сульфидных месторождений детально разобран в классической монографии академика Смирнова (1955).

Вертикальная зональность при гипергенезе сульфидных месторождений, по Смирнову, приводится ниже.

Гидрогеологические зоны	Вертикальная зональность на сульфидных месторождениях
Зона просачивания (кислородные воды)	Зона окисления Поверхностный слой Подзона окисленных руд Подзона окисленных выщелоченных руд Подзона богатых окисленных руд
Уровень грунтовых вод	
Зона истечения (воды содержат ничтожные количества кислорода)	Зона вторичного обогащения сульфидных руд
Застойная зона, кислорода нет	Зона первичных (гипогенных) сульфидных руд

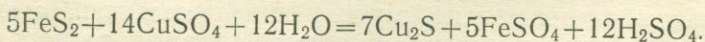
Все перечисленные зоны редко встречаются в пределах одного месторождения. Полный разрез наблюдается лишь при сочетании многих факторов, способствующих развитию зоны окисления сульфидных месторождений. Окисление сульфидов идет, в основном, по трещинам, а не по всей массе руды. Поэтому часто при глубокой зоне окисления в верхних частях ее можно обнаружить участки слабоизмененных руд. Все перечисленные зоны отличаются как по геохимическим процессам, так и по минералогии.

В зоне окисления, где имеет место свободный доступ кислорода, идут процессы окисления сульфидных минералов:



Глубина зоны окисления сульфидных месторождений определяется нижней границей, до которой доходит свободный кислород.

В зоне просачивания растворимые сульфаты металлов выщелачиваются и выносятся из зоны окисления. Главным компонентом зоны окисления сульфидных месторождений является лимонит. В зоне вторичного сульфидного обогащения, обедненной кислородом, происходит цементация металлов. Например, при взаимодействии с пиритом халькозин образуется по следующей реакции:



Содержание меди в зоне вторичного обогащения увеличивается в 3—4 раза по сравнению с первичными рудами. Возможно,

что в образовании вторичных сульфидов в застойной зоне принимают участие и сульфатредуцирующие бактерии, образующие сероводород. Эти бактерии часто обнаруживаются в месторождениях сульфидных руд. Однако роль их в образовании вторичных сульфидных минералов в месторождениях еще не изучена.

Геохимическая обстановка в месторождениях резко изменяется в процессе их разработки. При проходке шахт и штреков создаются условия для проникновения кислородсодержащих вод и кислорода на большую глубину, а окислительные процессы захватывают практически все обрабатываемое рудное тело.

Развитие зоны окисления на месторождениях зависит от ряда условий. Большое влияние оказывают климатические факторы и, в частности, количество осадков и средняя годовая температура. Количество осадков и температура определяют степень насыщенности пород водой, а следовательно, и концентрированность растворов, циркулирующих в зонах просачивания и истечения. Наиболее сильное окисление происходит в тропических нормально сухих областях с периодическими дождевыми сезонами. В полярных областях и областях с крайне сухим климатом окисление или незначительно, или вовсе отсутствует (табл. 3).

таблица 3.

Характеристика зон окисления и сульфидного обогащения в разных климатических условиях (Смирнов, 1955)

Зона	Климат					
	тропический влажный	тропический сухой	умеренный влажный	умеренный сухой	полярный влажный	полярный сухой
Окисления	Прекрасно выражена и часто выщелочена	Прекрасно выражена	Обычно хорошо выражена	Часто прекрасно выражена	Крайне слабо проявлена	Крайне слабо проявлена
Сульфидного обогащения	Обогащение отсутствует или плохо проявлено	Часто прекрасно выражена	Чаще выражена плохо	Нередко хорошо выражена	Отсутствует	Отсутствует

На ход окисления сульфидных руд и степень развития зоны окисления большое влияние оказывают тектонические факторы, например, характер рудного тела и боковых пород, а также присутствие других сульфидов, химизм циркулирующих вод и др.

Трещиноватость и водопроницаемость боковых пород и пород рудного тела определяют глубину проникновения кислородсодержащих вод и, следовательно, глубину зоны окисления. На окислении сульфидных руд сильно сказываются степень раздробленности пород, величина зерен сульфидов, характер вмещающих пород и другие факторы.

Большое влияние на ход окисления оказывает минеральный состав руд и, в частности, совместное присутствие различных сульфидных минералов (Смирнов, 1955; Сауков, 1966).

Известно, что различные сульфиды обладают различной скоростью окисления. В монографии Смирнова по степени устойчивости к окислению в природных условиях сульфидные минералы распределены на три группы: 1) пирротин, сфалерит и халькозин. Халькозин относится к наиболее легко окисляемым; 2) пирит, галенит и энаргит отнесены к наиболее трудно окисляемым; 3) остальные сульфидные минералы занимают промежуточное положение. При совместном присутствии их скорость окисления повышается. В этом случае в системе сульфидов в растворе образуются гальванические пары. Катодом всегда является сульфид с более высоким потенциалом, а анодом — с более низким потенциалом. В результате прохождения тока идет электролиз воды, кислород выделяется на аноде и, таким образом, ускоряется окисление сульфида-анода. Выделяющийся водород будет предохранять от окисления сульфид-катод. Так, сфалерит (ZnS) в контакте с марказитом (FeS_2) окисляется в 10—14 раз быстрее, чем один в водно-воздушной обстановке, а марказит, наоборот, окисляется в 4—6 раз медленнее.

На развитие зон окисления в сульфидных месторождениях огромное влияние оказывает присутствие пирита, в результате окисления которого образуются большие количества сульфата окиси железа. Последний является мощным окислителем сульфидных минералов и поставщиком кислорода в более глубокие участки месторождений. Большое влияние на развитие зон окисления оказывает также химизм циркулирующих растворов, их рН и пр. И, наконец, в окислении сульфидных минералов огромную роль играют тионовые бактерии.

Следует отметить, что окисление сульфидов в месторождениях долгое время рассматривалось как чисто химический процесс, происходящий под воздействием различных физико-химических факторов. В настоящее время уже достаточно полно доказано, что в окислении сульфидных минералов и в образовании зон окисления большую роль играют тионовые бактерии и, в особенности, *Thiobacillus ferrooxidans*. Этот вопрос детально разобран в многочисленных статьях и монографиях, изданных за последние годы (Кузнецов и др., 1962; Соколова, Каравайко, 1964, и др.). Характеристика этих и других бактерий рассмотрена выше. Поэтому в настоящее время при изучении механизма окислительных процессов в рудных месторождениях роль бактерий нельзя недоучитывать.

Химический состав рудничных вод и выщелачивание цветных металлов

В табл. 4 представлены анализы некоторых рудничных вод (Смирнов, 1955).

Характерными особенностями вод, циркулирующих в зоне окисления, являются их кислая реакция, значительная сульфатность, содержание свободной серной кислоты и значительных количеств металлов меди, цинка, железа и др., которые выщелачиваются из руд. Таким образом, в процессе окисления сульфидных минералов происходит вымывание и перераспределение металлов в месторождениях. О масштабах выщелачивания цветных металлов из окисляющихся руд можно судить по результатам анализов воды Дегтярского месторождения (шахта Капитальная № 2). Суточный приток составляет около 3000 м³, рН воды равен 2,5—

таблица 4.□

Данные анализов некоторых рудничных вод (в частях на 1 млн. частей воды, Смирнов, 1955)

Ион	Зона окисления месторождений							
	медных			серебряных	медно-цинковых	свинцово-цинковых		
	I	II	III			I	II	III
SO ₄	71 053,3	2063,0	444,0	230,1	2672,0	6153,2	1647,6	2723,4
Cl	17,7	2,2	0,7	Следы	13,0	2,7	3,7	6,8
PO ₄	1,5	—	—	—	Следы	—	—	—
SiO ₂	67,4	73,9	20,6	8,8	47,7	107,6	23,2	36,4
K	6,8	7,8	3,2	—	13,1	0,5	3,2	4,2
Na	41,7	5,9	3,1	—	39,6	49,9	13,0	48,2
Ca	307,7	233,0	13,1	106,2	132,5	345,3	260,5	603,6
Mg	149,2	63,3	12,2	17,4	61,6	25,2	43,6	57,6
Al	85,2	165,0	40,1	1,49	83,5	142,1	11,7	8,4
Mn	13,2	0,3	0,3	1,88	12,0	1,7	—	3,4
Cu	45 633,2	40,8	12,8	—	59,1	3,7	—	Следы
Zn	411,2	54,3	6,1	13,88	852,0	2412,0	345,1	454,5
Cd	—	—	—	—	41,1	9,0	—	0,8
Pd	—	—	—	—	—	—	—	—
Fe ²⁺	—	1,3	Следы	—	—	—	—	—
Fe ³⁺	49,8	—	—	—	159,8	474,6	142,8	274,7
		136,3	29,9	4,69				

Реакция везде кислая

Боковая порода	Кварцевый монзонит	Сланцы и граувакки	Биотитовый сланец	Кварцевый монзонит	Кремнистый известняк
----------------	--------------------	--------------------	-------------------	--------------------	----------------------

2,8. Приводим данные выноса меди, цинка, железа и серной кислоты с рудничными водами горизонтов (кг/сутки).

	Горизонт, м*		
	190	250	310
Дебит, м ³ /час	11,9	57,4	44,7
Железо	1710,7	2188	2217
Медь	123	200	506
Цинк	168	358	1180

* Среднесуточные данные за 15 дней.

Ниже и в табл. 5 приводятся данные о водной миграции некоторых цветных металлов в зависимости от рН среды (Сауков, 1966; Михайлов, 1962, 1964; Полькин и др., 1970).

Видно, что наиболее благоприятные условия для выщелачивания большинства металлов имеют место при низких значениях рН растворов.

Металл	Поведение металлов
Fe ²⁺	Сильная миграция в кислой среде. Осаждение из разбавленных растворов при рН 5,5
Fe ³⁺	Сильная водная миграция в кислой среде, рН ниже 3,0. Осаждение из разбавленных растворов при рН около 3,0. Сильный осадитель многих металлов (Mo, As и др.)
Cu ²⁺	Водная миграция в кислой среде. Осаждение гидрата из разбавленных растворов при рН 5,4
Ni ²⁺	Водная миграция в кислой и слабокислой среде. Осаждение из разбавленных растворов при рН 6,7
Zn ²⁺	Водная миграция в кислой и нейтральной среде. Осаждение гидрата из разбавленных растворов при рН 5,2
Pb ²⁺	Не выщелачивается, выпадает в виде нерастворимого сульфата свинца
Mo	Очень слабая водная миграция в катионных формах в кислой среде (рН 2,5—6,0). Действие осадителей интенсивное. Слабая миграция в форме молибдатов, частично в виде катионных компонентов при рН от 4—6 до 7,5. Интенсивные осадители — ионы Fe и Ca. Интенсивная миграция в форме молибдатов щелочных и щелочноземельных металлов при рН 6—8
Sb ³⁺	Подвижен только в кислой среде при рН ниже 2,0
Al ³⁺	Миграция в кислой среде, рН ниже 4,0. Осаждение из разбавленных растворов при рН 4,1
Sn ²⁺	Водная миграция в очень кислой среде. Осаждение гидрата окиси из разбавленных растворов при рН 2,0
As ⁵⁺	Водная миграция в кислой среде при рН ниже 3,0, в основном выпадает в осадок в виде арсенатов
Mn ²⁺	Осаждение из разбавленных растворов при рН 8,5—8,8
Mn ⁴⁺	Осаждается из кислых, нейтральных и щелочных растворов

Количество металлов, которое содержится в различных водах при том или ином значении рН, зависит от растворимости сульфатов металлов, буферности растворов, наличия органических ве-

таблица 5.

Водная миграция некоторых редких металлов в зависимости от pH среды (Яковлева, 1959; Разенкова, Галактионова, 1963; Иванов, 1966; Куликова, 1966, а, б; Векулова, 1966; Голева, Воробьева, 1967)

Металл	Поведение металлов
Германий (Ge)	В слабокислых и слабощелочных водах (pH 5,9—7,5) мигрирует в виде германиевой кислоты (H_2GeO_3) и гидрогерманат-иона $HGeO_3^-$. В сильно-кислых водах с pH ниже 3,0 мигрирует в виде Ge^{4+} , в сильнощелочных—с pH выше 8,0 появляются анионы германиевой кислоты (GeO_3^{2-})
Галлий (Ga)	Миграция осуществляется в виде сульфатных комплексов $(GaSO_4)^+$, комплексного иона $Ga(OH)_4^-$, комплексных соединений с органическими веществами типа гуматов, оксалатов и др. $Ga_2(SO_4)_3$ устойчив в кислой-среде. При pH 3,5 гидролизует с образованием $Ga(OH)_3$. Гидроокись растворяется при pH ниже 3,4 и выше 9,7
Индий (In)	В водных растворах устойчив катион In^{3+} , $In_2(SO_4)_3$ мигрирует в нан большей степени в слабощелочных растворах. pH осаждения гидроокиси из раствора его сульфата составляет 3,4—4,4
Таллий (Tl)	Мигрирует в кислых водах в виде хорошо растворимого $TlSO_4$. Выпадает в осадок в сильно окислительной среде в виде $Tl(OH)_3$, pH начала выпадения около 3,0
Кадмий (Cd)	Подвижен в кислой и сильнощелочных средах. При pH 6—8 происходит осаждение. Из сильнощелочных растворов не осаждается
Кобальт (Co)	Мигрирует в кислой и слабощелочной среде. Осаждение гидроокиси Co происходит при pH—6,8 для Co^{2+} и при pH 6,0 для Co^{3+}
Титан (Ti)	Мигрирует в очень кислой среде, pH 1,5 и ниже

ществ, образующих комплексы с металлами, и наличия других ионов, которые могут образовывать комплексы и осаждают металлы. Некоторые металлы быстро вступают в комплексы с другими металлами и осаждаются. Примером может служить молибден и мышьяк, которые легко осаждаются в кислых растворах ионами трехвалентного железа.

Геохимическая деятельность тионовых бактерий в месторождениях сульфидных руд и основные закономерности их распространения

Распространение основных видов тионовых бактерий в месторождениях сульфидных руд в настоящее время изучено достаточно хорошо. Они широко распространены во всех изученных месторождениях сульфидных руд как в СССР, так и за рубежом. К этим организмам относятся *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans*. Первый организм, как известно, энергично окисляет сульфидные минералы и поэтому играет ведущую роль в геохимических процессах, имеющих место в месторождениях сульфидных руд.

Th. thiooxidans является постоянным спутником *Th. ferrooxidans*. Так как сульфидные минералы этот организм не окисляет,

большинство исследователей склонны считать, что он окисляет элементарную серу, которая выделяется при химическом окислении сульфидов. Третий вид автотрофных тионовых бактерий — *Th. thioaragus*, также встречается в сульфидных месторождениях, хотя и реже, чем предыдущие два вида (Ляликова, Соколова, 1965; Каравайко, 1966). *Th. thioaragus*, очевидно, окисляет элементарную серу и политионаты, которые могут образовываться при химическом окислении сульфидных минералов при нейтральных и слабощелочных условиях.

Как показали наши исследования, проведенные на Кальмакырском медно-молибденовом месторождении (Мубаракова и др., 1968) и медно-никелевых месторождениях Кольского полуострова, наиболее распространенной группой бактерий в рудах и водах являются тионовые бактерии, окисляющие $S/S_2O_3^{2-}$ и S^0 при нейтральной и слабокислой реакции среды. Эта группа бактерий в настоящее время изучается.

Полученные до настоящего времени данные показывают, что эти бактерии, близкие к *Th. thiocyanoxidans*, растут на сере (S^0), тиосульфате натрия ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) и тиоцианате (KCNS). Роль их в сульфидных месторождениях не ясна. Остальные группы тионовых бактерий, как автотрофные, так и литогетеротрофные, описанные в главе 1, в настоящее время, как правило, не учитываются исследователями-экологами. Это несомненно крупное упущение. Экология бактерий *Th. y*, описанных Ляликовой (1967), изучена еще слабо. Все же эти, хотя далеко еще неполные, сведения о микрофлоре рудных месторождений показывают, что тионовые бактерии весьма широко распространены в месторождениях сульфидных руд.

Как видно из данных табл. 6, преимущественное распространение той или иной группы бактерий зависит от активной реакции пород и вод. В рудах и водах с нейтральной или слабощелочной реакцией в наибольших количествах встречаются тионовые бактерии, окисляющие $S/S_2O_3^{2-}$ и S^0 при нейтральной и слабокислой реакции среды, и гетеротрофы. В тех пробах, где имеет место снижение pH в микрizonaх, в больших количествах встречаются различные группы тионовых бактерий как кислотолубивые, так и развивающиеся при высоких значениях pH. В рудах и водах с кислой реакцией в наибольших количествах встречаются микроорганизмы *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans*.

Таким образом, распространение той или иной группы тионовых бактерий в рудных месторождениях определяется активной реакцией среды, что согласуется с их физиологическими особенностями.

Роль микроорганизмов в генезисе зоны окисления сульфидных месторождений можно представить в следующем виде.

На первых порах формирования зоны окисления при нейтральной и слабощелочной реакции руды окисление сульфидных

таблица 6.

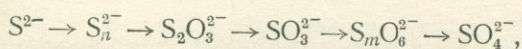
Влияние рН вод и пород на распространение микроорганизмов в рудных месторождениях

Район месторождения	Тип оруденения	Характеристика вод и пород	Наличие бактерий, число клеток в 1 г или 1 мл				
			Th. ferro-oxidans	Th. thio-oxidans	тионовые бактерии, окисляющие $S/S_2O_3^{2-}$ при нейтральной реакции среды	гетеротрофы, растущие на МПА	грибы
Средний Урал	Медно-колчеданные руды	Воды купоросные, рН 2,0—2,5	До 10^5	До 10^5	Нет	Нет	+
Армения	Полиметаллические руды	Воды купоросные, рН 2,0—2,5; окисленные руды, рН 1,5—2,7	До 10^4	До 10^4	Нет	Нет	+
Узбекская ССР, Ал-малыкское рудное поле	Медно-молибденовые	Окисляющиеся, рН 2,1—3,5	До 10^9	До 10^5	Единицы	Единицы	+
		Неокисленные руды, рН 7,0—7,9, в микрizonaх рН около 2,0	До 10^5	До 10^1	До 10^9	Много	+
Кольский п-ов	Медно-никелевые руды	Неокисленные руды, рН 7,0—7,9; подкисления в микрizonaх нет	До 10^3	0— 10^2	До 10^7	Много	+
		Окисляющиеся руды, рН 3,0—4,0; неокисленные руды, рН 7,0—8,0; подкисления в микрizonaх нет	До 10^7	—	До 10^2	—	+
			До 10^3	—	До 10^7	—	+

Примечание. Плюс—присутствуют, минус—отсутствуют.

минералов происходит с участием различных групп тионовых бактерий, в том числе *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans*. Так как рН руды для этих бактерий неблагоприятен, они поселяются микрозонально, создавая в микрозонах благоприятный для своей жизнедеятельности рН. Таким образом, в этих типах руд окислительные процессы с участием *Th. ferrooxidans* идут микрозонально.

В работах ряда исследователей (Листова, 1966; Тюрин, Каковский, 1966, 1962 и др.) отмечается, что процесс окисления сульфидной серы до сульфат-ионов протекает ступенчато с образованием ряда промежуточных продуктов. Так, если в кислой среде химическое окисление сульфидной серы протекает по схеме: $S^{2-} \rightarrow S^0 \rightarrow SO_4^{2-}$, то в нейтральной и щелочной средах оно проходит с образованием ряда промежуточных продуктов.



где n от 2 до 5, m от 2 до 6. Можно полагать, что эти промежуточные продукты окисляются именно тионовыми бактериями, такими как денитрифицирующие и другие миксотрофные виды или *Th. thioragus*, а конечные продукты их или вымываются, или расходуется в реакциях с различными минералами руды. В результате этого реакции химического окисления ускоряются, так как равновесие их сдвигается вправо, а рН руд постепенно снижается.

Таким образом, создаются условия, более благоприятные для развития *Th. ferrooxidans*, и начинается активный процесс окисления сульфидов в кислой среде с участием этой группы бактерий. В этих условиях активное участие в окислении и растворении сульфидных минералов играет также сульфат окиси железа и серная кислота.

На развитие активных бактериальных окислительных процессов большое влияние оказывают: трещиноватость, степень измельчения и влажность руды, наличие достаточного количества сульфидов, температура.

В крепких монолитных рудах как бактерии, так и окислительные процессы, как правило, отсутствуют. Скорость бактериальных окислительных процессов также снижается с понижением температуры, что имеет место, например, на месторождениях Кольского п-ва. Температура вод здесь равняется 1,5—8°. Полученные нами данные показывают, что с понижением температуры на 10° скорость бактериального окисления закисного железа снижается в 2—3 раза.

Таким образом, очевидно, что месторождения сульфидных руд живут сложной жизнью. В них протекают различные химические и микробиологические процессы, благодаря которым месторождения претерпевают изменения, разрушаются и т. д.

Роль микроорганизмов в осаждении металлов и образовании сульфидов в рудных месторождениях

Вопрос о генезисе осадочных руд цветных металлов рассматривается в книге Н. М. Страхова (1962).

В настоящей главе мы рассматриваем только вопрос о роли сульфатредуцирующих бактерий в отложении сульфидных минералов.

Нужно отметить, что образование вторичных сульфидов с участием бактерий может происходить как в осадочных, так и в гидротермальных месторождениях сульфидных руд. Причем эти процессы при благоприятных условиях происходят и в настоящее время.

Распространение сульфатредуцирующих бактерий и образование сульфидов

Гипотеза о роли сульфатредуцирующих бактерий в образовании сульфидных руд была впервые высказана Бастиным (Bastin, 1926, цит. по Ляликовой, 1970) после обследования сульфидных месторождений, связанных с нефтяными залежами. Наблюдения на одном из месторождений Пенсильвании показали, что металлы в результате окисления сульфидов переходили в раствор и выносились к флангам месторождения, где имелись сероводородные воды, содержащие сульфатредуцирующие бактерии. Под действием сероводорода металлы осаждались в виде сульфидов. Так как эти месторождения связаны с нефтяной залежью, то источником органического вещества для сульфатредуцирующих бактерий служили, вероятно, продукты распада нефти. Подтверждением этой гипотезы является и то, что многие руды сульфидных месторождений штатов Миссури, Канзаса и Оклахомы ассоциируются с тяжелыми нефтями и битумами. Примером образования сульфидного оруденения в нефтеносной структуре, по мнению А. И. Германова (1961), могут служить и медистые песчаники Науката в Фергане.

Н. С. Скрипченко (1969) приводит интересные данные о глобулярных выделениях пирита в медистых сланцах Мансфельда (ГДР), которые были обнаружены Шнейдерхеном. Эти глобулиты определены как «оруденелые бактерии». Лав (Love, 1957, цит. по Скрипченко, 1969) также приводит доказательства в пользу того, что глобулиты пирита в нефтеносных сланцах нижнего карбона Шотландии представляют собой фоссилизированные сульфатредуцирующие бактерии, населявшие донные иловые осадки.

Изучение распространения сульфатредуцирующих бактерий в различных месторождениях сульфидных руд проводили Ляликова, Дерюгина, Соколова и др. (Ляликова, Соколова, 1965; Ляликова, Дерюгина, 1966). Наибольший интерес представляют сульф-

фидные месторождения Северного Кавказа, обследованные Ляликовой и Дерюгиной (1966). Месторождение Худес приурочено к вулканогенно-осадочным образованиям Передового хребта Большого Кавказа. Характерной особенностью месторождения является наличие окислительных процессов и сероводородных вод, содержащих в 1 мл до 10 000 клеток сульфатредуцирующих бактерий. Ляликова и Дерюгина полагают, что образование H_2S происходит и в настоящее время. В зоне окисления месторождения широко распространен *Th. ferrooxidans* и идут энергичные окислительные процессы, о чем свидетельствует снижение рН руд и вод до 2,2. При смешении двух типов вод, сероводородных и содержащих металлы, происходит образование сульфидов. Сульфатредуцирующие бактерии в количестве до 10 000 клеток в 1 мл обнаружены в водах Садонского полиметаллического месторождения.

Отмечено также широкое распространение сульфатредуцирующих бактерий в Урупском медно-колчеданном месторождении. Воды из восстановленной зоны (рН 8,2) содержали 6,2 мг/л H_2S и 10 000 клеток в 1 мл сульфатредуцирующих бактерий. Развитие этих бактерий, как это видно из данных Ляликовой и Дерюгиной, происходит за счет органических веществ сланцев.

Микробиологическое обследование сульфидных месторождений Казахстана проводили Ляликова и Соколова (1965). Были обследованы Коунрадское месторождение меди, молибденовое месторождение Восточный Коунрад и Джекказганское свинцово-медное месторождение. Наряду с тионовыми бактериями в этих месторождениях обнаружены сульфатредуцирующие бактерии в количестве до 100 клеток в 1 г руды или 1 мл воды. Особенно часто встречаются эти бактерии в Джекказганском месторождении. Бактерии обнаружены в 50% обследованных проб. Это месторождение приурочено к сероцветным песчаникам Джекказганской свиты мощностью 600—650 м.

Современное образование сероводорода и вторичных сульфидов было отмечено нами на медно-никелевом месторождении Котсельваара-Каммикиви (Кольский п-в) в горизонте 170 м. Добыча руды на горизонте закончена около восьми лет назад. На дне выработки образовался водоемчик с застойной водой. Дно этого водоемчика покрыто черной грязью с запахом сероводорода. Как в грязи, так и в самой воде обнаружены сульфатредуцирующие бактерии. Образование сульфидов железа и других металлов происходило в результате взаимодействия H_2S , образующегося в водоемчике, и металлов, поступающих из окисляющихся остаточных руд в штреке.

Сульфатредуцирующие бактерии были обнаружены нами также в Кальмакырском медно-молибденовом месторождении. Следовательно, сульфатредуцирующие бактерии широко распространены в некоторых сульфидных месторождениях.

Большой интерес представляют данные Скрипченко (1969) по изучению fossilized сульфатредуцирующих бактерий в колчеданных рудах. «Оруденелые бактерии» были обнаружены в пластовых залежах тонкослоистых и брекчиевидных медных, цинковых и серно-колчеданных рудах Блявинского, Комсомольского и Сибайского месторождений (Южный Урал). В пластах черных сланцев наблюдались выдержанные прослойки дисульфида железа мощностью 0,1—5 мм, заключенные в однородную черную углисто-битумную породу. Дисульфид выполняет как внутреннее, так и наружное пространство раковин. Скрипченко предполагает, что причиной такого отложения дисульфида железа было органическое вещество раковин, обусловившее редукцию сульфатов. Пиритные углисто-битуинозные сланцы залегают в нормальных диабазах, не содержащих признаков гидротермальных воздействий. Отложение дисульфида железа обеспечивалось редукцией сульфатов железа, растворенных в бассейне, где шло накопление сланцев.

В Блявинском месторождении глобулы пирита встречаются в тонкослоистых разновидностях медноколчеданных руд южного фланга месторождения. Эти руды имеют сходство с осадочными образованиями. Колонии «оруденелых бактерий» приурочены к обособлениям органического вещества.

В Сибайском месторождении «оруденелые бактерии» встречаются в пластах колчеданных руд, в месторождении Жайрем (Центральный Казахстан) — в углистых алевролитах.

Таким образом, сульфатредуцирующие бактерии, вероятно, были распространены в рудных месторождениях еще в геологически далекие времена. Широкое распространение сульфатредуцирующих бактерий как в настоящее время, так и в прошлом, указывает на возможную их роль в образовании вторичных сульфидов в месторождениях.

Анализ изотопного состава серы сульфидов

Для понимания механизма образования вторичных сульфидов в месторождениях большое значение имеют данные геохимиков об изотопном составе серы этих сульфидов.

Большой материал по данному вопросу приводится в работах В. И. Виноградова (1967) в сборнике «Изотопы серы и вопросы рудообразования». Тод с сотрудниками (Thode et al., 1951) экспериментальным путем показали, что сероводород, возникающий при бактериальном восстановлении сульфатов, обогащается легким изотопом серы — S^{32} . В остаточном сульфате накапливается тяжелый изотоп — S^{34} . Джонс и Старки (Jones, Starkey, 1957) показали, что на разделение изотопов серы в процессе бактериальной редукции сульфатов большое влияние оказывают скорость этого процесса и концентрация сульфатов. Эти открытия

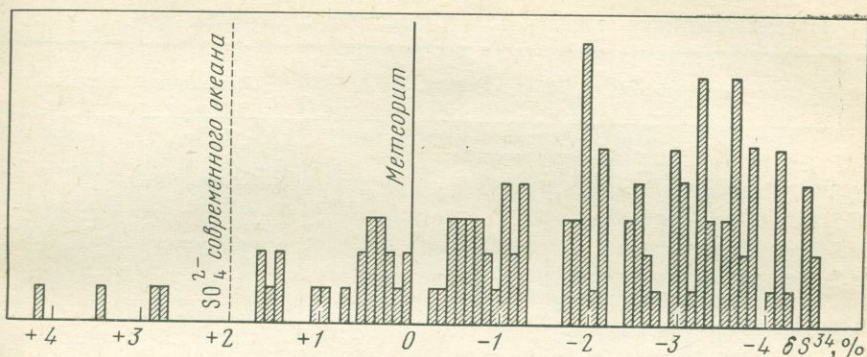


Рис. 5

Распространенность изотопного состава серы осадочных сульфидов (по данным около 130 случаев) (Виноградов, Гриненко, 1964)

имеют принципиальное значение для объяснения многих процессов круговорота серы в природе.

Некоторые данные изотопных анализов соединений серы из водоемов, Черного моря и различных месторождений сульфидных руд представлены в табл. 7. Из этих данных видно, что как сероводород воды различных водоемов, так и сульфиды илов Черного моря обогащены легким изотопом серы (S^{32}).

Биогенная природа образования сероводорода в водоемах в настоящее время доказана М. В. Ивановым (1964), Ю. И. Сорокиным (1962а) и др. с использованием меченых по сере сульфатов (S^{35}).

Сорокин показал, что образование сероводорода в Черном море происходит за счет бактериальной редукции сульфатов (Сорокин, 1962а). Определена также скорость этого процесса. Показано, что наиболее активно процесс редукции сульфатов происходит в верхней части сероводородной зоны моря и в самом поверхностном слое ила. В этих же участках Черного моря в наибольших количествах встречаются и сульфатредуцирующие бактерии (Сорокин, 1962а, б).

Сульфиды осадочного происхождения, как видно из табл. 7, также содержат главным образом легкий изотоп серы. Более наглядно обогащение осадочных сульфидов легким изотопом серы видно на рис. 5 (Виноградов, Гриненко, 1964). Эти данные свидетельствуют о биогенном образовании как сероводорода в месторождениях сульфидных руд, так и сульфидов осадочного происхождения.

На основании данных изотопных анализов, Богданов и Голубчина (1969) отмечают, что рудообразование в Удоканских меди-

таблица 7.

Пределы изменения величины δS^{34} в различных соединениях серы

Объект исследования	δS^{34} , ‰*	Литературный источник
Сульфиды водоемов		
H ₂ S оз. Соленое	-4,0	М. Иванов, 1964 Karjal et al, 1963, цит. по Гриненко, Гриненко, 1967. Виноградов, Гриненко, 1964 Те же
H ₂ S басс. Санта-Барбара	-4,6	
H ₂ S воды Черного моря	(-2,37)—(-3,61)	
H ₂ S, гидротроилит, пирит, свободная и органическая сера илов Черного моря	(-1,62)—(-3,37)	
Сульфиды осадочного происхождения		
Удоканские медистые отложения	(+1,35)—(-2,18)**	Богданов, Голубчина, 1969
Сульфидная сера углей Донского бассейна	(+12,5)—(-18,2)***	Виноградов, Кизильштейн, 1969
Сульфиды прибалтийского сланцевого бассейна	(+2,3)—(-3,6)***	Гриненко, Газизов, 1966
Сульфиды II и III генерации месторождения Уччулачского рудного поля (Средняя Азия) (месторождения спорного генезиса)	(-7,0)—(-15,7)	Чеботарев, Виноградов, 1967
Сульфиды гидротермального происхождения		
Сульфиды Талнахского медно-никелевого месторождения	(+0,27)—(+1,65)	Гриненко, 1966
Медно-никелевые месторождения Кольского п-ва		
Монче-Тундра	(+0,02)—(+0,16)	Гриненко, Гриненко, Ляхницкая, 1967
Каула, Котсельваара-Каммикиви	(-0,09—0,17)— (+0,03+0,24)	
Ждановское	(+0,3)—(+0,51)	
Ловно	(-0,2)—(-0,13)	
Сульфат морской воды и эвапоритов	(+1)—(+3)	Гриненко, Гриненко, 1967

* δS^{34} ‰ со знаком плюс обозначают обогащение образца тяжелым изотопом серы, с минусом—обогащение легким изотопом по отношению к стандарту (серы метеоритов).

** 78% из 97 случаев легкие изотопы.

*** В большинстве случаев легкие изотопы.

стых отложениях в среднем докембрии происходило в неглубоко залегающих обогащенных органическими остатками слоях осадков с седиментационными водами, содержащими сульфаты и характеризующимися замедленной их редуkcией. Предполагается участие в этом процессе сульфатредуцирующих бактерий. Ме-

дистые отложения удоканской серии содержат повышенное количество органических веществ.

К биогенным образованиям относятся также пириты на флангах сульфидной линзы месторождения Худес, рассмотренного выше (Скрипченко и др., 1963). Эти пириты, в отличие от пиритов основного рудного тела, обогащены легкой серой (S^{32}). В этих участках часто встречаются сульфатредуцирующие бактерии, и идет процесс образования сероводорода (Ляликова, Дерюгина, 1966).

Сульфиды Прибалтийского сланцевого бассейна, распространенные в зонах карстовых нарушений и трещинах-жилах, имеют очень разнообразный изотопный состав. Но в большинстве случаев сера обогащена изотопом S^{32} . Изотопные анализы свидетельствуют, по данным Гриненко и Газизова (1966), о локальных процессах отложения сульфидов, что характерно для серы биогенного происхождения.

Данные изотопного анализа карбонатов также показали, что углерод вторичных кальцитов в большинстве случаев обогащен изотопом C^{12} . Это указывает на то, что образование вторичного кальцита происходило с участием углекислоты, выделяющейся в процессе окисления органического вещества при бактериальной редукции сульфатов.

Изотопный состав серы сульфидов медно-никелевых месторождений близок к метеоритному, что указывает на преимущественно мантийный источник серы рудных минералов в этих месторождениях.

Однако следует отметить, что и в этих месторождениях в значительной мере распространен легкий изотоп серы. Кроме того, обогащение сульфидов тяжелым изотопом еще не всегда доказывает их абиогенное происхождение.

Экспериментальные исследования Мехтиевой и др. (1964) показывают, что при бактериальном восстановлении сульфатов как сероводород, так и сульфид могут иметь более тяжелый изотопный состав серы по сравнению с исходными сульфатами. Утяжеление имело место также и у остаточного сульфата. Однако элементарная сера и тиосульфат, образующиеся в одном и том же реакционном сосуде, оказались облегченными по сере. Эти продукты образовывались при окислении сероводорода.

Таким образом, при одновременном протекании восстановительных и окислительных процессов, что имеет место в природных условиях, может образовываться сера облегченного состава, тогда как сульфаты вод и растворенный в них сероводород будут очень сильно обогащены тяжелым изотопом. При взаимодействии этих сероводородных вод с металлами будут образовываться сульфиды тяжелого состава. Все это в значительной мере зависит от количества сульфатов и от того, как далеко пошел процесс сульфатредукции. В первую очередь организмы берут легкий изо-

топ S^{32} , но, когда количество сульфатов в окружающей среде сильно снизится, используется и остаточный тяжелый изотоп серы.

Биогенное образование сероводорода и сульфидов в месторождениях

Одним из основных вопросов при изучении роли сульфатредуцирующих бактерий в образовании сероводорода и сульфидов в месторождениях является вопрос об органическом веществе. Как уже отмечалось выше, сульфатредуцирующие бактерии способны использовать только простые органические вещества. Развитие же их на сложных органических веществах возможно только в присутствии других бактерий. Способность смешанных культур сульфатредуцирующих бактерий развиваться и образовывать сероводород на органическом веществе, выделенном из руд, изучали Ляликова, Дерюгина (1966), Ляликова и Соколова (1965) и др.

Было показано, что органическое вещество, выделенное из сланцев месторождения Худес и пород Джезказгана, может использоваться смешанными культурами сульфатредуцирующих бактерий. Данные анализов представлены в табл. 8. Образование сероводорода происходило также при использовании тонкоиз-

таблица 8.

Образование сероводорода при использовании органического вещества руд Худеса и Джезказгана (Ляликова, Соколова, 1965; Ляликова, Дерюгина, 1966) при внесении в опыт сульфатредуцирующих бактерий

Условия опыта	Количество образовавшегося H_2S (мл) в опыте	
	с известняком (30 суток)	с песчаником (30 суток)
1 мл экстракта из Жанайского известняка и серого песчаника из шахты Покро	474,2	187,0
	110,0	17,0
	33,50	210,0
	132,0; 425,0	—
5 г породы	9,0; 1,0	170
	—	16
Растворитель	—	44
	—	16
Среда с экстрактом органического вещества сланцев Худеса	Сланцы (40 суток)	—
	178,5	—
	185,0	—
Среда с растворителем	42,5	—
	3,4	—

мельченной руды в качестве единственного источника органического вещества.

Аналогичные данные были получены Каравайко при использовании в качестве единственного источника органического вещества руды Кальмакырского месторождения, а Ивановым и Рыжовой (1961) — руды Роздольского серного месторождения.

Таким образом, полученные данные показывают возможность использования органического вещества, содержащегося в рудах, смешанными культурами сульфатредуцирующих бактерий.

Экспериментальное доказательство биогенного образования сульфидов приводится в работах Миллера (Miller, 1950), Бас-Бекинга, Мора (Baas-Becking, More, 1961), Рикарда (Rickard, 1969) и Ляликовой (1970). Бас-Бекинг и Мор под действием биогенного сероводорода получили ковеллин, дигенит, аргентит, сфалерит и галенит, а Миллер — сульфиды сурьмы, висмута, кадмия, кобальта, никеля, свинца, железа и цинка.

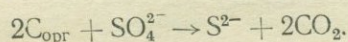
Рикард подвергал сульфидированию в среде для сульфатредуцирующих бактерий комплексный гидрат закиси-окиси железа и синтетический гетит. В первом случае имел место следующий порядок образования сульфидов после засева культуры бактерий: через 2 недели — макиновит, через 3 месяца — грейгит и через 9 месяцев — пирротин. Во втором случае — через 2 недели макиновит, через 3 месяца — марказит и через 6 месяцев — пирит.

Интересные опыты были проведены Ляликовой (1970). В опытах был использован прибор, в котором в верхней части происходило окисление сульфидных минералов Урупского месторождения *Th. ferrooxidans*, а в нижней части на среде с лактатом кальция происходило образование сероводорода при развитии сульфатредуцирующих бактерий. В средней части прибора, где находился кварцевый песок, происходило образование сульфида меди — ковеллина (CuS). Анализ окислительно-восстановительного потенциала показал, что если в верхней части прибора E_h равнялся $+485 \text{ мв}$ ($\text{rH}_2 = 25,4$), то в нижней части $E_h = -220 \text{ мв}$ ($\text{rH}_2 = 6,8$). Содержание меди в растворе, прошедшем колонку с рудой, равнялось через 20 суток 186 мг/л . Следовательно, в средней части колонки при смешении растворов, поступающих из верхней части колонки и содержащих сульфат меди, с сероводородным раствором в нижней части колонки происходило образование сульфида меди. Этот эксперимент может быть моделью процессов, происходящих и в рудных месторождениях. Влияние бактерий на образование эпигенетических сульфидных и других минералов в осадочных толщах изучали Рожкова и др. (1965). Показано, что под воздействием сульфатредуцирующих бактерий происходило образование сульфидов железа и снижение окислительно-восстановительного потенциала.

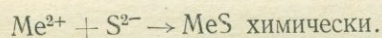
Из вышеприведенных данных видно, что для образования сульфидов необходимы условия, способствующие как сульфат-редукции, так и обеспечивающие окисление сульфидных минералов и переход ионов металлов в раствор.

Основные условия для сульфатредукции следующие: 1) низкий окислительно-восстановительный потенциал (анаэробные условия); 2) наличие сульфатов; 3) наличие легкоусвояемого органического вещества и 4) наличие сульфатредуцирующих бактерий.

Восстановление сульфатов сульфатредуцирующими бактериями при окислении простых органических соединений в анаэробных условиях идет по схеме:



Для второго процесса характерным является окислительная обстановка. При бактериальном и химическом окислении сульфидов ионы металлов переходят в раствор и выносятся из руд. При смешении сероводородных вод и вод, содержащих металлы, образуются сульфиды по схеме:



Роль микроорганизмов в геохимии урана

Вопрос о миграции урана в различных условиях среды рассматривается в книгах Перельмана (1968), Калабина (1969) и др.

Уран в природных водах находится чаще всего в виде гидрокомплексов и комплексных соединений с анионами.

В растворах образуется сложный катион уранил, который нередко дает гидрокомплексы или входит в состав комплексных анионов. Поэтому в природных водах в зависимости от их общей минерализации, химического состава, pH и концентрации самого урана могут присутствовать следующие ионы урана: $UO_2^{2+} + UO_2(OH)^+$, $[UO_2(CO_3)_2(H_2O)_2]^{2-}$, $[UO_2(CO_3)_3]^{4-}$, а также недиссоциированные молекулы $UO_2(OH)_2$.

Особую группу комплексных соединений представляют хелаты, или «клешневидные комплексы», в которых молекула органического вещества как бы захватывает неорганический ион. Многие хелаты хорошо растворимы в воде, что создает возможность миграции металлов.

Образование комплексных ионов сильно изменяет условия осаждения урана, поэтому следует весьма осторожно использовать такую физико-химическую характеристику, как pH осаждения соединений урана. Установлено, что осаждение гидроокисла

уранила — $\text{UO}_2(\text{OH})_2$ — проходит при pH 3,8—6,0, в зависимости от концентрации урана в растворе. Эти данные исключают миграцию урана в нейтральных и щелочных водах с pH выше 6. Вместе с тем уран в этих водах легко мигрирует, так как образует упомянутые выше растворимые карбонатные комплексы $[\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3]^{4-}$, $[\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2-}$.

В слабоглеевых водах, кроме железа и марганца, возможна миграция урана, меди и молибдена, находящихся в высоких степенях окисления (U^{6+} , Mo^{6+} , Cu^{2+}).

В среднеглеевых водах (с более низким Eh) уран четырехвалентный и образует такие нерастворимые соединения, как урановые смолки, черни и коффинит.

Сульфат уранила — UO_2SO_4 — хорошо растворим в воде (до 60 г в 100 мл воды), устойчив при 0,1 н. концентрации урана в растворах с $\text{pH} \leq 4,25$. С сульфатами щелочных металлов сульфат уранила образует растворимые в воде двойные комплексные соли — $\text{M}_2[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2]$ и $\text{M}_4[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_3]$.

Поведение урана в различных геохимических обстановках приведено в табл. 9.

таблица 9.

Основные геохимические обстановки водной миграции урана в зоне гипергенеза (Евсеева, Перельман, 1962)*

Обстановка по составу растворенных ионов	Обстановка по составу растворенных газов			
	окислительная (в воде свободный кислород)	восстановительная без сероводорода		восстановительная с сероводородом
		слабоглеевая	резко глеевая	
А. Сильнокислые воды	I. Сернокислая	—	—	—
Б. Слабокислые воды (органические кислоты, угольная кислота)	II. Кислая	III. Кислая слабоглеевая	IV. Кислая резко глеевая	—
В. Нейтральные и слабощелочные слабоминерализованные воды	V. Гидрокарбонатная, преимущественно кальциевая	VI. Карбонатная слабоглеевая	VII. Карбонатная резко глеевая	—
Г. Нейтральные и слабощелочные сильноминерализованные воды	VIII. Соленосная	IX. Соленосная слабоглеевая	—	X. Соленосно-сульфидная XII. Содовая сероводородная
Д. Сильнощелочные (содовые воды)	XI. Содовая	—	—	

* Обведены обстановки, благоприятные для осаждения урана; в остальных обстановках уран легко мигрирует.

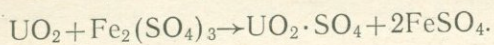
Таким образом, из 12 рассмотренных геохимических обстановок восемь являются благоприятными для миграции урана, а четыре — неблагоприятными. Все это необходимо учитывать при бактериальном и химическом выщелачиваниях урана.

Из более 200 урановых и урансодержащих минералов источниками промышленного получения урана служат уранит ($U^{4+}+U^{6+}$); $K(U, Th) \cdot lUO_3 \cdot mPbO$), настуран (UO_2+ThO_2) и урановые черни — промежуточный продукт выветривания гипергенных руд в условиях восстановительной среды.

Из вышеизложенного видно, что соединения урана легче всего переходят в раствор в сильнокислой среде в окислительной обстановке в виде ионов U^{6+} или будучи переведены в соответствующие карбонатные или сульфатные комплексы, которые растворяются в этих условиях как в кислой, так и в щелочной среде.

В кислой среде реакция идет по схеме: $UO_3+H_2SO_4 \rightarrow UO_2SO_4+H_2O$.

Переход настурана в раствор возможен при обработке его в кислой среде серноокислым окисным железом.



Серноокислое закисное железо окисляется Th. ferrooxidans до серноокислого окисного железа. Таким образом, постоянно регенерируется мощный окислитель — $Fe_2(SO_4)_3$, который окисляет четырехвалентный уран и переводит его в раствор в виде сульфатных комплексов.

Одним из возможных путей перевода соединений урана в раствор является образование хелатных соединений. В этом случае процесс должен идти в нейтральной или щелочной среде в присутствии органического вещества и соответствующих групп сапрофитных бактерий.

Однако этот путь использования микробиологических методов для извлечения урана из забалансовых руд еще не разработан.

ЗАДАЧИ И МЕТОДЫ
ПОЛЕВЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
МЕСТОРОЖДЕНИЙ ПОЛЕЗНЫХ ИСКОПАЕМЫХ

Стандартизация методов анализа

Изучением распространения тионовых и сульфатредуцирующих бактерий в месторождениях полезных ископаемых занимаются многие микробиологи, применяя различные методы учёта. Задачей этих исследований является количественный учёт микроорганизмов в месторождениях полезных ископаемых, а также определение интенсивности процесса окисления тионовыми бактериями сульфидов и серы или восстановления сульфатов до сероводорода.

Правильно было бы для определения интенсивности процесса применить метод радиоактивных изотопов, в частности Na_2S^{35} или $\text{Na}_2\text{S}^{35}\text{O}_4$. Тогда для характеристики процесса можно было бы ограничиться качественными анализами микрофлоры. Но поскольку техника работы с радиоактивными изотопами встречает ряд затруднений, особенно в полевых условиях, то на данном этапе большей частью приходится ограничиться количественным учётом бактерий и результатами химического анализа.

Для того чтобы результаты анализов различных авторов можно было сопоставить, необходимо сформулировать основные вопросы исследований и несколько стандартизировать методы самого анализа.

Схема проведения работы по изучению геологической деятельности микроорганизмов сформулирована С. И. Кузнецовым (1961).

Основные ее положения следующие.

1. Поставив перед собой задачу изучения какого-либо процесса, разработать рабочую гипотезу исследований.

2. Собрать исчерпывающие материалы о геологии, минеральном составе руд и гидрогеологии месторождения, в котором протекает изучаемый процесс.

3. Провести химический анализ вод или проб воды с учётом наличия ингредиентов, видоизменение которых предполагается в результате деятельности микроорганизмов.

4. Изучить насколько экологические условия (концентрация солей, rH_2 , O_2 , H_2S , биогены и т. п.) благоприятны для развития данной группы микроорганизмов.

5. Провести количественный или, в крайнем случае, качественный анализ данной группы микроорганизмов.

6. Выделить чистую культуру и получить исчерпывающие сведения по физиологии данной группы организмов и изучить влияние на рост и жизнедеятельность специфических факторов, с которыми микроорганизмы встречаются в естественной обстановке.

7. Поставить опыты в обстановке, максимально приближающейся к природной, в частности с применением высокочувствительного метода радиоактивных изотопов.

Чёткая постановка вопроса исследований и детальная обработка материалов по приведенной выше схеме позволят сделать правильное заключение о геологической деятельности микроорганизмов. Анализы по пунктам 4 и 5 проводятся в полевых условиях сразу после отбора проб.

Основные принципы изучения распространения микрофлоры в рудных месторождениях

Прежде чем приступать к исследованию распространения микроорганизмов, следует детально ознакомиться с изучаемым месторождением.

Перечень вопросов, который необходимо прежде всего решить, следующий.

1. Ознакомление с производственными отчетами геологов и гидрогеологов. Эти данные дают наиболее новые сведения о современной геохимической обстановке в месторождениях.

2. Посещение с геологами и гидрогеологами рудников, шахт или открытых выработок. При посещении месторождения с геологом прежде всего следует детально ознакомиться с геологией и гидрогеологией участков рудного тела на современных горизонтах, выработках, карьерах и т. д., а также с типами руд. Необходимо также найти зоны окисления. Зоны окисления могут быть определены по наличию кислых капеей, высолов окислов цветных металлов и железа на стенках и путем определения рН руды и вод. Ориентировочно рН можно определить быстро, прямо в шахте, с помощью индикаторной бумаги. Точно рН определяется в отобранных пробах потенциметрически в полевой лаборатории.

3. На основании данных такого обследования, в шахте или в карьерах намечают точки для отбора проб на микробиологический и химический анализы и точки для постановки опытов.

4. Образцы для микробиологических и химических анализов необходимо брать из различных участков месторождения: а) из

руды верхней окисленной части; б) из различных участков рудного тела в стенке карьера, если месторождение разрабатывается открытым способом, или из kernового материала при бурении, из забоев при подземной разработке месторождения. Руду из окисленных участков стенок карьеров и шахт и неокисленную из монолитов рудного тела следует отбирать отдельно; в) из рудничных вод месторождения, проходящих по тектоническим трещинам рудного тела и вытекающих из открытого карьера; г) из рудничных вод, образующих капези в рудном теле; д) из водосборника на нижних горизонтах шахты, из которого вода откачивается на поверхность; е) из капеза и водоисточников, выходящих из пород, покрывающих или подстилающих рудное тело.

Изучение распространения отдельных групп микроорганизмов необходимо вести в зависимости от того, какие типы руд имеются в данном месторождении и какой вопрос исследуется. Наличие в рудничных водах или рудах сульфатредуцирующих бактерий указывает на процессы образования сероводорода за счет восстановления сульфатов. Одновременное присутствие большого количества сульфатредуцирующих бактерий, подтока сульфатов, наличие органического вещества и сульфидов указывает на интенсивность этого процесса. Присутствие активных процессов сульфатредукции задерживает или совсем исключает окислительные процессы на данном горизонте месторождения и в этих участках можно ожидать лишь образование вторичных сульфидов цветных металлов.

В процессах окисления серы и сульфидных минералов руд соответствующих месторождений участвуют тионовые бактерии: *Th. ferrooxidans*, *Th. thiooxidans*, *Th. y.*, *Th. thioparus*, *Th. denitrificans* и др. Наличие указанных бактерий в значительных количествах и продуктов окисления в виде свободной серной кислоты или сульфатов железа, меди или других металлов указывает на интенсивность окислительных процессов на соответствующих горизонтах месторождений.

В тех случаях, когда сульфиды железа и меди находятся в основных вмещающих породах, первые стадии окисления могут начаться при участии *Thiobacillus y* и, возможно, некоторых других тионовых бактерий, а когда в микрizonaх руды произойдет подкисление до pH, равного 4,0—4,5, дальнейшие процессы могут идти уже более энергично при участии *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans*.

На наличие процессов биогенного восстановления окисленных марганцевых руд указывает присутствие *Bas. polytuxa*, *Bas. circulans* или сульфатредуцирующих бактерий. Окисление родохрозита или других закисных соединений марганца могут вести *Metallogenium personatum*, *Caulococcus manganifer*, *Lepthothrix discophora* и другие виды, способные при нейтральной реакции одновременно окислять и закисные соединения железа,

как, например, *Leptothrix discophora*, *Ochrobium tectum*, или только закисное железо — *Siderecoccus limoniticus*, *Gallionella ferruginea*, *Blastocaulis* и др. Помимо наличия микроорганизмов, необходимо анализировать рН, окислительно-восстановительный потенциал, а также, в зависимости от обстановки, определить такие компоненты, как окисное и закисное железо, сероводород, нитратный, нитритный и аммонийный азот, сульфаты, кислород и др. Их анализ, с одной стороны, показывает благоприятна или нет экологическая обстановка для развития бактерий, и с другой, свидетельствует об интенсивности тех или иных бактериальных или химических процессов.

Очевидно обследование микрофлоры наряду с данными химических анализов может ответить на следующие вопросы.

1. Участвуют ли микроорганизмы в окислении сульфидных руд или в образовании вторичных сульфидных минералов?

2. Какие микроорганизмы участвуют в окислительных процессах?

3. Насколько благоприятны условия для жизнедеятельности микроорганизмов.

4. Идет ли окисление сульфидов во всем рудном теле, в его верхней окисленной части или сосредоточено только по трещинам в продуктах, там, где сочится вода?

Таким образом, исследование распространения микроорганизмов наряду с данными химических анализов прежде всего решает вопрос о механизме окислительных или восстановительных процессов в месторождениях сульфидных руд. Это имеет важное значение для решения ряда практических задач, как например, выщелачивания цветных металлов, разведки месторождений сульфидных руд и пр.

Определение скорости бактериальных окислительных процессов в условиях месторождения

Как известно, различные месторождения сульфидных руд отличаются друг от друга по составу руд, температурным условиям и др., что несомненно оказывает большое влияние на жизнедеятельность бактерий. Поэтому, чтобы оценить роль бактерий в том или ином месторождении, в каждом конкретном случае нужно определять активность бактерий и скорость процесса окисления Fe^{2+} в условиях, близких к условиям рудников. Один количественный учет микроорганизмов указывает лишь на обсемененность ими руд, но не позволяет оценить их активность и скорость окислительных процессов.

При оценке скорости бактериальных окислительных процессов непосредственно в месторождениях необходимо ставить опыты непосредственно в шахтах. Предварительно проводится микробиологический и полный химический анализы рудничных вод

и определяется их температура. Полученные данные показывают насколько благоприятен химический состав вод для бактерий. Так, например, воды медно-никелевых месторождений Кольского полуострова являются ультрапресными и практически лишены солей азота, фосфора и некоторых других элементов, имеют низкую температуру, около 2—8°. Поэтому при постановке опытов все эти свойства рудничных вод следует учитывать.

Принципиально варианты опыта могут быть следующими.

1. Рудничная вода, содержащая Fe^{2+}
2. Рудничная вода + $FeSO_4$ (как дополнительный источник энергии)

3. Рудничная вода + $(NH_4)_2SO_4$

4. Рудничная вода + KH_2PO_4

5. Рудничная вода + KH_2PO_4 + $(NH_4)_2SO_4$

6. Рудничная вода + $FeSO_4$ + KH_2PO_4 + $(NH_4)_2SO_4$.

Микрофлора во всех вариантах естественная. Опыт ставится параллельно при температуре рудничной воды и комнатной (20—25°) или в термостате при температуре 28°.

Все варианты ставятся в двух повторностях в эрленмейеровских колбах на 100 мл, в которые вносится по 30—50 мл воды. Соли добавляли из расчета среды Летена (№ 11) или 9 К (№ 10). В шахте колбочки в ящике помещаются в проточную рудничную воду так, чтобы они были на $1/3$ погружены в воду.

В конце опыта проводятся следующие анализы: Fe^{2+} , Fe^{3+} , Th. ferrooxidans. Данные анализов Fe^{2+} позволяют судить о скорости его окисления естественной микрофлорой в условиях рудника и о том, насколько благоприятны условия в рудничной воде для жизнедеятельности бактерий.

Примером могут служить опыты, проведенные Каравайко и др. (1966) в водах цементационной установки Дегтярского рудника. Ниже представлены данные о влиянии добавок минеральных солей и температуры на бактериальное окисление закисного железа (микрофлора естественная). Исходным раствором была хвостовая вода цементационной установки. Исходное содержание Fe^{2+} — 1,9 г/л.

	Окислено железа, г/л за 5 суток	
	+20—25°	+13—15°
Вода цементационной установки без добавок	0,999	0,228
То же + тимол	0	0
KH_2PO_4 (100 мг/л)	1,283	0,367
KH_2PO_4 + тимол	0	0
$(NH_4)_2SO_4$ (100 мг/л)	1,065	0,530
$(NH_4)_2SO_4$ + тимол	0	0
$(NH_4)_2SO_4$ (100 мг/л) + KH_2PO_4 (100 мг/л)	1,104	0,507
То же + тимол	0	0

Из этих данных видно, что скорость бактериального окисления Fe^{2+} в водах цементационной установки резко снижается из-за низкой температуры. Добавление солей азота и фосфора стимулирует процесс бактериального окисления Fe^{2+} . Без бактерий за время опыта окисления Fe^{2+} не происходило.

Для определения условий жизнедеятельности бактерий в рудничных водах и скорости окисления Fe^{2+} проводятся эксперименты с накопительной культурой *Th. ferrooxidans* по схеме:

1. Рудничная вода + *Th. ferrooxidans*
2. Рудничная вода + $FeSO_4$ + *Th. ferrooxidans*
3. Рудничная вода + $FeSO_4$ + $(NH_4)_2SO_4$ + KH_2PO_4 + *Th. ferrooxidans*
4. Среда 9К, приготовленная на рудничной воде + $FeSO_4$ + *Th. ferrooxidans*
5. Среда 9К + *Th. ferrooxidans*

Опыты ставятся при температуре рудника и комнатной или в термостате. Накопительная культура *Th. ferrooxidans* выделяется из обследуемого рудника и вносится в опытные сосуды в количестве 1 мл на 50 мл среды. Анализы проводятся те же, что и в предыдущем варианте.

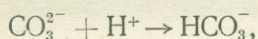
Помимо определения скорости бактериального окисления закисного железа в рудничных водах важно также определить интенсивность процесса хемосинтеза (Кузнецов, Романенко, 1963; Романенко, 1964). Свежеотобранная кислая рудничная вода прямо в шахте по 10 мл наливается в пенициллиновые склянки, которые закрываются резиновой пробкой так, чтобы под ней остался пузырек воздуха. Затем шприцем, прокалывая пробку, вносят точно по 0,1 мл раствора радиоактивного карбоната $Na_2C^{14}O_3$ удельной активности $1,05 \cdot 10^6$ имп/мин в 1 мл при учёте под счетчиком. Эту операцию нужно проводить обязательно в закрытой склянке, так как испытуемые растворы имеют рН 2,5 и ниже и радиоактивный карбонат находится в виде $C^{14}O_2$. Каждый вариант опыта ставится в двух повторностях. Меченую соду, применяемую для определения величины хемосинтеза, предварительно фильтруют через мембранный фильтр № 3 и хранят в запаянных ампулах по 10—15 мл, в которых она стерилизуется многократным кипячением на водяной бане. Схема постановки опыта аналогична вышеприведенной для определения скорости окисления Fe^{2+} . Часть склянок помещается в рудничную воду в шахте, а часть оставляется при комнатной температуре. Время экспозиции выбирается произвольно (от 1 до 10 суток в зависимости от активности бактерий).

По окончании опыта в каждую склянку вносится по 0,5 мл 40%-ного формалина и содержимое склянки перемешивается. Дальнейшие операции проводятся в лаборатории. Раствор профильтровывается через мембранные фильтры № 2, фильтры обрабатываются 2%-ной соляной кислотой для удаления остатков

радиоактивного карбоната, и активность просчитывается под торцовым счетчиком. В конце опыта проводится также анализ Fe^{2+} и учитывается количество бактерий методом прямого счета. В отдельной пробе определяется содержание углерода углекислоты в рудничной воде.

В кислых рудничных водах и в используемых средах для *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans* минеральные формы углерода представлены исключительно углекислотой.

В том случае, если в склянке, используемой в опыте, имеется воздушное пространство, углекислота (в том числе и C^{14}O_2) будет находиться в равновесном состоянии в жидкой и газовой фазах. Для определения углерода карбонатов ($C_{\text{карб}}$), участвующих в хемосинтезе, растворенная в воде и находящаяся в равновесном состоянии в газовой фазе двуокись углерода связывается щелочью ($2\text{KOH} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{K}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O}$) и дальше определяется по методу Сорокина (Кузнецов, Романенко, 1963) отгонкой в раствор КОН. Далее, если титрование раствора едкого калия, содержащего ион CO_3^{2-} , проводится соляной кислотой с фенолфталеином в качестве индикатора до обесцвечивания, ион CO_3^{2-} переводится в ион HCO_3^-



поэтому для расчета $C_{\text{карб}}$ разность между титрованием контроля и опыта, выраженную в мл 0,05 н. HCl , нужно умножить на 0,6.

Величину суточного хемосинтеза рассчитывают по следующей формуле:

$$C_x = \frac{C_{\text{карб}} \cdot r}{R \cdot t} - C_{\text{гет}},$$

где C_x — величина суточного хемосинтеза в мг углерода на 1 л, $C_{\text{карб}}$ — содержание углерода в воде, R — общая радиоактивность воды в склянках после добавления в них раствора $\text{Na}_2\text{C}^{14}\text{O}_3$, выраженная в *имп/мин* на 1 л, r — радиоактивность бактерий на фильтре в *имп/мик* на 1 л профильтрованной воды, t — срок инкубации склянок в сутках, $C_{\text{гет}}$ — поправка на гетеротрофное усвоение CO_2 . Так как в кислых рудничных водах гетеротрофные бактерии, как правило, отсутствуют, то в этом случае $C_{\text{гет}}$ можно не учитывать. Если же воды нейтральные или слабокислые, то в них содержатся значительные количества гетеротрофов и поправку $C_{\text{гет}}$ в этом случае следует учитывать.

Как показал Романенко (1964), величина ассимиляции углерода из CO_2 для гетеротрофных бактерий равна 6—8% от общей биомассы бактерий. Для получения этой поправки необходимо знать общее количество бактерий в воде, учтенное прямым методом, время генерации бактерий и вычислить их биомассы.

Определение общей радиоактивности раствора (R), в наших случаях методом Сорокина (Кузнецов, Романенко, 1963), затруднительно, так как используются, как правило, кислые растворы, содержащие большие количества сернокислого закисного и окисного железа, а также других металлов. При подщелачивании растворов для связывания радиоактивной углекислоты в этом случае металлы выпадают в осадок, что затрудняет или совсем исключает возможность достоверного определения радиоактивности осадка BaCO_3 . Поэтому общую радиоактивность раствора в опыте мы определяли путем расчета, зная активность раствора $\text{Na}_2\text{C}^{14}\text{O}_3$ и количество его, внесенное в опытный сосуд. Для определения активности раствора соды 0,02 мл ее наносили на металлические диски (не меньше трех), подсушивали, и радиоактивность осадка определяли под торцовым счётчиком Гейгера.

На основании данных хемосинтеза можно произвести ориентировочный расчет прироста количества бактерий по формуле (Романенко, 1964):

$$B = \frac{C_a \cdot 2 \cdot 10^{10}}{b \cdot v \cdot s \cdot d},$$

где:

B — прирост количества бактерий в использованном объеме воды (10 мл), C_a — общее количество ассимилированной бактериями углекислоты в γ С/10 мл воды за вычетом контроля, b — процент углерода CO_2 , вовлекаемого хемоавтотрофами в биосинтез, принимается за 100; v — объем бактериальной клетки, принятый нами за 0,5 мк^3 , s — процент сухого вещества бактерий от веса сырой биомассы, принятый за 15; d — удельный вес бактерий, принимаемый за 1; $2 \cdot 10^{10}$ — коэффициент перехода от объема бактериальной биомассы (в мк^3) к проценту углерода, ассимилированного бактериями из углекислоты.

Время генерации *Th. ferrooxidans* можно рассчитать по формуле (Кузнецов, Романенко, 1963):

$$G = \frac{t \cdot \lg 2}{\lg B - \lg b} \text{ часов,}$$

где:

G — время генерации бактерий, b — исходное число бактерий, B — количество бактерий в конце опыта, t — продолжительность опыта в часах. Коэффициент 2 принят нами потому, что прирост количества бактерий рассчитывается по ассимиляции C^{14}O_2 , т. е. здесь мы имеем дело с живыми клетками. Поэтому в период размножения при каждой генерации количество бактерий увеличивается в два раза.

Этот метод учета прироста бактерий и определения времени генерации, на наш взгляд, является наиболее достоверным,

поскольку мы имеем дело только с живыми бактериями, активно ассимилирующими углекислоту.

Крамаренко с соавторами (1961, 1962) определяла активность тионовых бактерий по потреблению окисляемого субстрата ($S/S_2O_3^{2-}$, Fe^{2+} и др.), а денитрифицирующих — по скорости восстановления NO_3^{1-} в NO_2^{1-} . Определение активности проводилось в лабораторных условиях при 28—30° С. Учитывая, что в месторождениях сульфидных руд температура руд и вод, как правило, сравнительно низкая, а нитраты зачастую полностью отсутствуют, активность бактерий, определяемая в лаборатории, ничего общего не имеет с активностью в природе. Таким образом, данные этих авторов только показывают, что в месторождениях сульфидных руд имеются жизнеспособные бактерии.

При такой постановке опытов активность потребления окисляемого субстрата будет зависеть от количества жизнеспособных, хотя, может быть, и неактивных в природе бактерий. Количество же бактерий в водах и породах авторы не определяли. Естественно, что если высеять на среду руды, в которых содержится 10^6 и 10^2 жизнеспособных клеток в 1 г, хотя и находящихся в природе в анабиозе, то активность потребления, например, $S/S_2O_3^{2-}$, будет выше в первом случае.

Очевидно, что активность бактерий в месторождениях нужно определять в условиях самих месторождений. Для этого нужно использовать меченую углекислоту, серу и т. д.

Активность бактерий в месторождениях можно определять и по скорости потребляемого или окисляемого субстрата, однако опыты нужно ставить в условиях самих месторождений, а не в термостате.

ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ ЦВЕТНЫХ, РЕДКИХ И БЛАГОРОДНЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Прежде чем ставить вопрос о бактериальном выщелачивании цветных металлов в укрупненных масштабах, необходимо решить ряд вопросов в лабораторных условиях.

Во-первых, выяснить насколько интенсивно способны бактерии окислять тот или иной сульфидный минерал при выщелачивании металлов из конкретного типа руды и насколько быстро идет этот процесс химически.

Во-вторых, следует изучить механизм и кинетику выщелачивания металлов из сульфидных минералов или руды. И, в-третьих, выяснить условия, необходимые для выщелачивания металлов из того или иного типа руды.

В данной главе мы попытались обобщить имеющиеся в литературе данные о роли микроорганизмов в выщелачивании цветных, редких и благородных металлов из руд.

Бактериальное окисление закисного железа

Th. ferrooxidans, как известно, был выделен как организм, способный окислять закисное железо в окисное в кислой среде. Этот процесс бактериального окисления двухвалентного железа идет настолько энергично, что был запатентован в США в 1958 г. для получения сернокислого окисного железа в технологии выщелачивания цветных металлов из руд (Zimmerley et al., 1958, 1964). Роль *Th. ferrooxidans* в окислении закисного железа в настоящее время хорошо изучена.

Результаты опытов, проведенных в различных условиях, показывают, что *Th. ferrooxidans* быстро окисляет закисное железо, тогда как химический процесс идет очень медленно (табл. 10).

Скорость бактериального окисления закисного железа спонтанной микрофлорой была увеличена путем аэрирования рас-

таблица 10.

Окисление закисного железа *Th. ferrooxidans* при различных условиях (Каравайко и др., 1966)

Питательный раствор	Исходное содержание Fe^{2+} , г/л	Окислено Fe^{2+} , г/л	Условия опыта	Наличие бактерий	Время опыта, час.
Среда 9К	8,45	8,45	Стационарные, $t=28^{\circ}C$	Добавлена чистая культура	168
То же	8,45	0,3	Те же	Без бактерий	168
» »	8,45	8,45	Перемешивание на качалке 150 об/мин, $t=28^{\circ}C$	Добавлена чистая культура	60
» »	8,45	0,5	Те же	Без бактерий	60
Вода цементационной установки Дегтярского рудника	1,9	1,0	Стационарные, $t=20-25^{\circ}$	Естественная микрофлора	120
	1,9	0	Те же	Без бактерий	120

творов и добавления солей фосфора, что видно из данных рис. 6 (Каравайко и др., 1966).

Опыты проводили в чанах емкостью 5 м³. Воздух подавался от масляного насоса с расходом его 2 л/мин на 1 м³ воды. KH_2PO_4 добавляли из расчета 300 мг/л. Температура воды во время опыта была 15—18°.

Более крупные опыты были проведены на Дегтярском руднике в прудке-регенераторе опытно-промышленной установки емкостью 1600 м³ (Голомзик и др., 1965а).

При дополнительной аэрации сжатым воздухом (2,8—3,0 м³/мин) и добавлении бактериальных затравок из чанов при температуре +14° закисное железо было окислено на 90% за 9 суток (рис. 7). Эта скорость бактериальной регенерации $Fe_2(SO_4)_3$ была вполне удовлетворительной для проведения выщелачивания меди из рудного тела Дегтярского месторождения.

Лацей и Лаусон (Lacey, Lawson, 1970) изучали кинетику окисления $FeSO_4$ при температуре 20—31° в условиях стационарного культивирования и при избытке кислорода, двуокиси углерода и других компонентов. Скорость окисления Fe^{2+} выражается

следующим уравнением: $\frac{ds}{dt} = \frac{\mu_m SX}{y(K + S)}$, где t — время, час;

S — концентрация Fe^{2+} , г/л; μ_m — максимум специфической скорости роста бактерий, час⁻¹, y — сырая масса бактерий, образовавшаяся на 1 г окисленного железа, г/г; K — константа насыщения Fe^{2+} , г/л; X — концентрация бактерий, г/л. μ_m варьировала от 0,12 час⁻¹ при 20° и до 0,20 час⁻¹ при 31°, тогда как K неза-

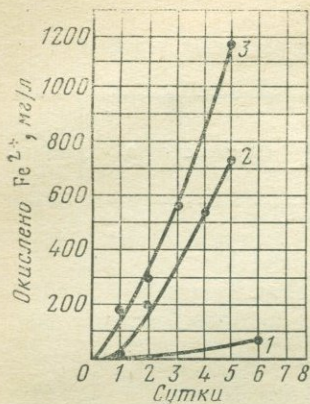


Рис. 6

Влияние аэрации и добавок K_2HPO_4 на скорость бактериального окисления FeSO_4 в чанах

1 — без аэрации, 2 — с аэрацией, 3 — с аэрацией + K_2HPO_4

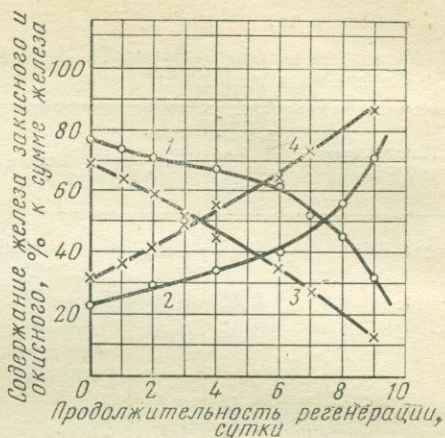


Рис. 7

Влияние аэрации и добавок бактерий *Th. ferrooxidans* на скорость регенерации $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ в прудке-регенераторе

1 — (Fe^{2+}), 2 — (Fe^{3+}) — без добавок бактерий извне; 3 — (Fe^{2+}), 4 — (Fe^{3+}) — с добавкой бактериальной затравки из чанов

кономерно изменялась в пределах 1—2 г/л. Скорость окисления железа была наибольшей при концентрации Fe^{2+} 1,15 г/л.

Расчеты показывают, что в случае непрерывного окисления FeSO_4 при 31° и pH 2,2 *Th. ferrooxidans* может окислять Fe^{2+} со скоростью примерно в 500 000 раз большей, чем скорость химического окисления закислого железа. Кинен (цит. по Lacey, Lawson, 1970) установил, что *Th. ferrooxidans* способен окислять Fe^{2+} со скоростью в 200 000 раз большей, чем этот процесс идет без бактерий.

Таким образом, *Th. ferrooxidans* является весьма эффективным в окислении двухвалентного железа и может быть использован для регенерации выщелачивающих растворов в промышленных масштабах.

Бактериальное окисление пирита

Пирит является весьма распространенным сульфидным минералом и в значительных количествах встречается в медно-колчеданных и угольных месторождениях. Рудничные воды этих месторождений обычно очень кислые. Так, рудничные воды Дегтярского месторождения, суточный водоотлив которого составляет около 3000 м³, имеют pH 2,5. По данным Дэвиса (цит. по Куз-

нецову и др., 1962), с водами угольных месторождений в реки Питтсбургского округа попадает ежедневно около 9000 т серной кислоты. За 1932 г. в реку Огайо поступило около 3 млн. т серной кислоты в пересчете на концентрированную. Это свидетельствует о большой интенсивности окисления пирита в месторождениях.

Микробиологические исследования, проведенные на этих месторождениях, показали наличие бактерий *Th. ferrooxidans* в водах и породах (Temple, Delchamps, 1953; Ляликова, 1959, Каравайко и др., 1967).

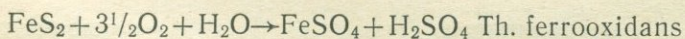
Бактериальное окисление пирита изучали Брайнер с сотрудниками (Bruner et al., 1954), Саттон, Коррик (Sutton, Corrick, 1964) и др. В опытах Брайнера с сотрудниками в перколятор помещали 200 г песка, 20 г измельченного пирита (—60 + + 200 меш.) и раствор солей. После стерилизации в автоклаве при 140° в опытные перколяторы вносили культуру *Th. ferrooxidans*. Часть перколяторов оставалась стерильной. Анализы показали, что под действием бактерий скорость окисления пирита возрастает в 20 раз.

Саттон и Коррик использовали 10 г измельченного пирита (—100 + 200 меш.), который смешивали с 150 г песка. Эту смесь помещали в перколятор и заливали 50 мл среды. Анализы показали, что через 21 день в перколяторе с бактериями рН растворов снизился с 3,6 до 1,6. В контрольном перколяторе, где бактерии отсутствовали, рН растворов равнялся 3,3. Образование трехвалентного железа в бактериальном варианте происходило в 112—120 раз быстрее, чем в контроле.

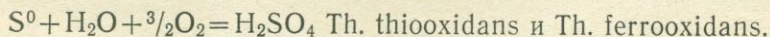
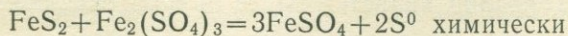
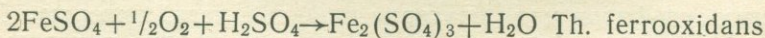
По данным японских исследователей, скорость окисления пирита под действием микроорганизмов примерно в 1000 раз превышает скорость чисто химического окисления (Курихара Кадзуо, 1968).

Th. ferrooxidans также окисляет марказит (Leathen et al., 1951) и пирротин (Кузнецов и др., 1962). Эти данные наряду с данными по изучению распространения *Th. ferrooxidans* позволяют придавать этим бактериям большую роль в окислении пирита и других сульфидов железа в колчеданных и угольных месторождениях.

Химические реакции, которые происходят в процессе бактериального окисления пирита, могут быть представлены в следующем виде.



и химически



Как видно из этой схемы, в окислении пирита принимают участие как бактерии, так и сернокислое окисное железо.

По данным В. И. Иванова (1962), в присутствии пирита равновесие между Fe^{2+} и Fe^{3+} устанавливается при содержании в растворе около 65% Fe^{3+} , т. е. скорость бактериальной регенерации Fe^{3+} несколько выше скорости его восстановления при взаимодействии с пиритом.

Способность $Fe_2(SO_4)_3$ достаточно легко реагировать с пиритом иногда используется в гидрометаллургии для восстановления железа перед цементацией меди (пиритный фильтр).

Бактериальное окисление сульфидных минералов меди

Относительную скорость бактериального и химического окисления сульфидных минералов меди изучали Брайнер с сотрудниками (Bryner, Jamerson, 1958), Данкан, Трассел (Duncan, Trussel, 1964), Ляликова (Кузнецов и др., 1962), Иванов (1962) и др. Для сравнения скорости окисления различных сульфидных минералов меди в табл. 11 приведены данные Данкана и Трасселла (Duncan, Trussel, 1964), полученные в одинаковых условиях с применением интенсивной аэрации на качалках и при температуре 35°. В опытах использовали 1—3 г сульфида или руды, которые вносили в колбу Эрленмейера на 250 мл и добавляли 75 мл среды 9 К (Silverman, Lundgren, 1959) без железа. pH раствора доводили до 2,5 и вносили по три капли 8—10-дневной культуры *Th. ferrooxidans*. В контрольные колбы добавляли сулему.

Из данных табл. 11 видно, что скорость бактериального окисления сульфидов меди значительно превышает скорость химического окисления. Скорость бактериального окисления двух образцов халькопирита была неодинаковой. Причина такого поведения халькопирита неясна. Так как рациональный анализ образцов не проводился, то можно предположить, что образец Ugo-II содержал примеси вторичных сульфидов меди. Возможно также, что халькопирит в этих образцах отличался и своей кристаллической решеткой. Скорость бактериального окисления халькопирита из образца Ugo-I резко возрастала при добавлении твина 20, что позволило в присутствии *Th. ferrooxidans* выщелочить 72% меди за 12 дней против 5% меди за 24 дня без бактерий.

Трасселл с сотрудниками (Trussel et al., 1964) приводят также данные об извлечении 80% меди из $CuFeS_2$ за 4 дня. Из вторичных сульфидов меди бактерии наиболее легко окисляют борнит и халькозин. Ковеллин является более трудно окисляемым сульфидом.

таблица 11.

Бактериальное выщелачивание музейных образцов сульфидных минералов меди

Минерал	0,003% твина 20	Инокуля- ция	Содержа- ние меди в образце, мг	Выщелочено меди		Время вы- щелачива- ния, дни
				мг	%	
Халькопирит (Ugo-I)	+	+	323,5	235,8	72	12
	—	+	323,5	94,0	29	24
	+	—	323,5	17,8	5	24
Халькопирит (Ugo-II)	+	+	576,7	591,4	103	26
	—	+	576,7	580,0	101	33
	+	—	576,7	72,5	13	33
Ковеллин	+	+	648,3	244,2	33	76
	—	+	648,3	293,6	45	76
	+	—	648,3	125,6	19	76
Халькозин	+	+	473,7	439,6	93	30
	—	+	473,7	433,7	93	30
	+	—	473,7	152,6	32	30
Борнит	+	+	544,2	565,6	104	20
	—	+	544,2	554,7	102	20
	+	—	544,2	136,8	34	57

Примечание. Плюс—бактерии или твин 20 добавляли; минус—не добавляли.

Опыты, проведенные во Франции, показали, что за 50 дней с помощью *Th. ferrooxidans* удаётся перевести в раствор 60% меди из халькозина и только 23% из ковеллина (Houot, 1967). Из образца тетраэдрита, содержащего 8,5% меди и измельченного до -325 меш , в опытах Данкана (Dupcan, 1967) в присутствии бактерий выщелочено за 5 дней 82% меди и за 10 дней 100%. В контроле за тот же срок соответственно выщелочено 9 и 19% меди. Вторичные сульфиды меди окисляются также сернокислым окисным железом.

Как видно из данных Расселла и Трасселла (Razzell, Trussell, 1963b), в присутствии *Th. ferrooxidans* из халькозина (Cu_2S) выщелочено примерно в три раза, а в присутствии бактерий и сернокислого закисного железа в шесть раз больше меди, чем в контроле. Концентрация меди в растворе соответственно была 1,36, 2,9 и 0,48 г/л. Действие FeSO_4 на халькозин в этих опытах обусловлено тем, что оно окислялось бактериями до $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, который вступал в реакцию с этим минералом.

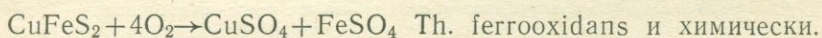
Роль сернокислого окисного железа в бактериальном окислении некоторых сульфидов меди изучали также Иванов и др. (Иванов, Нагирняк, Степанов, 1961; Иванов, 1962). Опыты проводили в перколяторах, в которые вносили по 50 г смеси кварца

и соответствующего сульфида (10:1) и среду Колмера (Colmer et al., 1949), содержащую от 1 до 50 г/л Fe^{2+} . Исходный pH доводили до 1,9—2,0. О скорости окислительно-восстановительных процессов судили по данным анализов Fe^{3+} и Fe^{2+} . Было показано, что $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ является слабым окислителем халькопирита (CuFeS_2). В присутствии этого минерала динамическое равновесие между Fe^{2+} и Fe^{3+} устанавливается при относительном содержании Fe^{3+} в растворе около 90%. То есть, очевидно, что скорость бактериального окисления Fe^{2+} превышает скорость восстановления Fe^{3+} при взаимодействии с халькопиритом.

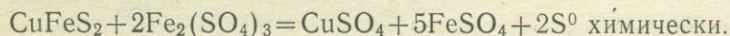
Халькозин (Cu_2S) и борнит (Cu_5FeS_4) легко окисляются серноокислым окисным железом. В их присутствии равновесие между Fe^{2+} и Fe^{3+} устанавливается при низком относительном содержании Fe^{3+} в растворе. Скорость бактериального окисления Fe^{2+} значительно ниже скорости восстановления Fe^{3+} в реакции с этими сульфидными минералами.

Аналогично себя ведет и синтетический сульфид CuS . Однако минерал ковеллин (CuS), как видно из данных Сюлливана (цит. по Иванову, Степанову, 1960), трудно окисляется серноокислым окисным железом. Химизм процессов окисления сульфидов меди можно представить в следующем виде.

Халькопирит

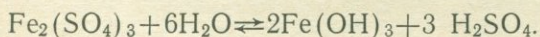


FeSO_4 окисляется дальше до $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ Th. ferrooxidans (реакция на стр. 14).

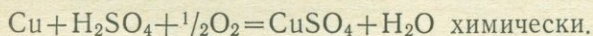
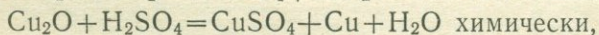
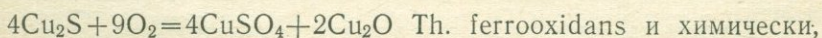


Сера окисляется бактериями до H_2SO_4 (реакция на стр. 14).

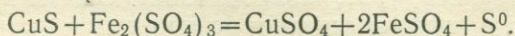
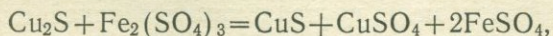
H_2SO_4 образуется также при гидролизе серноокислого окисного железа.



Халькозин и ковеллин



Окисление ковеллина идет, вероятно, аналогичным путем. Окисление Cu_2S серноокислым окисным железом идет в две стадии по схеме:



Вторая стадия окисления халькозина является более медленной.

По данным Сюлливана (цит. по: Иванов, Степанов, 1960), при выщелачивании халькозина подкисленными растворами $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ при температуре 35° около 50% меди переходит в раствор в течение суток, в то время как остальная часть растворяется только в течение 24 суток.

Таким образом, окисление халькопирита, как и пирита *Th. ferrooxidans* сопровождается образованием сернокислого окисного железа, серной кислоты при окислении серы и гидролизе $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. Следовательно, при бактериальном окислении сульфидов, содержащих железо, в окислительном процессе участвуют как бактерии, так и сернокислое окисное железо. Окисление вторичных сульфидов меди сопровождается потреблением серной кислоты. В опытах Эрлиха и Фокса (Ehrlich, Fox, 1967) pH при окислении халькозина *Th. ferrooxidans* повышался с 3 до 5, а в опытах Каравайко с химически чистым сульфидом CuS — с 2,5 до 6,0.

Заиком (Zajic, 1966) также получен патент на выщелачивание меди из руд с помощью денитрифицирующих бактерий. Бактерии выращиваются на жидкой питательной среде с нитратами, а затем этот раствор используется для орошения руды. Эта технология требует экспериментальной проработки.

Бактериальное окисление сульфидных минералов цинка, никеля, сурьмы, свинца, олова, молибдена и мышьяка

Относительно менее изучена роль *Th. ferrooxidans* и химических агентов в окислении сульфидов других цветных металлов.

Экспериментальные исследования показали, что *Th. ferrooxidans* окисляет сульфиды цинка — сфалерит и марматит, причем последний, как видно из данных Трасселла и др. (Trussell et al., 1964), окисляется значительно быстрее. Так, если из сфалерита в присутствии бактерий за 10 дней было выщелочено только 6% цинка, то за тот же срок из марматита — 86%. Из руды цинк также выщелачивается достаточно легко. За 15 дней в опытах Трасселла с сотрудниками выщелочено более 90% цинка.

Данкан и др. (Duncan et al., 1967) провели укрупненные опыты по выщелачиванию цинка в чанах объемом 40 л с использованием 1600 г цинковой руды и 200 мл культуры, предварительно выращенной на цинковой руде. pH в растворе, равный 2,5, устанавливали добавлением серной кислоты. Максимальная скорость выщелачивания цинка равнялась 15 мг/л в час. Примерно через месяц концентрация цинка в растворе была 6,2 г/л и железа 3 г/л.

Высокие концентрации цинка, которые накапливаются в растворе, не оказывают токсичного действия на бактерий.

Гольбрайт и Илялетдинов (1970) проводили опыты по бактериальному выщелачиванию цинка из полиметаллических руд Казахстана. Скорость выщелачивания цинка в присутствии *Th. ferrooxidans* возрастала примерно в 2—3 раза по сравнению с вариантом без бактерий. Скорость выщелачивания цинка, как показали Иванов (1962), Малов и Пратер (Malouf, Prater, 1961), возрастает в присутствии пирита и сернокислого окисного железа. По данным Иванова (1962), в присутствии сфалерита равновесие устанавливается при относительном содержании Fe^{3+} в растворе около 90%.

Роль *Th. ferrooxidans* в выщелачивании никеля изучали Данкан и Трасселл (Duncan, Trussell, 1964; Duncan, 1967; Duncan et al., 1967). При выщелачивании никеля из миллерита (NiS) за 13 суток в присутствии *Th. ferrooxidans* и твина 20 в раствор перешло 70% металла. В присутствии только бактерий за 28 суток выщелочено 58% никеля против 10% в контроле. Никель легко выщелачивается также из руд. В опытах Трасселла с сотрудниками извлечено 90% никеля за 15 дней (Trussell et al., 1964), а в опытах Данкана и др. из навески руды 3 г — 100% за 20 дней. В контроле за этот же срок выщелочено 25% никеля (Duncan et al., 1967).

Из бедной руды (0,2% Ni) в Британской Колумбии (Канада) за 66 часов было извлечено 73—97% Ni (Mining Engin., 1970).

Данные, полученные нами на месторождениях Кольского п-ва, показывают, что даже в условиях севера сульфиды никеля окисляются бактериями, а сам металл переходит в раствор и выносится из руд. Так, в количестве 0,9—5,5 г/л никель обнаружен в кислых водах рудника Каула, имеющих pH 2,7—4,9. Никель даже в значительных концентрациях, вероятно, нетоксичен для *Th. ferrooxidans*.

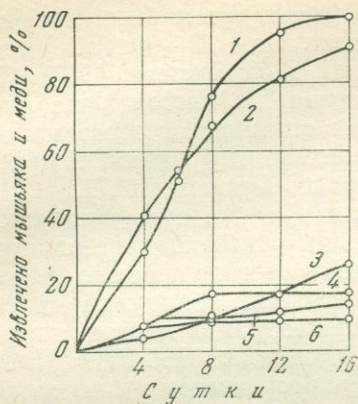
Th. ferrooxidans легко окисляет сульфиды сурьмы. Ляликовой (1966) показано, что в присутствии бактерий скорость окисления антимонита возрастает примерно в три раза. *Th. ferrooxidans* окисляет также сульфиды свинца, тем не менее выщелачивание этого металла затрудняется тем, что в процессе окисления сульфидов свинца образуется труднорастворимый сульфат $PbSO_4$, который выпадает в осадок. Однако возможно, что если процесс вести в присутствии смеси анионитов и катионитов, то $PbSO_4$ может быть растворен и удален из осадка. Вопрос этот требует своего разрешения. Попытки использовать *Th. ferrooxidans* и другие виды бактерий для выщелачивания молибдена пока что не дали хороших результатов. Сам молибденит бактерии окисляют, однако молибден в кислой среде токсичен для бактерий, и они погибают даже при низких концентрациях его в растворе (9—12 мг/л молибдена) (Bhappu et al., 1965; Trussell, 1965).

Попытки адаптировать *Th. ferrooxidans* к более высоким концентрациям молибдена также не дали хороших результатов.

Трасселл и Данкан отмечают, что таким путем были получены культуры бактерий, которые выдерживали 70—90 мг/л молибдена в растворе при pH 2,0 (Trussell, 1965; Duncan, 1967). Сведений об окислении сульфидов олова *Th. ferrooxidans* очень мало. Так, *Th. ferrooxidans* окисляет станнин. Из этого минерала в опытах Данкана было выщелочено 12% олова в присутствии бактерий против 4% в контроле (Duncan, 1967).

Th. ferrooxidans способен окислять также сульфиды мышьяка. В опытах Ляликовой (1966) при окислении арсенопирита культурой *Th. ferrooxidans* за 80 дней в раствор перешло 940 мг/л мышьяка. В стерильном контроле мышьяк обнаружен не был. В опытах Эрлиха (Ehrlich, 1964) концентрация мышьяка в растворе при окислении арсенопирита достигала 965 мг/л. Планомерная работа по изучению роли микроорганизмов в выщелачивании мышьяка из арсенопирита и оловянных концентратов проводится в настоящее время в Институте стали и сплавов.

В опытах использовали сульфидноокисленные оловянные продукты крупностью 0,1 мм, которые содержали 0,59% олова, 9,61% меди и 7,21% мышьяка. Олово присутствовало в концентрате в виде станнина ($\text{Cu}_2\text{FeSnS}_4$) и касситерита (SnO_2), медь — в основном в виде халькопирита (CuFeS_2) и мышьяк — в форме арсенопирита (FeAsS). Навески исходного материала в количестве 1 г вносили в колбы Эрленмейера на 250 мл и добавляли 50 мл среды следующего состава (на 1 л дистиллированной воды: 0,125 г — KH_2PO_4 ; 0,025 г — KCl ; 0,0025 г — MgSO_4 и 0,0025 г — $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; pH 2,2. Опыты проводили при температуре 28°. Исходное количество клеток *Th. ferrooxidans* превышало 1 млн. в 1 мл. Данные представлены на рис. 8 (Полькин и др., 1969). Из этих данных видно, что в присутствии *Th. ferrooxidans* выщелачивание мышьяка из оловосодержащего концентрата происходит быстро. Аналогичные данные получены также и при окислении чистого минерала арсенопирита. Без бактерий этот процесс идет очень медленно. Добавление $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ извне не ускоряет процесс выщелачивания мышьяка. По-видимому, достаточно того количества $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, которое выделяется из минерала при его окислении. В присутствии $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, арсенопирита и бактерий железо на 90—100% присутствует в трехвалентной форме. Следовательно, скорость бактериальной регенерации $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ превышает скорость восстановления Fe^{3+} в реакции с арсенопиритом. Интересно отметить, что окисление сульфидов меди в присутствии арсенопирита, вероятно, подавлено, о чем свидетельствует слабое выщелачивание меди из концентрата (рис. 8). Таким образом, в этом случае происходит селективное выщелачивание мышьяка. Накопленный к настоящему времени фактический материал позволяет говорить о перспективности применения бактерий для выщелачивания мышьяка из оловянных концентратов и, возможно, других



Р и с. 8

Выщелачивание мышьяка и меди из сульфидноокисленного оловосодержащего концентрата (приведено суммарное извлечение мышьяка при выщелачивании)

только бактерии:

1 — мышьяк,

5 — медь;

бактерии и сульфат закиси железа:

2 — мышьяк,

4 — медь;

без бактерий и железа:

3 — мышьяк,

6 — медь

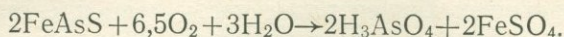
промпродуктов (золотосодержащие концентраты, пыли электрофильтров). При бактериальном окислении арсенопирита из минерала высвобождаются железо и мышьяк и в определенном соотношении распределяются между твердой и жидкой фазами. Зависимость осаждения мышьяка и железа от степени извлечения этих металлов в раствор показана на рис. 9 (Полькин и др., 1970). Видно, что с повышением степени извлечения мышьяка и железа в раствор возрастает и степень их осаждения в виде арсената и гидрата железа.

Большое влияние на осаждение мышьяка оказывает и pH растворов. Зависимость степени осаждения мышьяка из раствора от pH среды приводится ниже.

pH	Мышьяк в осадке, %	pH	Мышьяк в осадке, %
1,6—1,8	21—34	2,5—2,7	63—67
1,8—2,0	34—38	2,7—2,9	67—69
2,0—2,2	38—50	2,9—3,5	69—76
2,2—2,5	50—63		

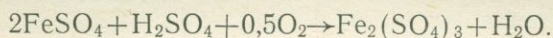
При низких значениях pH (1,6—1,8) мышьяк находится в основном в растворе. Однако скорость процесса бактериального окисления арсенопирита при этих значениях снижается. При pH 2,0—2,5 примерно половина мышьяка выпадает в осадок. Скорость бактериального окисления арсенопирита при этих значениях pH наибольшая. При pH раствора выше 2,5 мышьяк находится преимущественно в осадке. Осадок арсената железа легко растворяется слабым раствором соляной кислоты (0,1—0,2 н.). Распределение мышьяка между жидкой и твердой фазами пульпы объясняется особенностями бактериального и химического окисления арсенопирита по сравнению, например, с сульфидами меди и спецификой химического поведения мышьяка. Если при окислении сульфидов меди как бактериями, так и химическими

агентами образуются сульфаты меди, то конечными продуктами при окислении арсенопирита являются мышьяковая кислота и сульфат закиси железа.

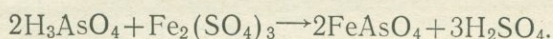


В промежуточной стадии возможно, вероятно, образование и мышьяковистой кислоты — H_3AsO_3 .

Образующийся сульфат закиси железа окисляется *Th. ferrooxidans* до сульфата окиси по известной реакции:

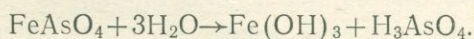


$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ опять вступает в реакцию с арсенопиритом. Следовательно, в растворе мы имеем ионы двух- и трехвалентного железа и анионы мышьяковой кислоты, а возможно, и мышьяковистой. Химическое взаимодействие между ними с образованием арсенитов и арсенатов железа способствует выпадению части мышьяка снова в осадок.



При pH раствора выше 2,0 сульфат окиси железа подвергается гидролизу, поэтому часть железа выводится из раствора в виде гидрата окиси.

При дальнейшем повышении pH раствора гидролизу подвергаются и арсенаты железа по реакции:

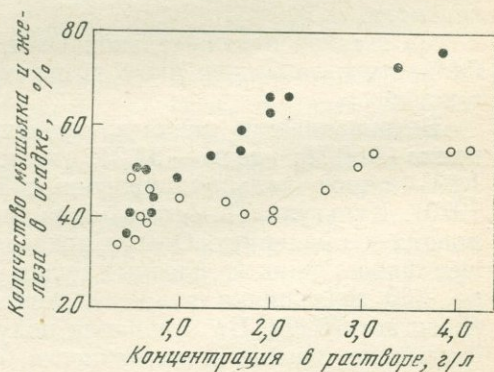


Таким образом, принципиальная схема выщелачивания мышьяка из промпродуктов состоит из двух ступеней: 1) бактериальное окисление арсенопирита и 2) растворение арсенатов железа соляной кислотой (0,1—0,2 н.).

Рис. 9

Зависимость степени осаждения мышьяка и железа от степени извлечения их в раствор

● — мышьяк, ○ — железо



Выщелачивание мышьяка из арсенопирита, как видно из вышеприведенных данных, можно вести селективно, так как в этом процессе медь выщелачивается значительно медленней. Однако в медно-оловянных концентратах часть меди представлена в виде окислов, которые легко растворяются серной кислотой, или вторичных сульфидов меди, которые легко окисляются серноокислым окисным железом. Эта медь будет переходить в раствор чисто химически в первую очередь. Первые растворы от выщелачивания следует направлять на цементацию, а затем, после выделения меди, обратно в емкости, где ведется процесс выщелачивания мышьяка.

Выщелачивание цветных металлов из отходов обогатительных фабрик и концентратов

Роль *Th. ferrooxidans* в выщелачивании цветных металлов из отходов обогатительных фабрик и других продуктов изучали в Канаде Данкан и Трасселл (Trussell, 1965; Duncan et al., 1966), в Румынии Ванчи и др. (1968) и в Польше Плускота и др. (Pluskota, Zmudziński, 1969; Zmudziński, Pluskota, 1969).

В Канаде в опытах использовали хвосты основной флотации цинка, халькопиритный концентрат, пиритные огарки, медные конверторные шлаки и шлаки отражательной печи.

Для опытов брали 1—10 г материала, помещали в 75 мл среды 9К без железа, рН серной кислотой доводили до 2,5 или 2,8 и добавляли 5 мл посевого материала. Колбы помещались на качалки при 35°. Из хвостов основной флотации цинка, содержащих 0,40% цинка и 0,15% меди, за 20 дней было выщелочено 75% цинка и 65% меди против 16% цинка и 10% меди в стерильном контроле.

Из пиритных огарков (70% железа; 0,1 меди; 0,44 цинка; 0,50 серы и 0,11% мышьяка) за 10 дней было выщелочено 100% меди и 36% цинка против 17% меди и 10% цинка в стерильном контроле.

Из шлаков отражательной печи, содержащих 0,29% меди и 0,8% серы, за 6 дней было выщелочено 62% меди против 12% в контроле.

Выщелачивание цинка из концентрата, содержащего (в %): цинка — 60,78; серы — 33,23; железа — 2,5; свинца — 1,79 и 1,29 — окиси кальция, проводили Торма и др. (Torma et al., 1970). Культура *Th. ferrooxidans* была предварительно адаптирована к сфалериту. Опыты показали, что *Th. ferrooxidans* выщелачивает цинк из плотных пульп (16% твердого) очень быстро, 350 мг/л цинка в час, а концентрация цинка в растворе достигает 72 г/л. На основании полученных данных, авторы высказывают мнение о возможности бактериального выщелачива-

ния металлов из богатых сульфидных концентратов. Из халькопиритного концентрата, содержащего 28% меди, за 120 час. в раствор перешло 59% меди. Флотореагенты, которые могли остаться в концентрате, не влияли на бактерии. Эти данные имеют большое значение для разработки чанового бактериального выщелачивания меди и других металлов из концентратов.

Вышеприведенные данные позволяют сделать следующие выводы о роли микроорганизмов в окислении различных сульфидных минералов.

1. *Th. ferrooxidans* окисляет пирит и различные сульфиды меди (халькопирит, халькозин, ковеллин, борнит и тетраэдрит), в значительной степени ускоряя процесс по сравнению с химическим окислением. Окисление вторичных сульфидов меди сопровождается потреблением серной кислоты, что следует учитывать при выщелачивании меди из руд, содержащих эти минералы.

При окислении пирита и халькопирита низкий pH раствора поддерживается на постоянном уровне, что связано главным образом с буферным действием сернокислого окисного железа, которое выделяется при окислении этих минералов.

2. Окисление сульфидов цинка, никеля и мышьяка *Th. ferrooxidans* происходит достаточно быстро, что позволяет говорить о возможности бактериального выщелачивания этих металлов из руд в промышленных условиях.

3. Бактерии окисляют сульфиды свинца, олова и молибдена, однако выщелачивание этих металлов либо не происходит (свинец), либо идет очень слабо. Вопрос о возможности применения бактерий для выщелачивания этих металлов требует дальнейшего изучения.

4. Сернокислородное железо является весьма активным в окислении некоторых сульфидных минералов, как, например, вторичных сульфидов меди и некоторых других металлов и в то же время обладает свойством буферного действия.

Слабые растворы серной кислоты наименее эффективны в растворении сульфидных минералов.

Роль тионовых бактерий в выщелачивании редких металлов

До сих пор мы рассматривали вопрос об окислении сульфидных минералов, т. е. те окислительные процессы, которые служат источником энергии для *Th. ferrooxidans*. Редкие металлы, как уже отмечалось выше, входят в кристаллические решетки многих сульфидов и являются спутниками цветных металлов, собственно минералы редких металлов встречаются редко.

При окислении сульфидного минерала редкие металлы высвобождаются и при благоприятных условиях могут быть выщелочены (см. табл. 5).

Роль *Th. ferrooxidans* в выщелачивании индия и галлия изучали Ляликова и Куликова (1965). В опытах использовался сфалерит (ZnS) как основной носитель этих элементов. Результаты анализов показывают, что скорость извлечения галлия в раствор под действием бактерий увеличивается примерно в два раза и зависит от скорости окисления сульфида цинка. Индий также выщелачивается из сфалерита.

Таллий при выщелачивании его из геокронита $[Pb_5(Sb, As)_2S_8]$ переходит в раствор под действием бактерий в 2—5 раз быстрее, чем в контроле. Ниже приводятся результаты бактериального выщелачивания индия и галлия из сфалерита (Ляликова, Куликова, 1965). Длительность опыта 40 суток.

	Содержание цинка в растворе в конце опыта, мг/л	Содержание в растворе в конце опыта мкг/мл	
		индия	галлия
Образцы из Екатерино-Благодатского месторождения			
Сфалерит + бактерии	200	1	40
		0,01	50
Стерильный сфалерит	200	0	20
Образцы из Савинского месторождения			
Сфалерит + бактерии	380	0,017	60
		0,02	—
Стерильный сфалерит	140	0	30

В связи с высокой растворимостью сульфатов этих элементов в воде и высокой их миграционной способностью в кислой среде зона окисления обедняется ими по сравнению с первичными рудами.

Приводим данные бактериального выщелачивания кадмия из сфалерита (Ляликова, Куликова, 1965).

	Время опыта, недели	Содержание в растворе в конце опыта мг/л	
		цинка	кадмия
Сфалерит + бактерии	6	320	7,6
Стерильный сфалерит	6	3,8	0,9
Сфалерит + бактерии	3	110	1,85
Стерильный сфалерит	3	8	0,36

Видно, что скорость выщелачивания кадмия из сфалерита в присутствии *Th. ferrooxidans* возрастает в 5—8 раз (Ляликова, Куликова, 1965).

Сцолноки и Богнар (Szolnoki, Bognar, 1964) также сообщают, что при бактериальном выщелачивании цинка из сфалерита в раствор переходил и кадмий. В опытах Ванчи и др. (1968) кадмий переходил в раствор при выщелачивании меди из руд и концентратов. Высокая растворимость сульфата кадмия в воде

обусловливает высокую его миграционную способность. В месторождениях после окисления сульфидов цинка содержание кадмия уменьшается почти в 100 раз (Куликова, 1966б).

Роль микроорганизмов в выщелачивании германия, как и других редких металлов, заключается в окислении сульфидов — носителей этих металлов. Германий изоморфно замещает медь, цинк и свинец и поэтому встречается в их сульфидных минералах. Выщелачивание его осуществляется в широких пределах рН (см. табл. 5).

Выщелачивание германия из галенита с помощью бактерий *Thiobacillus у* проводили Ляликова и Куликова (1969). Было показано, что при окислении сульфида свинца бактериями *Th. у* извлечение германия в раствор происходит примерно в шесть раз быстрее чем в контроле. За один месяц в раствор перешло соответственно 100 и 17 мкг/л германия. Данные анализов рудничных вод сульфидных месторождений приводятся ниже (Голева, Воробьева, 1967; Крайнов, 1967).

	рН	Содержание германия, мкг/л
Южный Урал, медно-колчеданный тип оруденения	2,7—3,0	18,0—40,0
	4,0—6,0	6,0—10,0
	7,2—8,0	4,0— 6,0
	7,6—9,0	2,5— 3,5
Рудный Алтай, полиметаллическое оруденение	7,4—7,7	5,0—25,0
	7,6—8,0	2,5— 4,0
Забайкалье, молибденовый тип оруденения	6,5—7,2	2,0— 3,5
	7,6—8,0	2,0— 2,5
Азотные и углекислые термы современного и молодого вулканизма	6,6—7,9	100—200

Содержание германия, как видно из приведенных данных, возрастает в кислых водах, что свидетельствует о выщелачивании его руд. Как известно, в окислении сульфидов в месторождениях большую роль играет *Th. ferrooxidans*.

Кобальт в природе встречается в пирите, пирротине, арсенопирите, сфалерите и др. и также подвергается выщелачиванию.

Роль микроорганизмов в окислении кобальтина изучала Ляликова (1966). В ее опытах извлечение кобальта в раствор за 30 дней при действии бактерий *Th. ferrooxidans* увеличилось примерно в 75 раз по сравнению с контролем. Извлечение кобальта из руды имело место также при выщелачивании цветных металлов из опытного отвала руды в США (Brocard, 1963). Этот элемент обнаружен также в кислых водах (при рН 2,7) медно-никелевого месторождения Каула на Кольском п-ве (Каравайко, Мошнякова, 1972). Это свидетельствует о выщелачивании его из руд данного месторождения. По данным Юнга (1959), сульфатная вода из Тироля содержала 13,8 г/т кобальта, веро-

ятно, выщелоченного из арсенопирита. Вода из рудника Монтана содержала 4,6 г/т кобальта.

Важным элементом является также рений. В рудных месторождениях он содержится главным образом в таких минералах, как молибденит, пирит, халькопирит и галенит (Бадалов и др., 1966; Иванов, Поплавко, Горохова, 1967). При окислении и разрушении эндогенных ренийсодержащих месторождений, рений в значительной степени рассеивается. Содержание рения в рудничных водах ренийсодержащих месторождений колеблется в широких пределах — от 5 до 500 мг/л. Роль бактерий в выщелачивании рения еще не изучена.

В очень кислой среде титан переходит в раствор и может также выщелачиваться из руд. Этот элемент обнаружен Яковлевой (1959) в водах медно-колчеданных месторождений Южного Урала, имеющих рН 1,5.

Селен и теллур по своим химическим свойствам ближе стоят к металлоидам. В природе они присутствуют в пирите, халькопирите, сфалерите, галените и др. Селен встречается также в элементарном состоянии в самородной сере и сульфидных минералах и в виде селенидов. Значительная часть теллура находится в виде собственных минералов — теллуридов. О выщелачивании этих элементов из руд свидетельствует их вынос с водами и обеднение этими металлами окисленных руд. Известно также, что в кислой среде при очень высоких значениях Eh (от 0,74 до 1,02 в) происходит окисление Se^0 в SeO_2^{2+} и Te^0 в TeO_3^{2+} . Роль бактерий в этих процессах изучена слабо. Бреннер (цит. по: Waksman, 1939) изолировал из почвы организм *Micrococcus celepicus*, который способен окислять селениды и использовать полученную при этом энергию.

Липман и Ваксман (Lipman, Waksman, 1923) также указывают, что некоторые автотрофные бактерии способны получать энергию при окислении селена в селеновую кислоту. Многие виды микроорганизмов способны восстанавливать соли селена и теллура до элементарного состояния (Ковальский и др., 1968). Возможно, что они способствуют концентрации этих элементов в рудных месторождениях. Однако эти данные требуют дальнейшего подтверждения.

Выщелачивание висмута из медистых руд, содержащих его около 0,4%, с помощью бактерий проводилось японскими исследователями (Mizoguchi et al., 1970). Бактерии окисляли сульфидную серу и закисное железо. Под действием серной кислоты и сернокислого окисного железа $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$ около 80% висмута выщелачивалось из руд. Содержание висмута в растворе при повторной обработке медистой руды серной кислотой было 5 г/л.

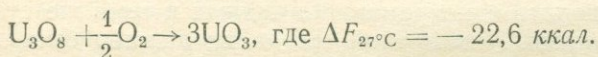
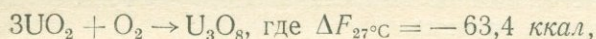
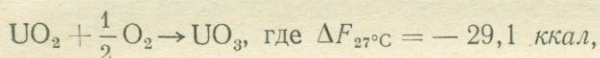
Роль микроорганизмов в выщелачивании урана в настоящее время изучена достаточно хорошо. Эти данные суммированы в обзоре Кузнецовой (1970).

Сущность выщелачивания урана с использованием бактерий *Th. ferrooxidans* заключается в том, что бактерии окисляют сульфидные минералы с образованием серной кислоты и сульфата окиси железа, которые растворяют и окисляют восстановленные соединения урана. Растворенный уран смывают водой и извлекают затем из раствора ионнообменным способом.

Так, опыты по извлечению U_3O_8 при внесении в руду 3% пирита и 1,5% сернокислого закисного железа, показали, что за 18 недель извлечение урана превысило 90%. Эти количества пирита и сернокислого закисного железа давали наибольший эффект. В опыте без добавок пирита или сернокислого закисного железа выщелачивания урана практически не происходило, несмотря на наличие в руде тионовых бактерий (Miller et al., 1963).

Возможно, что бактерии могут непосредственно окислять восстановленные соединения урана, так как этот процесс является экзотермическим.

Заик (Zajic, 1969) приводит следующие данные.



Хотя выход энергии сравнительно небольшой, но он достаточен, чтобы поддерживать автотрофный рост. Однако энзимы, катализирующие эти реакции, еще не были описаны. Следовательно, роль микроорганизмов в выщелачивании редких металлов главным образом косвенна и зависит по крайней мере от двух факторов: 1) скорости бактериального окисления сульфидных минералов, 2) миграционной способности редкого металла и отсутствия осадителей, таких как окисное железо, кальций и др.

Таким образом, из вышеприведенных данных видно, что устойчивость сульфидных минералов как к бактериальному, так и химическому окислению неодинакова. К сравнительно легко окисляемым бактериями сульфидным минералам можно отнести: борнит, халькозин, тетраэдрит, марматит, миллерит, галенит, арсенопирит и пирит. К более трудноокисляемым относятся ковеллин, сфалерит, халькопирит и молибденит.

Сернокислое окисное железо сравнительно легко взаимодействует с халькозином, галенитом, борнитом, арсенопиритом, пиритом и более трудно с халькопиритом и некоторыми другими сульфидными минералами. Поэтому при бактериальном выщелачивании металлов из руд, содержащих легко окисляемые минералы, сернокислое окисное железо может играть важную

роль как окислитель. Регенерация его может быть легко осуществлена *Th. ferrooxidans*. Так как скорость бактериального окисления двухвалентного железа ниже, чем скорость восстановления трехвалентного в реакции с этими сульфидами, процесс регенерации $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ следует вести в отдельном цикле. В случае халькопирита регенерацию $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ можно вести и в присутствии минерала, так как скорость окисления закисного железа *Th. ferrooxidans* превышает скорость восстановления окисного железа.

Составить себе четкое представление об относительной скорости бактериального и химического окисления сульфидов в настоящее время затруднительно.

Несмотря на наличие большого количества данных, приведенных выше, многие из них получены в разных условиях и поэтому не сопоставимы.

Большое значение для выяснения данного вопроса имеют активность бактерий, чистота используемых минералов и условия постановки опытов. Вопрос о роли бактерий или химических агентов в окислении сульфидных минералов очень важен и требует своего разрешения.

При постановке опытов по выяснению этого вопроса следует учитывать следующие условия.

1. Опыты проводить одновременно с одними и теми же сульфидными минералами. Химический состав их должен быть известен.

2. В опыте должна быть использована активная культура *Th. ferrooxidans*, причем необходимо учитывать тот факт, что культура может быть достаточно эффективна в окислении одного сульфидного минерала и мало эффективна в отношении другого. Поэтому предварительно культуру нужно выращивать на средах, содержащих тот же сульфидный минерал.

3. Опыты проводить в условиях, наиболее благоприятных как для бактериального, так и для химического процессов окисления. Большое значение здесь имеют скорость аэрации, размеры частиц минералов, соотношение между твердой и жидкой фазой, температура, форма и размеры реакционного сосуда и др.

Роль микроорганизмов в гидрометаллургии золота

Золото находится в породах в самородном состоянии или в виде вкраплений в сульфидные минералы, такие как пирит, арсенопирит, халькопирит, пирротин, галенит и сфалерит.

Самородное золото является одним из наиболее трудно растворимых элементов. Оно взаимодействует только с такими реагентами, как цианистые соли, гидросульфиды щелочных металлов, царская водка, ртуть, йод, бром, хлор, минеральные кислоты в присутствии окислителей и др.

Так, например, золото растворяется сернокислым окисным железом в присутствии серной кислоты и переходит в раствор в виде комплексного соединения, а также хлорным железом в присутствии соляной кислоты. Растворение золота цианистым калием используется в золотодобывающей практике для извлечения золота из сульфидов и руд. Тем не менее в природе золото, несмотря на свою устойчивость, растворяется и мигрирует. Миграция его происходит в основном в виде истинных растворов. В зоне окисления сульфидных месторождений, где происходит бактериальное и химическое окисление сульфидных минералов, золото высвобождается из кристаллических решёток и переходит в раствор. Переход его в раствор связан, вероятно, с образованием тиосульфатных комплексных соединений $\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$ (Тюрин, Каковский, 1960). Это предположение подтверждается и экспериментами Листовой и др. (1966). Эти авторы исследовали поведение золота в растворах, образующихся при окислении сульфидов цинка, свинца и железа. В растворах при окислении сульфидов было установлено, помимо сульфатов, наличие полиитионатов и тиосульфат-ионов. Как известно, образование их происходит в слабощелочной среде. Когда реакцию среды смещали в слабощелочную сторону путем добавления карбонатов, т. е. когда происходило образование полиитионатов и других промежуточных продуктов окисления сульфидов, растворимость золота возрастала в четыре раза по сравнению с контролем.

По данным Голевой и др. (1970), в слабокислых и щелочных ореольных водах сульфидных месторождений с pH 6,5 и Eh + +0,5 в при наличии тиосульфатов образуются весьма устойчивые тиосульфатные комплексные соединения золота $[\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}]$.

Влияние полиитионатов на миграцию золота изучали Листова и др. (1966). Имеются данные о выщелачивании самородного золота под действием гуминовых кислот (Freise, 1931).

Известно также, что в тех случаях, когда россыпь находится в непосредственной близости к почве, золото начинает мигрировать под воздействием веществ, выделяемых растениями и микроорганизмами (Звягинцев, 1941).

Бактериальное выщелачивание самородного золота

Роль микроорганизмов в выщелачивании золота в настоящее время особенно успешно изучается в Дакаре (Африке) Паре с сотрудниками. Данные этих исследований приведены в ряде статей (Pares, 1964a, b; Pares, Super, 1964; Pares, Giraud, 1964; Pares, Martinet, 1965) и обобщены Паре в докладе, прочитанном в 1968 г. в Ленинграде на VIII Международном конгрессе по обогащению полезных ископаемых. В 1965 г. бактериальный метод извлечения золота был запатентован (Pares, Martinet, 1965).

Было показано, что широко распространенные в почве и водах гетеротрофные бактерии *Bacillus brevis*, *Bac. circulans*, *Bac. cereus*, *Bac. firmus*, *Bac. licheniformis*, *Bac. pumilus*, *Bac. subtilis*, *Bac. megaterium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Aeromonas salmonicida* и др. хотя и растворяли золото, но процесс шел очень слабо. Максимальные количества золота, перешедшие в раствор, не превышали 1,5 мг/л. Малоэффективными в растворении золота оказались также анаэробы *Clostridium regulare* и *Cl. irregularis*, а также *Nitrosomonas* и *Nitrobacter*. Бактерии *Thiobacillus thioparus*, *Th. concretivorus* и *Th. ferrooxidans* оказались совершенно неактивными. Наиболее активными в выщелачивании золота были новые организмы, выделенные из золотоносных копей Ити (Африка).

Опыты по выщелачиванию золотоносных латеритов с использованием этих бактерий проводились в колбах Эрленмейера объемом 1,5 л, содержащих 800 мл среды PO1 (пептон, оксалат натрия) (среда № 35, глава 9).

Содержание золота в латеритах колебалось от 6,6 до 19,8 г/т. Латериты и питательная среда стерилизовались отдельно. В опыте использовали 4-суточную культуру. Анализы растворов проводили по истечении 21 суток два раза в неделю. Для анализов отбирали пробы по 20 мл. После взятия 20 проб (400 мл) в колбы добавляли 100 мл культуры в возрасте 4 суток. Отбор проб возобновлялся спустя 8 суток. Золото из раствора извлекалось путем осаждения активированным углем, который затем сжигали. Результаты опытов показали, что максимальное извлечение золота за 283 суток составило 82%.

На основании проведенных опытов Паре с сотрудниками пришел к следующим выводам:

- 1) разные виды бактерий действуют избирательно на разные сорта латерита;
- 2) выбор питательной среды зависит от вида бактерий и типа выщелачиваемой руды;
- 3) процент экстракции может быть повышен, но для этого требуется слишком большое время выщелачивания.

Паре с сотрудниками выделили из вод и почвы золотых приисков Ити другие типы бактерий, которые представляли новую разновидность и были отнесены к роду *Aeromonas*.

Для их культивирования использовались среды: PW (№ 34), рыбная мука и арахисовый жмых. Эти бактерии были эффективны как для растворения чистого рудного золота, так и для выщелачивания золота из золотоносных руд. Содержание золота в растворе превышало 10 мг/л.

Процесс растворения золота при использовании любого вида бактерий проходит следующие фазы:

- 1) скрытая фаза (около трех недель);

2) фаза растворения. Возрастает неравномерно и иногда с повторными выделениями осадков. Максимум растворения золота наблюдается между 2,5 и 3 месяцами. Растворимость держится на высоком уровне (около 10 мг/л) от шести месяцев до одного года, после чего наступает явно выраженное снижение ее. Исходный рН среды — 6,8—7,1. Во время растворения золота среда имеет щелочную реакцию — рН 8 и 8,5.

Наилучшие результаты по извлечению золота получаются, когда среда имеет начальное значение рН 6,8 или 8,0. Скорость растворения золота снижается как при продувании среды воздухом, так и при механическом ее перемешивании. Возраст культуры и количество посевного материала (от 0,5 до 10 мл) не оказывали влияния на эффективность выщелачивания золота.

Полупроизводственные испытания по выщелачиванию золота проводились следующим образом. Были использованы большие баки из пластика, снабженные в нижней части краном. На дно бака был уложен слой стеклянной ваты, достигающий по высоте уровня крана. В бак помещали 10 кг латерита и заливали 33 л питательной среды. Раствор ежедневно анализировали. Растворение золота шло очень быстро. Уже в первый день содержание золота составляло 1,0—1,5 мг/л. В течение первых восьми дней экстракция держится на этом уровне, а затем резко падает. Связано это с тем, что активные бактерии вытеснялись обычными микроорганизмами, так как опыт ставился в нестерильных условиях.

Паре считает, что проблему выщелачивания золота можно решать и другими методами, в частности, путем выяснения природы химического соединения, которое переводит золото в раствор. Возможно, что с помощью этого комплексообразователя можно будет выщелачивать золото из руды. Отмечается также и то, что золото растворяется в средах, содержащих неживые бактерии, 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.

Проводятся биохимические исследования по выяснению механизма бактериального выщелачивания золота, в результате которых выделен и очищен золотосодержащий комплекс. Природа его изучается.

Бактериальное выщелачивание золота, вкрапленного в сульфидные минералы

В концентратах золото находится в виде тонких вкраплений в сульфидные минералы. Чтобы извлечь его путем цианирования, необходимо разрушить кристаллические решетки сульфидов. В практике это достигается обычно путем обжига. Однако после

обжига значительная часть золота становится трудно извлекаемой. Кроме того, присутствие в концентратах сульфидов мышьяка или сурьмы затрудняет их переработку существующими методами.

Тионовые бактерии, как известно, энергично окисляют сульфидные минералы. Мышьяк, цинк и другие металлы при этом переходят в раствор и могут быть удалены из концентратов.

Таким образом, роль бактерий в этом процессе сводится к окислению сульфидных минералов как носителей золота. В дальнейшем золото, находящееся в пульпе в свободном состоянии, может быть извлечено методом цианирования. Опыты, проведенные Юдиной и Паниным с арсенопиритным концентратом, показали, что предварительное бактериальное выщелачивание мышьяка из этого концентрата обеспечивает при последующем цианировании извлечение золота на 83—93%. Без бактериальной обработки концентрата цианируется только 15—18% золота, а после обжига — 70%. Как показали Ляликова и Мокеичева (1969), при бактериальном окислении сульфидных минералов часть золота переходит в раствор. Так, при бактериальном окислении галенита и пирита в раствор перешло примерно в три раза больше золота, чем в контроле, где бактерии отсутствовали.

Таким образом, принципиальная схема бактериального выщелачивания золота из сульфидных концентратов включает:

- 1) предварительное окисление сульфидных минералов и
- 2) растворение высвободившегося золота путем цианирования.

Роль микроорганизмов в осаждении золота

Известно, что растения, водоросли и другие живые организмы способны накапливать цветные и редкие металлы. Имеются также сведения о том, что в Японии одна из разновидностей оболочковых осцидий применяется для промышленного извлечения ванадия из морской воды (Черняк, Минеев). После накопления водорослями металла из воды, их сжигают и получают богатые ванадиевые концентраты. Черняк и Минеев в Иркутском государственном научно-исследовательском институте редких и цветных металлов изучали роль плесневых грибов в осаждении золота из растворов.

Так, при добавлении грибного мицелия *Aspergillus oryzae* к золотосодержащему раствору за 10 суток около 45% золота было сорбировано грибной плёнкой и около 53% выпало в виде коллоидной формы на дно и стенки колбы. Общее количество осажденного золота из раствора, содержащего его 1,11 г/л, составило около 98%. Мицелий гриба, используемый для осаждения золота, предварительно выращивался на сусле, отжимался и затем добавлялся к золотосодержащему раствору. Выращивание

грибов в среде, содержащей золото, затрудняется тем, что оно оказывает на них токсическое действие.

Таким образом, эти, хотя и немногочисленные, сведения указывают на необходимость более глубокого исследования возможности применения грибов и, возможно, других микроорганизмов для осаждения золота из растворов.

Роль микроорганизмов в выщелачивании марганца из руд

Изучение возможности применения бактерий для выщелачивания марганца из бедных окисленных и карбонатных руд проводили в Горном бюро США (Perkins, Novielli, 1958; Mining Journal, 1958).

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 марганца, а в контроле марганец не был обнаружен.

Из почвы, застойной воды, штабелей влажной марганцевой руды и отвалов, содержащих отходы фабрики, было выделено 15 культур микроорганизмов. Но только 4 из них выщелачивали марганец из руд.

В дальнейшем опыты по выщелачиванию марганца из руд проводили с использованием этих культур. В опытах использовали бедную марганцевую руду месторождений Боулдер Сити (штат Невада; 3% Mn) и Куюна Рейндж (США; 5% Mn).

Опыты проводили следующим образом. 100 г руды заливали 1 л воды и добавляли четыре вышеупомянутые культуры микроорганизмов и 8 г питательного вещества (экстракт из говядины и пептон). По мере выщелачивания марганца раствор периодически сливали с таким расчетом, чтобы концентрация марганца не превышала 3 г/л. Руду опять заливали питательным раствором (стерильная вода, содержащая 0,8% экстракта говядины и пептон). рН среды 5—6 поддерживался добавлением ледяной уксусной кислоты. Опыты проводили при температуре 21—29°. За 60 дней из руды было выщелочено в среднем 97,5% марганца. В растворе контроля, т. е. варианта опыта без бактерий, обнаружены только следы марганца. Из раствора марганец выделяли путем осаждения его при подщелачивании среды щелочью при рН выше 7,0. Марганец осаждался также и в том случае, если в ходе его выщелачивания рН раствора прекращали поддерживать в пределах 5—6. В этом случае при развитии бакте-

рий рН раствора повышался, и осаждение марганца начиналось через 24 часа после прекращения регулировки активной реакции.

Использованные 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%.

Таким образом, эти данные показывают, что микроорганизмы могут быть использованы для выщелачивания марганца из окисленных и карбонатных руд. Предполагается также изучить возможность использования микроорганизмов для выщелачивания марганца из силикатных (родонитовых) руд и марганецсодержащих шлаков.

Другой способ выщелачивания марганца из руд в виде водного раствора сульфата марганца с использованием *Th. thiooxidans* для окисления серы до серной кислоты запатентован в Японии (Murgata, 1966, 1968; Imai et al., 1970). 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. Было показано, что двуокись марганца (MnO_2) почти не растворяется в слабых растворах серной кислоты.

Th. thiooxidans даже в присутствии серы настолько слабо разрушает двуокись марганца, что не может быть использован в промышленности для выщелачивания марганца.

Скорость выщелачивания марганца возрастала при добавлении сульфидов металлов. Добавление сфалерита (ZnS) увеличивало скорость выщелачивания марганца почти в 20 раз, пирита — в 10 раз и ковеллина — в 5 раз.

Добавление сероводорода к среде значительно увеличивало скорость выщелачивания марганца и способствовало развитию *Th. thiooxidans*.

Th. thiooxidans предварительно выращивали в среде с серой. После достижения концентрации серной кислоты 15 г/л добавляли 25 г двуокиси марганца и сероводород. Почти вся двуокись марганца была переведена в сульфат марганца в сравнительно короткий период. Сероводород добавляли периодически, когда рН выщелачивающего раствора резко снижался.

Следующий способ выщелачивания марганца основан на переводе двуокиси марганца 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 *Th. thiooxidans* MnS_2O_6 легко окисляется в $MnSO_4$. Так, при добавлении *Th. thiooxidans* в раствор с рН 3—4 при 30° и перемешивании за одни сутки большая часть MnS_2O_6 была превращена в $MnSO_4$.

В качестве примера можно привести следующий опыт японских авторов. Навеску измельченной руды в 50 г, содержащую MnO_2 (22%) и 200 мл воды, помещали в камеру, через которую в течение 20 мин. со дна камеры продували сернистый газ (100%-ной концентрации) со скоростью 300 мл/мин. При этом двуокись марганца почти полностью была переведена в дитионат марганца.

В другом сосуде выращивали *Th. thiooxidans* в течение 3 дней при 30° и перемешивании. 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 *Th. thiooxidans* и аэрировали в течение 20 мин. при 30°. MnS_2O_6 на 97% был превращен в $MnSO_4$.

Таким образом, как уже отмечалось выше, и серная кислота и *Th. thiooxidans* малоэффективны при разложении MnO_2 для того, чтобы их можно было использовать для выщелачивания марганца в промышленных масштабах.

Более перспективны, вероятно, другие способы выщелачивания марганца с использованием сульфидов, сероводорода и сернистого газа.

Механизм бактериального выщелачивания марганца из руд

Выщелачивание марганца микроорганизмами проходит двумя путями: 1) путем восстановления окисленных форм до закисных в восстановительной среде и 2) путем образования органических кислот, которые переводят марганец в раствор.

Так, *Vac. circulans* и *Vac. cereus* способны восстанавливать окисные соединения марганца в закисные. Последние легко растворимы в воде и выносятся из пород и т. д. Этот процесс естественного выщелачивания руд широко распространен в природе и протекает в восстановительной среде.

Механизм бактериального восстановления марганца, так же как и железа, в настоящее время еще окончательно не изучен.

Бромфильд (цит. по: Габе и др., 1964), работая с чистой культурой *Vac. circulans*, пришел к выводу, что железоредуцирующая деятельность бактерий имеет ферментативную основу, она зависит от наличия в их клетках глюкозной дегидрогеназы. Однако процесс восстановления Fe^{3+} может идти только в том случае, если железо находится в растворе. Растворимость же $Fe(OH)_3$ в водах при нейтральной или слабощелочной реакции крайне низкая. Поэтому большое значение для процесса восстановления железа имеют органические кислоты, выделяемые бактериями. С помощью этих кислот трехвалентное железо переходит в раствор в виде ионов или органо-минеральных комплексов.

Бромфильд полагает, что потребления молекулярного кислорода бактериями в окружающей среде совершенно недостаточно, чтобы вызвать редукцию Fe^{3+} , хотя бактерии в анаэробных условиях используют кислород окислов железа в процессе окисления органических веществ. Такой дегидрогеназный механизм восстановления железа Бромфильд нашел у *Vac. megaterium* и *Aerobacter aerogenes*, довольно слабо редуцирующих железо.

Оттоу (Ottow, 1968) допускает участие нитратредуктазы в процессе восстановления железа. Этот энзим имеется у *Vac. circulans*, *Vac. segeus* и некоторых других организмов. Окисное железо в данном случае рассматривается как конечный акцептор электронов для нитратредуктазы. Нитратредуктаза оказывается не специфической, так как не только нитраты и окисное железо, но также хлораты и перхлораты могут служить в качестве пригодных субстратов.

Второй путь участия бактерий в выщелачивании марганца и железа заключается в том, что различные гетеротрофные микроорганизмы образуют органические кислоты, которые способны растворять окислы металлов. Металлы в виде органо-минеральных комплексов или в ионной форме переходят в раствор и могут быть выщелочены из руд.

Из литературных данных видно, что миграция марганца в виде органических комплексов широко распространена в природе и играет важную роль в образовании марганцевых осадочных руд. Этот механизм выщелачивания марганца, вероятно, имел место и в вышеописанных опытах, когда в раствор с марганцевой рудой вносили такие органические вещества, как пептон или экстракт из говядины.

Механизм выщелачивания марганца в присутствии серы и *Th. thiooxidans* не совсем ясен. На первый взгляд казалось бы, что основную роль в этом процессе играет серная кислота, которая выделяется в среду при бактериальном окислении серы или сульфидов. На самом же деле этот процесс, вероятно, более сложный.

В этом отношении большой интерес представляет работа Вавра и Фредерика (Vavra, Frederick, 1952), которые показали, что кислотность, образуемая *Th. thiooxidans*, не является единственным фактором перевода марганца в раствор. Ибо без бактерий и серы при такой же кислотности марганца переходило в раствор меньше. Авторы допускают, что *Th. thiooxidans* использует двуокись марганца в качестве акцептора электрона. Для восстановления марганца не требовалось прямого контакта между бактериями и двуокисью марганца. В коллодиевом мешке двуокись марганца также восстанавливалась. Допускается, что восстановление может осуществляться либо за счет выделяемых в среду веществ, либо за счет обмена электронов через мембрану. В качестве первых веществ могли бы служить органические соеди-

нения, содержащие сульфгидрильные группы. Последние, как это видно из последующего раздела, участвуют в окислении серы.

Можно допустить и другой механизм выщелачивания, не связанный с восстановлением двуокиси марганца. Как известно, *Th. thiooxidans* при окислении серы выделяет в среду органические вещества (липиды, органические кислоты). Некоторые из них, как, например, органические кислоты, могут растворять двуокись марганца, образуя органо-минеральные комплексы, и таким образом ускорять выщелачивание марганца.

В японском патенте механизм процессов выщелачивания марганца не рассматривается. Можно предполагать, что в присутствии пирита и сфалерита и других сульфидов двуокись марганца выступает как окислитель. В результате марганец восстанавливается до двухвалентного и в присутствии серной кислоты образуется сульфат марганца. Процесс этот будет идти тем быстрее, чем более электроотрицательным является сульфидный минерал.

Аналогичный механизм выщелачивания марганца и в присутствии сероводорода. Он восстанавливает четырехвалентный марганец в двухвалентный ($MnSO_4$). При этом, вероятно, образуется также коллоидная сера, которая легко окисляется *Th. thiooxidans* до серной кислоты.

Сернистый газ восстанавливает MnO_2 до MnS_2O_6 . Этот процесс чисто химический. Дитионат марганца, по данным японских исследователей, *Th. thiooxidans* окисляет до $MnSO_4$.

Механизм бактериального окисления сульфидных минералов, серы и закисного железа

Механизм окисления сульфидов и серы

Окисление восстановительных соединений серы и железа тионовыми бактериями весьма сложный процесс и далеко не изученный. Этот процесс многоступенчатый, он включает в себя разрушение кристаллической решетки сульфидного минерала или молекулы серы, проникновение окисляемых субстратов в клетку и дальше сам процесс их окисления, который происходит под воздействием различных ферментных систем, участвующих в переносе электронов от субстрата на кислород.

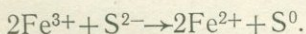
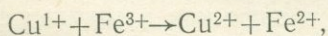
Бактериальное окисление железа и серы как в отдельности, так и в совместном присутствии, а также сульфидных минералов, содержащих серу и железо (халькопирит и пирит), изучали Сильверман, Люндгрэн (Silverman, Lundgren, 1956b), Унц, Люндгрэн (Unz, Lundgren, 1961), Ландесмен и Данкан с сотрудниками (Landesmen et al., 1966, Duncan et al., 1967), Бек и Броун (Beck, Brown, 1968).

Сильверман и Люндгрэн (Silverman, Lundgren, 1959b) сообщили, что *Th. ferrooxidans* окисляет серу с низкой скоростью. Унц и Люндгрэн (Unz, Lundgren, 1961) показали, что *Th. ferrooxidans* и *F. ferrooxidans* при развитии на субстрате $S^0 + Fe^{2+}$ вначале окисляли закисное железо, затем серу. При использовании манометрического метода Бек (Beck, 1960) также показал, что железо в присутствии серы окислялось бактериями раньше.

Данные Ландесмена и др., полученные с применением манометрических методов, показали, что скорость дыхания на субстрате $S^0 + FeSO_4$ равняется сумме скоростей окисления этих двух субстратов, используемых отдельно. Так, Q_{O_2} (N) при использовании суспензии клеток (0,37 мг азота, pH 2,0 и t° 40) было следующим: при окислении Fe^{2+} — 3985; S^0 — 688 и $Fe^{2+} + S^0$ — 4690.

Таким образом, было показано, что *Th. ferrooxidans* способен окислять как железо, так и серу при одновременном их присутствии в среде. Бек и Броуном (Beck, Brown, 1968) было показано, что и при окислении пирита и халькопирита одновременно окисляется как железо, так и сульфидная сера этих минералов.

Относительная скорость окисления этих субстратов зависит от того, на каком субстрате предварительно выращивались бактерии. Если бактерии предварительно выращивались на халькопирите, то при его окислении 68—75% кислорода потреблялось на окисление сульфидной серы и 25—30% на окисление железа. Если же клетки предварительно выращивали на закисном железе, а затем использовали их для окисления халькопирита, то 80—90% кислорода потреблялось на окисление железа. Такое поведение *Th. ferrooxidans* при окислении халькопирита не совсем ясно, если учесть кристаллохимические особенности этого минерала. Структура халькопирита, как это видно из литературы по геохимии (Победимская, Белов, 1966; Бокий и др., 1964, и др.), следующая: $Cu^{1+} Fe^{3+} S_2^{2-}$ ($CuFeS_2$), т. е. железо считается трехвалентным. Можно полагать, что бактерии разрушают кристаллическую решётку халькопирита, окисляя ион серы. Образование же двухвалентного железа, которое наблюдается в опытах при окислении халькопирита химическим путем, связано, вероятно, с взаимодействием высвободившегося иона трехвалентного железа с одновалентной медью и сульфидным ионом:



Двухвалентное железо дальше опять окисляется *Th. ferrooxidans* до сернокислого окисного железа.

В пирите (FeS_2) железо двухвалентное. Показано, что клетки, выросшие на железе, быстро окисляли пирит. Наибольшая

скорость потребления кислорода на пирите была связана с окислением железа, тогда как только 20—30% от общего количества кислорода расходовалось на окисление сульфидной серы. В случае сульфидов, не содержащих железа, как, например, ковеллин (CuS), халькозин (Cu_2S), миллерит (NiS) и др., окислению подвергается сульфидная сера.

Сзолноки и Богнер (Szolnoki, Bognar, 1964) также отмечают, что предварительное выращивание *Th. ferrooxidans* на сульфидных минералах ускоряет процесс их окисления.

Рассмотрение выше приведенных данных позволяет говорить об адаптивном характере окисления того или иного субстрата.

Об этом свидетельствуют и данные Ландесмена и др. (Landesman et al., 1966). Для максимальной скорости окисления закисного железа предварительный рост на этом субстрате был необходим. Так, клетки, предварительно выращенные на закисном железе, окисляли этот субстрат со скоростью примерно в 50 раз большей, чем клетки, выращенные на сере, и примерно в 10 раз большей, чем клетки, росшие на халькопирите.

Кроме того, клетки, растущие на закисном железе, окисляли халькопирит в 2,5 раза быстрее, чем клетки, предварительно выращенные на этом минерале, и в 30 раз быстрее клеток, выращенных на сере. Для окисления серы *Th. ferrooxidans* не требовалась предварительная его адаптация к этому субстрату.

Такое поведение *Th. ferrooxidans* на различных субстратах нельзя, видимо, объяснить наличием индуцируемых ферментов. У различных хемоавтотрофов присутствуют одни и те же цитохромы, хотя и в разных количествах. То, что автотрофные бактерии, использующие такие субстраты, как железо или серу, содержат неодинаковое количество цитохромов, представляет большой интерес. Так, Л. А. Лисенкова (1967) показала, что *Th. ferrooxidans*, окисляющий закисное железо, значительно богаче цитохромами, чем *Th. thiooxidans*, окисляющий серу. Возможно, что при развитии на разных субстратах (Fe^{2+} , S^0 и др.) количество цитохромов в клетках *Th. ferrooxidans* изменяется, а именно уменьшается на сере и возрастает при развитии на железе. Поэтому не требуется предварительной адаптации *Th. ferrooxidans* к сере после предварительного роста на железе (цитохромов достаточно) и, наоборот, после роста на сере (цитохромов недостаточно) для максимального окисления железа требуется предварительный рост на этом субстрате.

Рассмотрим окисляемые субстраты. Так, при окислении одного атома закисного железа до трехвалентного состояния высвобождается один электрон, в то время как каждый атом серы при окислении до сульфата высвобождает шесть электронов. При окислении одного грамма железа и серы выделяется соответственно 11 и 118 ккал, т. е. при окислении серы выделяется значительно больше энергии. Следовательно, чтобы обеспечить

себя энергией, организму требуется окислять большие количества закисного железа. Лисенковой показано, что интенсивность дыхания *Th. ferrooxidans* на железе примерно в 10 раз выше, чем у *Th. thiooxidans* на сере, что подтверждает вышесказанное положение.

Важным является вопрос о механизме начального воздействия бактерий на сульфидные минералы или серу. Этот вопрос разбирается в обзоре Трудинжера (Trudinger, 1967) и ряде других работ. Существует две точки зрения на этот счет.

1. Сера и сульфидные минералы взаимодействуют с химическими или энзиматическими агентами, выделяемыми бактериями в среду, с образованием растворимых соединений.

2. Реакция между окисляемым твердым субстратом и клеткой осуществляется на клеточной поверхности.

Большинство данных подтверждает вторую точку зрения. Так, Фоглер и Умбрейт показали, что если разделить клетки и серу полупроницаемой мембраной, то окисление серы *Th. thiooxidans* прекращается. Таким образом, растворения серы веществами низкого молекулярного веса, выделяемыми бактериями, вероятно, не происходит.

Сузуки (Suzuki, 1965a) показал, что окисление гидрофильной серы, хорошо отмытой бактериальной суспензией, происходило с линейной скоростью без лаг-фазы. Это подвергает сомнению участие внеклеточных энзимов в окислении серы.

Умбрейт (Umbreit, 1951) и более обстоятельно Кук (Cook, 1964) показали также, что встряхивание культур на качалке снижает скорость бактериального окисления серы. Кук показал, что ингибирование окисления серы наблюдалось в том случае, если культуры помещались на качалку сразу после засева. Однако, если в среду добавлялись фосфолипиды и другие смачивающие агенты или, если встряхивание на качалках начиналось спустя три дня после засева, т. е. после лаг-фазы, то подавления окисления серы не наблюдалось. Следовательно, эти вещества образуются бактериями во время инкубации в стационарных условиях. Кук предполагает, что смачивающие агенты способствуют контакту между бактериями и серой.

О том, что бактериям необходим контакт с серой для ее окисления, свидетельствуют данные Ваксмана (Waksman, 1932), Кука (Cook, 1964) и др.

Опыты Кука с S^{14} показали, что имеет место непосредственная связь бактерий с серой. Ваксман также наблюдал, что гранулы серы из культуры *Th. thiooxidans* окружены бактериями. Опыты, проведенные Мак Гораном и др. (Mc Goran et al., 1969) с *Th. ferrooxidans*, также показывают, что при росте этого организма на сере или халькопирите большая часть клеток связана с минералами. Шеффер и др. (Schaeffer et al., 1963) исследовали отпечатки кристаллов серы из культуры *Th. thiooxidans* под электронным микроскопом и обнаружили, что поверхность кри-

сталлов эродирована. Это показывает, что контакт бактерий и кристаллов серы был продолжительным.

Некоторые исследователи, основываясь на данных анализов органических веществ (липидов и др.) в среде, высказывают предположение о возможном их участии в окислении серы за пределами клетки. Так, Джонс и Старки (Jones, Starkey, 1961) обнаружили, что сера, вначале находящаяся на поверхности среды, при развитии *Th. thiooxidans* смачивается и оседает на дно колбы. Измерение поверхностного натяжения среды показало, что при развитии бактерий оно снизилось с 72 до 49 *дин/см*. Следовательно, бактерии во время роста и окисления серы выделяют поверхностно-активные вещества. Эти вещества были выделены Шеффером, Умбрейтом (Shaeffer, Umbreit, 1963), Джонсом и Бенсоном (Jones, Benson, 1965) и идентифицированы как фосфолипиды.

По данным Джонсона и Бенсона, основным фосфолипидом, выделяемым в среду, является фосфатидилглицерин. Сера, обработанная фосфолипидом, выделенным из среды после развития бактерий, окислялась значительно быстрее, чем необработанная. Канадские ученые (Trussell et al., 1964; Duncan et al., 1966; Duncan, Trussell, 1964) показали, что некоторые поверхностно-активные вещества, особенно твин 20, ускоряют процесс окисления сульфидных минералов *Th. ferrooxidans*. Добавление этих веществ действует особенно в период лаг-фазы, резко сокращая её. В дальнейшем бактерии сами синтезируют поверхностно-активные вещества.

Возможно, что выделяемые в среду органические вещества действительно играют определенную роль в окислении сульфидных минералов и серы, в частности в образовании комплексов и в транспорте окисляемых субстратов в клетку.

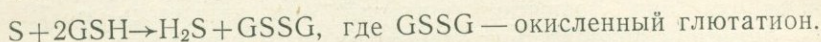
Таким образом, вопрос о механизме воздействия бактерий на серу остается решенным неполностью. При выяснении этого вопроса, как нам кажется, следует принять в качестве рабочей гипотезы то, что при бактериальном окислении серы и сульфидных минералов первичное их изменение происходит на поверхности клетки, т. е. на клеточной стенке. Какие реакции происходят на клеточной поверхности и в каком виде окисляемые субстраты (S или сульфиды) проникают в клетку, еще не известно. Каплан и Риттенберг (Kaplan, Rittenberg, 1962) показали, что при бактериальном окислении серы фракционирование стабильных изотопов серы *Th. concretivorus* не имело места. Это указывает на то, что через мембрану бактериальной клетки транспортируются группы атомов серы. Каплан и Риттенберг на основании этих данных пришли к выводу, что сера транспортируется в клетку без изменения валентности.

Вишняк и Сантер (Vishniac, Santer, 1957) высказали предположение, что на бактериальной клеточной мембране могут

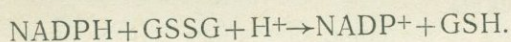
функционировать при окислении серы тиоловые группы. Большой интерес, на наш взгляд, представляют слизи, выделяемые бактериями и образующие своеобразную микрокапсулу.

Дальнейший механизм окисления серы или сульфидов также изучен недостаточно полно. На этот счет существуют только гипотезы.

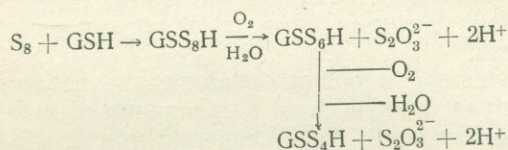
Сузуки и Веркман (Suzuki, Werkman, 1959) предполагают, что сера перед окислением восстанавливается до сульфида с помощью восстановленного глутатиона (GSH) по схеме:



Регенерация глутатиона происходит с помощью энзима — глутатионредуктазы, который был обнаружен в клетках *Th. thiooxidans*.



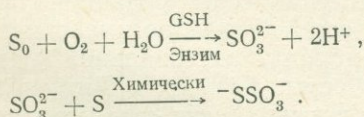
Позже Сузуки (Suzuki, 1965a) выделил экстракт из клеток *Th. thiooxidans*, который окислял серу в присутствии глутатиона. Когда элементарная сера была в реакционной смеси с GSH, образовывались полисульфиды. Сузуки предположил, что глутатион-полисульфиды ($G-S-SnH$) являются действительными веществами сероокисляющей системы, образующимися по гипотетической схеме:



и т. д.

Опыты с O_2^{18} и экстрактами *Th. thiooxidans* показали, что меченый кислород, хотя и в малых количествах, но включался при окислении серы в тиосульфат (Suzuki, 1965b). Это наводит на мысль, что сероокисляющим энзимом является оксигеназа.

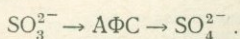
Сузуки и Сильвер (цит. по: Trudinger, 1967) показали, что начальным продуктом в процессе окисления серы, катализируемого GSH, является сульфит. Тиосульфат же, который принимали за промежуточный продукт в окислении серы, образуется путем конденсации серы с сульфитом



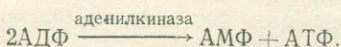
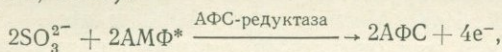
Энзиматическая конденсация S^0 и SO_3^{2-} *Th. thiooxidans* также известна (Trudinger, 1967). Так как сульфит легко окисляется тионовыми бактериями, то его превращение в тиосульфат

скорее можно считать вторичной реакцией, чем обязательной ступенью в окислении серы до сульфата.

По схеме, приведенной Трудингером (Trudinger, 1967) в своем обзоре, дальнейшее окисление SO_3^{2-} до SO_4^{2-} осуществляется через АФС, который является предшественником сульфатов



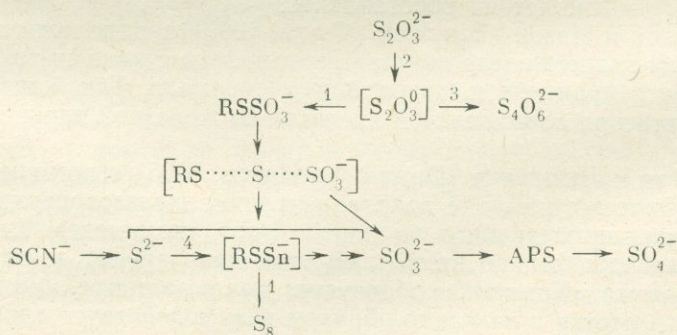
Таким образом, в этом процессе окисления SO_3^{2-} участвуют фосфорные соединения. Процесс этот идет, вероятно, по схеме (Рецк, 1962):



* АФС — аденозинфосфосульфат; АДФ — аденозиндифосфат; АТФ — аденозинтрифосфат; АМФ — аденозинмонофосфат.

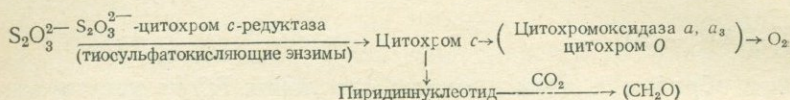
Следовательно, в процесс окисления SO_3^{2-} происходит запасание энергии в виде АТФ.

Механизм окисления серы и сульфидных минералов *Th. ferrooxidans* практически не изучен. Ландесмен и др. (Landesman et al., 1966) показали, что при окислении *Th. ferrooxidans* тиосульфата ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) накапливались политионаты. Однако при окислении серы образования политионатов не происходило. Промежуточные продукты при бактериальном окислении сульфидных минералов не изучены вовсе. Можно только предполагать, что окисление восстановленных соединений серы *Th. ferrooxidans* идет по тем же гипотетическим схемам, которые приводятся для *Th. thiooxidans* и других тионовых бактерий. Этот гипотетический путь серы в метаболизме ее тионовыми бактериями, взятый из обзора Трудингера (Trudinger, 1967), следующий, где: 1— RS^- ; 2— 2e^- ; 3— $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$; 4— RSSR



Окисление серных соединений, как видно из приведенных схем, происходит в несколько этапов. В окислении участвуют различные ферментные системы, которые осуществляют перенос электронов от субстрата на кислород по схеме

Схема 1



Цитохромные системы обнаружены у всех тионовых бактерий (Aubert et al., 1958; Beck, 1960; Vernon et al., 1960, и др.).

Энергия, выделяющаяся при окислении серных соединений, запасается в макроэргической связи АТФ. Эта энергия расходуется на обратный перенос электронов для восстановления пиридиннуклеотида, который необходим для фиксации CO_2 и на другие жизненные функции.

Механизм бактериального окисления железа

Двухвалентное железо для *Th. ferrooxidans* является наиболее легко используемым источником энергии.

Механизм его окисления является сложным процессом и еще неполностью изученным.

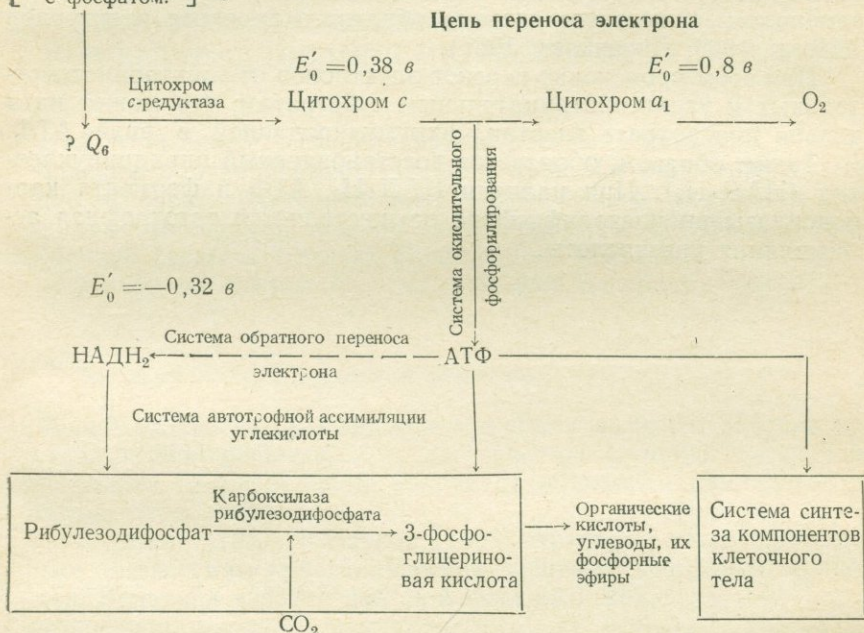
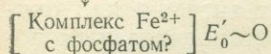
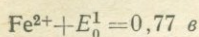
Ниже приводится схема бактериального окисления Fe^{2+} и фиксации углекислоты *Th. ferrooxidans* (Ляликова, 1968). Из схемы видно, что в переносе электронов от субстрата (Fe^{2+}) на кислород принимают участие различные цитохромы. Каждый цитохром характеризуется определенным окислительно-восстановительным потенциалом. Перенос электронов осуществляется от фермента с более отрицательным потенциалом к ферменту с более положительным потенциалом и в конце концов на кислород, который является конечным акцептором электронов. Однако окисляемый субстрат (Fe^{2+}) имеет окислительно-восстановительный потенциал более высокий, чем потенциал цитохромов и поэтому не может их восстановить.

Блейлок и Нэзон (Blaylock, Nason, 1963) предположили, что на первом этапе железо вступает в комплекс с какими-то веществами, что приводит к понижению потенциала. Так, например, при соединении со щавелевой кислотой E_0 железной пары падает до 0.

Дьюган и Люндгрэн (Dugan, Lundgren, 1965) с помощью полярографического метода показали наличие железосодержащего комплекса, включающего кислород. Этот «комплекс» был насыщен кислородом, но не окислен, так как перенос электронов не имел места. «Комплекс» образуется или в растворе, или на поверхности клетки и каким-то образом взаимодействует с железом.

оксидазой (или оксигеназой), давая в результате высвобождение электрона

Схема 2



Гипотезу об образовании железосодержащего комплекса высказывает также Гундерсен (Gundersen, 1968). Дальше образовавшийся железосодержащий комплекс поступает в клетку, где происходит окисление закисного железа.

Как предполагают Дьюган и Люндгрэн (1965), в начальное звено переноса электрона между железом и клеткой включаются либо сульфат, либо флавопротеин. Дальше электрон переносится в клетку с помощью электрон-транспортной системы, включающей коэнзим Q_6 , цитохром c и цитохром a . Конечным акцептором электрона является кислород.

Процесс переноса электронов от более электронотрицательных субстратов к более электронположительным сопровождается высвобождением энергии, которая аккумулируется в макроэрги-

ческих сложноэфирных фосфатных связях — АТФ. Эта энергия используется для фиксации углекислоты в процессе хемосинтеза и на другие жизненноважные процессы.

Кроме АТФ, для фиксации CO_2 нужен еще восстановленный пиридинуклеотид ($\text{НАД}\cdot\text{H}_2$). Потенциал пары $\text{НАД}\rightarrow\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ низок и равен примерно — 0,32 в, так что железо, потенциал которого достаточно высок, не может его восстановить.

Поэтому у *Th. ferrooxidans*, как и у *Th. thiooxidans* (см. выше) и других хемоавтотрофов, которые получают энергию при окислении веществ с высоким окислительно-восстановительным потенциалом, существует система обратного переноса электронов (Aleem, 1966; Лисенкова, 1967).

При этом происходит перенос электронов от электронположительных к электронотрицательным субстратам, что может идти только при затрате энергии, аккумулированной в виде АТФ.

Таким образом, образуется восстановленный пиридиннуклеотид ($\text{НАД}\cdot\text{H}_2$). При наличии $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$, АТФ и фермента карбоксилазы рибулезодифосфата осуществляется автотрофная ассимиляция углекислоты.

ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ПРОЦЕССЫ ХИМИЧЕСКОГО И БАКТЕРИАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ СУЛЬФИДНЫХ МИНЕРАЛОВ И ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД

Для успешного выщелачивания цветных металлов особенно большое значение имеет скорость процесса окисления сульфидов. Скорость бактериального и химического окисления сульфидных минералов зависит как от природы сульфидов, так и условий среды, в которых идет процесс окисления.

Наиболее важные из этих факторов рассматриваются ниже.

Энергия кристаллической решетки

Мерой стойкости сульфидного минерала является энергия кристаллической решетки, т. е. та энергия, которую необходимо затратить на разрушение кристалла и которая измеряется работой этого процесса.

Ферсман (1937) и Сауков (1966) приводят следующие данные по энергиям кристаллической решетки некоторых сульфидов. Величина энергии дается в ккал на 1 моль.

Соединение	U (по экам) *	Соединение	U (по экам) *	Соединение	U (по экам) *
MoS ₂	2766	CuS	833	Cu ₂ S	655
FeS ₂	1132	HgS	833	Na ₂ S	525
ZnS	858	CdS	807	K ₂ S	479
FeS	838	PbS	718		

* U — энергия кристаллической решетки, вычисленная по методу энергетических коэффициентов Ферсмана

Наблюдается определенная связь между энергией кристаллической решетки сульфида и его положением среди сульфидов по способности окисляться как бактериями, так и химически. Более легко окисляются сульфиды, имеющие более низкую энергию кристаллической решетки.

Энергия кристаллической решетки определяет силы связи отдельных атомов, ионов и, следовательно, механическую прочность. С энергией кристаллической решетки связана раст-

воримость сульфидов. При растворении, как отмечает Ферсман (1937), мы имеем дело с тремя величинами:

- 1) U — энергией решётки, которая затрачивается,
- 2) H — энергией гидратации, которая освобождается,
- 3) L — теплотой растворения со знаком + или —, равной термическому эффекту растворения.

Из решёток с одинаковой H , но разными U , более растворимой будет та, у которой U меньше.

Сульфиды халькофилов исключительно трудно растворимы. Ниже приводятся данные Вейгеля и Эммонса (Сауков, 1966) по растворимости сульфидов и сульфатов в воде.

Сульфид	Растворимость сульфидов, моль/л при 18°	Сульфат	
		Растворимость сульфатов, моль/л при 20°	
ZnS	$70,6 \cdot 10^{-6}$	ZnSO ₄	3,37
MnS	$71,6 \cdot 10^{-6}$	MnSO ₄	5,32
FeS	$70,1 \cdot 10^{-6}$	FeSO ₄	1,74
CuS	$3,51 \cdot 10^{-6}$	CuSO ₄	1,30
PbS	$3,6 \cdot 10^{-6}$	PbSO ₄	$1,3 \cdot 10^{-1}$
Ag ₂ S	$0,522 \cdot 10^{-5}$	Ag ₂ SO ₄	$2,5 \cdot 10^{-2}$

Видно, что растворимость для сульфидов измеряется миллионными долями грамм-молекул, для сульфатов она повышается в миллион раз. Чем ниже энергия кристаллической решётки, тем выше растворимость сульфида. Однако решающую роль в растворении сульфидов играет поляризация, т. е. воздействие электрических полей одних ионов (атомов) на электронные оболочки других. В кристаллических решетках, образованных ионами, электрические поля создаются зарядами, и здесь поляризация будет следствием взаимодействия электрических полей катионов и анионов. Под влиянием зарядов ионов электронные оболочки могут менять свои размеры и форму.

В ряде случаев поляризация приводит к стягиванию ионов, в результате чего происходит укорачивание расстояний между ними (уменьшение их радиусов). При этом прочность решётки увеличивается, а растворимость уменьшается. Уменьшение расстояний между ионами в молекулах, вызванное поляризацией, приводит к увеличению прочности решётки.

Потенциал сульфидов

На скорость окисления сульфидных минералов большое влияние оказывает их потенциал. Значения электродных потенциалов для сульфидных минералов были определены в растворах различного состава.

На основании этих данных сульфидные минералы расположены в ряды по их потенциалам, которые показывают способность этих минералов к окислению.

Готшалк и Бючлер (цит. по: Сауков, 1966) определили потенциалы следующих сульфидов по отношению к медной проволочке в дистиллированной воде (в вольтах)

Марказит	+0,37	Галенит	+0,15
Аргентит	+0,23	Халькозин	+0,14
Халькопирит от	+0,18 до +0,30	Никелин	+0,02
Энаргит от	+0,18 до +0,23	Домейкит	+0,01
Молибденит	+0,20	Медь	+0
Ковеллин	+0,20	Антимонит от	-0,17 до -0,60
Пирит	+0,18	Сфалерит от	-0,20 до -0,40
Борнит	+0,17		

По степени убывающей скорости окисления сульфидов в водно-воздушной среде Смирнов (1955) располагает их в следующий ряд: сфалерит, халькозин, пирротин, халькопирит, пирит, галенит. Нишихара (Nishihara, 1914) по степени окисляемости в растворе 0,125 н. серной кислоты располагает сульфиды следующим образом: пирротин, тетраэдрит, галенит, сфалерит, халькопирит, арсенопирит, марказит, пирит, а Уэлс (Wells, 1910) в растворе 0,05 н. серной кислоты: пирротин, сфалерит, галенит, халькопирит, пирит. В растворе 0,1 н. сернокислого окисного железа положение сульфидов в указанном ряду (Nishihara, 1914) несколько меняется: пирротин, тетраэдрит, галенит, арсенопирит, сфалерит, пирит, энаргит, марказит, халькопирит. По результатам расчета изобарно-изотермических потенциалов реакций сульфатизации сульфидов в пределах температур 100—200° Голомзиком (1963) составлен ряд: пирротин, галенит, сфалерит, халькопирит, пирит, ковеллин, халькозин. Свешников (1967) путем непосредственного измерения потенциалов сульфидов в растворах различного состава и применяя более совершенные методики уточнил расположение сульфидов в их «ряду активностей». Свешников установил, что в нейтральных растворах, при отсутствии буферных окислительно-восстановительных систем, независимо от состава раствора, по убывающей величине электродного потенциала (т. е. по степени возрастания скорости окисляемости) сульфиды располагаются в ряд: марказит, пирит, ковеллин, халькопирит, арсенопирит, борнит, халькозин, пирротин, галенит, пентландит, шмальтин, молибденит, сфалерит. При этом им подчеркивается, что, как правило, этот ряд сохраняется для кислых и щелочных сред.

Как показали исследования Свешникова (1967), сульфиды принимают окислительно-восстановительный потенциал (Еh) растворов только при определенных концентрациях и соотношениях окислителей и восстановителей. Так, система является буферной при концентрации железа обеих форм (Fe^{2+} и Fe^{3+}) выше 1%. В этом случае происходит выравнивание потенциалов раствора и образцов из самых различных материалов (платина, пирит, графит, антрацит). При концентрациях железа 0,1% и ниже наблюдаются скачки потенциалов при их измерении на вышеуказанных электродах. Учитывая, что обычно в рудничных водах и в растворах при выщелачивании металлов концентрация железа близка к последней цифре (1—5 г/л), имеется высокая потенциальная возможность интенсивного прохождения электрохимических процессов растворения и окисления сульфидов в этих условиях, в том числе и биокаталитического окисления.

Влияние на потенциал сульфидов и их окисляемость Еh среды при бактериальном выщелачивании цветных металлов из руд не изучено. Еh при бактериальном выщелачивании цветных металлов из их сульфидов или из руд обычно не учитывается. По данным Ляликовой (1959), при росте *Th. ferrooxidans* на среде с железом Еh достигает 700—760 мв, rH_2 в культурах *Th. ferrooxidans* колеблется в пределах 16—32.

Еh в медно-колчеданных и полиметаллических месторождениях, как показывают наши данные, колеблется в пределах 580—750 мв (Каравайко, 1963; Каравайко и др., 1967). Чтобы определить, какой Еh наиболее благоприятен для бактериального выщелачивания цветных металлов из руд, требуются специальные исследования. На изменение электродных потенциалов сульфидов, а следовательно, и на скорость окислительных процессов оказывает влияние рН среды как содержащей, так и не содержащей кислорода. По данным Ясюкевича и Тихонова (1957), единица изменения рН среды меняет потенциал халькопирита на 0,03 в. Свешников и Дорофеева (цит. по: Свешников, 1967) установили, что в интервале рН 2—12 в кислых и щелочных растворах в присутствии кислорода потенциал галенита с ростом рН изменяется равномерно. По заключению Свешникова (1967), у целого ряда сульфидов в отсутствие концентрированных окислительно-восстановительных систем устанавливается практически линейная зависимость электродного потенциала от рН раствора. Однако величина этого изменения значительно отличается для кислородсодержащих и бескислородных сред.

Потенциал сульфидов изменяется также в присутствии ионов металлов. Уэлс (Wells, 1914) установил изменение потенциала пирита на 0,06 в при снижении содержания сульфата закиси же-

леза с 1 н. до 0,01 н. Исследованиями Сато (Sato, 1960) показано изменение электродных потенциалов ряда сульфидов в кислой среде в зависимости от содержания ионов тяжелых металлов. Им высказано предположение, что величину потенциала сульфидного минерала определяют нормальные потенциалы окислительно-восстановительных реакций, идущих на электродах.

Потенциал сульфидов зависит также от концентрации и природы растворенных в среде газов.

Электрохимическое взаимодействие сульфидов

Обычно сульфидные руды представляют сложный полиминеральный электрод, в котором составляющие его минералы находятся в электрохимическом взаимодействии. При этом потенциалы отдельных минералов значительно могут отличаться от стационарных потенциалов, замеренных обособленно. Свешников и Добычин (1956) изучали растворение пар сульфидов как при наличии кислорода в растворе, так и в условиях изоляции от окисления. В обоих вариантах наблюдалось интенсивное растворение сульфидов, причем степень обогащения раствора компонентами сульфида с более низким потенциалом повышалась в случае более высокой разности потенциалов минералов. Аналогичные данные получены Гинзбургом с сотрудниками (1961) и Масами (Masami, 1960), проводившими растворение смесей минералов в токе азота, а также Дуровой с сотрудниками (1960) и Листой с Бондаренко (1969).

Листова и Бондаренко (1969), сопоставляя результаты анализов жидких и твердых фаз, сделали заключение, что по убывающей степени окисления сульфиды, входившие в состав исследованной смеси, располагаются в ряд: галенит, сфалерит, халькопирит, пирит. Таким образом, расположение минералов в этом ряду практически совпадает с вышеприведенным рядом Свешникова, составленным на основе потенциометрических определений и анализа фаз при индивидуальном окислении сульфидов. Эти данные показывают, что в первую очередь подвергаются окислению сульфидные минералы, имеющие более низкий электродный потенциал.

Явление резкого ускорения окисления и растворения одного минерала по сравнению с другими, находящимися в смеси, имеет место и при бактериальном процессе окисления сульфидов. Так, скорость бактериального окисления сфалерита в смеси с пиритом возрастала в 30 раз по сравнению с вариантом без пирита (Malouf, Prater, 1961). Брайнер и Андерсон (Bryner, Anderson, 1957) установили, что бактериальное окисление молибденита в смеси с халькопиритом начиналось лишь после полного окисления последнего. Хотя следует отметить, что эти исследования велись в системах без изоляции от кислорода.

Таким образом, из вышесказанного видно, что способность сульфидных минералов к окислению определяется как их электродными потенциалами, так и электрическими токами, возникающими между минералами с разными потенциалами.

На электродный потенциал сульфидных минералов в свою очередь большое влияние оказывают окислительно-восстановительный потенциал среды, содержание в ней ионов водорода, цветных металлов, закисного и окисного железа и растворенных газов. Поэтому одной из важных задач является определить оптимальные значения E_h как для жизнедеятельности бактерий, так и для окисления сульфидов и найти способы регулирования этих условий.

При развитии *Th. ferrooxidans* E_h находится в пределах 0,7—0,76 в, т. е., будучи благоприятным для бактерий, он оказывается значительно выше электродных потенциалов сульфидных минералов, приведенных выше. Очевидно, что условия для протекания электрохимических процессов в этих условиях будут благоприятными.

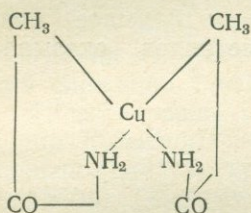
Состав руд

Скорость бактериального выщелачивания цветных металлов из различных типов руд, как видно из данных Расселла и Трасселла (Razzell, Trussell, 1963a), Данкана и Трасселла (Duncan, Trussell, 1964), В. И. Иванова (1962) и др., неодинакова и зависит от минерального состава, концентрации сульфидов, наличия адсорбентов и других факторов. Так, при наличии в руде минералов, способствующих потреблению серной кислоты, рН быстро повышается и создаются условия, неблагоприятные для бактерий. Аналогично ведут себя и вкрапленные руды, бедные сульфидами и содержащие силикаты и алюмосиликаты. В месторождениях с этим типом руд рН снижается главным образом в микроразонах (Мубаракова и др., 1968). Потреблению серной кислоты в рудах способствуют карбонаты, алюмосиликаты, а также вторичные сульфиды меди (CuS и Cu_2S). При выщелачивании меди из этих типов руд требуется добавление серной кислоты.

В случае медно-колчеданных руд выщелачивание меди, в особенности при разогреве руды за счет экзотермических окислительных процессов, идет интенсивно. Колчеданные пожары известны на месторождениях Среднего Урала (Огиевский, 1954; Манаков, Степанов, 1967). При повышении температуры бактериальные окислительные процессы подавляются, а химические идут интенсивнее. Добавления серной кислоты при выщелачивании меди из этого типа руды не требуется (Голомзик и др., 1967a).

Карбонатные руды, как отмечают Крестовников (1929), Плаксин с сотрудниками (1931), Юдыцкий (1958), Трасселл

(Trussell, 1965), Плускота и др. (Pluskota, Zmudziński, 1969; Zmudziński, Pluskota, 1969), не пригодны для выщелачивания меди серноокислотным способом, в том числе и бактериальным. Возможно, что для этого типа руд следует обратить внимание на другие группы бактерий, которые окисляют сульфиды при нейтральной и щелочной реакциях среды, как, например, *Thiobacillus y*, или же процесс перевода меди в раствор должен идти за счет образования карбонатных комплексных соединений в виде $[\text{CuO}_2(\text{CO}_3)_2\text{H}_2\text{O}]^{2-}$, или органических хелатных соединений подобных



Хелатирующими агентами являются α -аминокислоты, органические кислоты (лимонная, молочная и др.) и спирты (глицерин, маннит).

Размеры частиц сульфидов

На скорость бактериального окисления сульфидов большое влияние оказывает степень их измельчения. По данным Расселла, Трасселла и др. (Razzell, Trussell, 1963b; Duncan et al., 1966), скорость окисления халькопирита увеличивается в зависимости от его измельчения до 400 меш. В случае более тонкого измельчения сульфидных минералов на скорость их окисления начинают действовать другие факторы.

Торма с сотрудниками (Torma et al., 1970) при выщелачивании цинка из концентратов показал, что фактором, лимитирующим скорость процесса окисления, является сумма площадей поверхностей частиц минералов, имеющаяся в распоряжении на единицу выщелачивающего раствора. Бактерии не могут использовать субстрат внутри частичек концентрата до тех пор, пока наружный материал не растворится. Наиболее высокая скорость извлечения цинка из концентрата (517 мг цинка за час) достигнута при использовании фракций с наибольшей специфической площадью поверхности, т. е. на тонко измельченном материале.

Из данных Полькина и др. (1969, 1970) видно, что бактериальное выщелачивание мышьяка из арсенопирита или из оловосодержащих концентратов успешно идет при отношении

твердого к жидкому (Т:Ж) как 1:50 и при крупности частиц, используемой обычно в технологии обогащения этих концентратов, 200 меш. Однако необходимо иметь в виду, что столь тонкое измельчение концентратов или сульфидных минералов допустимо только при проведении лабораторных экспериментов или при чановом выщелачивании цветных и других металлов. При кучном и подземном выщелачивании цветных металлов столь тонкое измельчение неприемлемо, так как с крупностью выщелачиваемого материала в тесной связи находится водопроницаемость и аэрация руды.

Кроме того, при тонком измельчении руды большое влияние на процесс выщелачивания цветных металлов оказывает вмещающая порода.

Активная кислотность

Важным фактором бактериального выщелачивания является активная реакция вод и руд. Для выщелачивания меди из сульфидных минералов наиболее благоприятна активная реакция при рН 2,5—3,0 (Razzell, Trussell, 1963a; Ванчи и др., 1968; Trussell, 1965). При рН ниже 2,0 скорость извлечения меди снижается, что связано с подавлением жизнедеятельности бактерий. При рН 5,0 окисление халькопирита резко подавляется. Выщелачивание меди из продуктов обогащения и из халькопиритного концентрата также проводилось при рН 2,5—2,8. Сульфид никеля быстро окисляется *Th. ferrooxidans* при рН 2,5, и скорость процесса значительно снижается при рН 4,0.

Оптимальный рН для выщелачивания мышьяка, по данным Полькина и др. (1969, 1970), равняется 2,2—2,5. При выщелачивании цинка из концентрата при плотности пульпы 5,3% минимальная лаг-фаза была при рН 2,3. На пульпе плотностью 16% при +35° оптимальный рН для выщелачивания цинка был от 2,0 до 3,0, вероятно, близок к 2,5 (Торма et al., 1970).

Таким образом, скорость окисления сульфидных минералов наибольшая в области рН, оптимального для развития *Th. ferrooxidans*.

Температура

Наиболее быстрое окисление железа культурой *Th. ferrooxidans* идет при 35°. При окислении различных сульфидных минералов приводятся следующие значения температур в качестве наиболее благоприятных (в °С): халькопирит —20—35; синтетические сульфиды меди —30; халькозин —25; арсенопирит —30; сульфидные минералы никеля и цинка —35.

При повышении температуры до 40° скорость бактериального окисления закисного железа и сульфидов резко снижается, а при 45—50°—прекращается. Минимальная температура, при которой идет бактериальное окисление сульфидов, точно еще не установлена.

Нами показано, что скорость окисления закисного железа в рудничных водах Дегтярского рудника снижается примерно в 2—4 раза при понижении температуры с 20—25° до 13—15° (Каравайко и др., 1966).

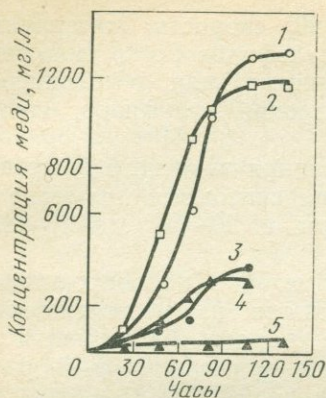
Опыты, проведенные нами при 28 и 6° с накопительными культурами *Th. ferrooxidans*, выделенными из месторождений Кольского п-ва, также показали, что скорость бактериального окисления закисного железа снижается примерно в 2—3 раза при снижении температуры растворов на 10°.

Попытки выделить бактерии из медно-никелевых месторождений Кольского п-ва, которые могли бы энергично окислять закисное железо при низких температурах, оказались безуспешными. Поэтому растворы, используемые для выщелачивания цветных металлов из руд, в необходимых случаях следует подогревать до температуры, благоприятной для бактерий (20—30°C).

Влияние аэрации и перемешивания

Активный процесс окисления сульфидов может протекать только при обильном снабжении среды кислородом. Какое количество кислорода должно содержаться в растворе, чтобы процесс окисления сульфидов происходил интенсивно, опытным путем не установлено.

Ляликова (1968) показала, что при бактериальном окислении закисного железа наиболее эффективно продувание одного объема воздуха на один объем среды в час. По данным Малова и Пратера (Malouf, Prater, 1961), необходимо три объема воздуха в час. При проведении выщелачивания меди из руд Дегтярского рудника сернокислородное окисное железо регенерировали с помощью *Th. ferrooxidans* при интенсивности аэрации раствора 2 л воздуха на 1 м³ раствора в 1 мин. При недостаточной аэрации раствора интенсивное окисление железа происходило только в верхней части регенерационного прудка. Однако чрезмерная аэрация, как показали Сильверман и Рогов (Silverman, Rogoff, 1961), также неблагоприятна для бактерий. Ванчи и др. (1968) показали, что скорость выщелачивания меди при перемешивании примерно в 10 раз выше, чем при перколяции. Эффективность выщелачивания при перемешивании в свою очередь зависит от формы сосуда и от условий перемешивания. Лучшие результаты были получены при осциллирующем перемешивании.



Р и с. 10

Действие различных способов перемешивания на бактериальное выщелачивание меди из различных пульп халькопирита (0,67%) (Duncan et al., 1967)

- 1 — магнитная мешалка,
- 2 — вращательный встряхиватель,
- 3 — барботаж воздухом,
- 4 — механическая мешалка,
- 5 — стерильный контроль (химическое выщелачивание) ставился на вращательный встряхиватель

Данные о влиянии различных способов перемешивания раствора представлены на рис. 10 (Duncan et al., 1967). Лучшие результаты были получены при использовании для перемешивания раствора вращающейся качалки и магнитной мешалки.

При использовании механической мешалки частицы минералов оседали на стенках сосудов и выводились из реакционной смеси. Продувание воздухом было также неэффективно из-за вспенивания, в результате которого частички минералов выводились из суспензии. На эффективность выщелачивания металлов при перемешивании большое влияние оказывает форма сосуда, в котором идет процесс.

Влияние соотношения твердого к жидкому (Т : Ж) на скорость бактериального окисления сульфидных минералов

Скорость бактериального окисления сульфидных минералов зависит от того, в каком соотношении находятся сульфиды, или руды, и выщелачивающий раствор в колбе. Этот фактор играет важную роль не только при выщелачивании цветных металлов в лабораторных условиях, но и при кучном или подземном выщелачивании, осуществляемых в промышленных масштабах (Голомзлик и др., 1965б).

При проведении опытов в перколяторах различные исследователи использовали следующие соотношения твердого к жидкому:

1) навеска песка — 200 г, навеска сульфида — 2,5—10 г, количество раствора — 250 мл, Т : Ж = 1 : 1,2 (Razzell, Trussell, 1963a);

2) навеска песка — 200 г, навеска сульфида — 20 г, количество раствора — 50 мл, Т : Ж = 4,4 : 1 (Bryner et al., 1954);

3) навеска руды — 100 г, количество раствора — 100—135 мл, Т : Ж = 1 : 1 (Каравайко, Мубаракова, 1969).

Растворы периодически выводятся из оборота и заменяются свежими. Старые растворы обогащаются металлами и становятся неблагоприятными для бактерий. Скорость выщелачивания цветных металлов в перколяторах как известно сравнительно низкая.

Наибольшая скорость бактериального окисления сульфидных минералов достигается в опытах, проводимых на качалках. Некоторые данные об условиях постановки этих опытов сведены в табл. 12. Из данных таблицы видно, что в лабораторных опытах

таблица 12

Характеристика некоторых параметров, используемых при проведении лабораторных опытов

Минералы или руды	Навески, используемые в опыте, г	Степень измельчения, меш	Количество раствора в опыте, мл	Соотношение твердого к жидкому (Т:Ж)	Способ перемешивания	Количество выщелоченных металлов, %	Литературный источник
Халькопирит	1	—325	75	1:75	На качалке	29 (24*)	<i>Duncan, Trussel, 1964</i>
То же	2			1:40		101 (33)	
Ковеллин	1			1:75		45 (76)	
Халькозин	1			1:75		93 (30)	
Борнит	1			1:75		102 (20)	
Медные руды	1			1:40		90—93 (10—11)	
Халькопиритный концентрат	15	—325	75	1:5	То же	32 г/л, или 59 (25)	<i>Duncan et al., 1967</i>
	1		75	1:75		2 г/л (2)	
	4		75	1:19		2—2,5 г/л (2)	
	800		40 000	1:50		2,5 г/л (5)	
Цинковая руда	1600	—400	40 000	1:25	Мешалка, 1650 об/мин в танке	6 г/л (35)	
Арсенопирит в концентрате	1	—200	50	1:50	На качалке	80 (12)	<i>Полькин и др., 1969, 1970</i>
	5		50	1:10		27 (12)	
	25		50	1:2		24 (12)	
Никелевый концентрат 4% (миллерит)	3	—325	75	1:25	То же	100 (20)	<i>Duncan et al., 1967</i>

* В скобках приводится время выщелачивания в днях.

в основном используются сильно разбавленные пульпы. Это, наряду с другими благоприятными факторами (тонкое измельчение минерала, интенсивная аэрация и др.), способствует быстрому окислению сульфидных минералов. Однако расчеты показывают, что столь сильное разбавление пульпы оказывается неприемлемым при организации выщелачивания цветных металлов из концентратов в промышленных масштабах.

Данные Данкана и др. (Duncan et al., 1967) показывают, что при использовании соотношения твердого к жидкому как 1:5 общее извлечение меди из халькопиритного концентрата, измельченного до -325 меш, было низким, однако при этой скорости окисления можно получить растворы, пригодные для извлечения меди путем электролиза.

Данные Полькина с сотрудниками (1969, 1970) по изучению влияния соотношения твердого к жидкому в растворе на выщелачивание мышьяка показали, что процент извлечения мышьяка (80%) за 12 суток был наибольший при $T:Ж = 1:50$. С увеличением плотности пульпы процент извлечения мышьяка падает. Однако среднесуточная скорость процесса выщелачивания мышьяка за первые четверо суток была выше в плотных пульпах ($T:Ж = 1:2$ и $1:10$). Практически за этот срок было выщелочено соответственно 24 и 27% мышьяка. В дальнейшем же окисление арсенопирита прекращалось из-за полной гибели бактерий. Причина этого явления пока не выяснена. Можно полагать, что гибель бактерий связана с накоплением в растворе значительных количеств меди и мышьяка. Влияние плотности пульпы (% твердого) на скорость выщелачивания цинка из концентрата изучали Торма и др. (Torma et al., 1970). Показано, что скорость экстракции цинка увеличивается с увеличением плотности пульпы вплоть до 16%. При 16% твердого (концентрат) скорость извлечения цинка была наибольшей, 350 мг/л/час, а конечная концентрация цинка в растворе 72 г/л. При низкой плотности пульпы скорость извлечения цинка и скорость роста бактерий лимитируются количеством имеющегося энергетического материала. При более высоких плотностях пульпы скорость извлечения цинка также уменьшается, хотя имеется избыток энергетического материала. В этом случае скорость извлечения цинка лимитируется некоторыми другими факторами.

Очевидно, что изучение условий бактериального окисления сульфидных минералов в плотных пульпах является очень важным для разработки чанового способа выщелачивания цветных металлов из руд и концентратов.

Действие поверхностно-активных веществ (ПАВ)

Исследования по изучению влияния ПАВ на скорость бактериального окисления сульфидов были начаты в Канаде Данканом, Трасселлом и др. (Duncan, Trussell, 1964; Duncan et al., 1967). Ими было показано, что наиболее эффективными в выщелачивании меди, цинка и никеля являются твин 20 в концентрации от 0,003 до 0,004% и тритон X-100 в концентрации от 0,002 до 0,003%. Особенно эффективен твин 20, который является полиоксиэтиленовым производным сложного эфира спирта сорбита и лауриновой кислоты. Эти ПАВ в значительной степени ускоряют бактериальное окисление сульфидных минералов, в особенности в начальный период, резко сокращая лаг-фазу, т. е. время, необходимое для начала окисления сульфидного минерала.

Ниже приводятся данные о действии твина 20 и тритона X-100 на бактериальное выщелачивание меди из халькопирита (Duncan et al., 1967).

	Концентрация ПАВ, %	Наличие бактерий	Содержание меди в растворе (мг/л) в течение дней	
			4	18
Твин 20	0,004	+	1980	3670
	0,003	+	1965	3670
Тритон X-100	0,002	+	1625	2680
	0,003	+	1645	2650
	0,005	—	50	185
Контроль	0	+	130	1265
	0	—	90	375

В некоторых случаях твин 20 не оказывал стимулирующего влияния на скорость бактериального выщелачивания меди, а в случае ковеллина скорость извлечения меди в присутствии ПАВ даже снижалась. Причина этого явления неясна.

Из миллерита в присутствии твина 20 и *Th. ferrooxidans* за 14 дней было выщелочено 70% никеля, а в присутствии только бактерий за 23 дня — 58% никеля. Механизм действия поверхностно-активных веществ на бактериальное выщелачивание металлов требует изучения. Вероятно, эти вещества снижают поверхностное натяжение среды, смачивают поверхность сульфидных минералов и способствуют более быстрому и тесному контакту их с бактериями.

В настоящее время известно, что бактерии *Th. thiooxidans* сами выделяют в среду органические вещества, фосфолипиды и другие органические вещества, которые обладают поверхностно-активными свойствами (Shaeffer, Umbreit, 1963; Jones, Benson, 1965; Shively, Benson, 1967, и др.).

Сера, обработанная фосфолипидом — фосфатидилинозитом, окислялась значительно быстрее, чем не обработанная. Эти вещества, вероятно, способствуют бактериальному окислению серы, подобно тому, как это делают твин 20 и другие ПАВ в период лаг-фазы.

Вопрос о поверхностно-активных веществах, выделяемых в среду *Th. ferrooxidans*, еще не выяснен.

Шнейтману и Люндгрёну (Shnaitman, Lundgren, 1965) не удалось обнаружить фосфолипиды в среде с железом после развития *Th. ferrooxidans*. Однако в их работе были допущены методические ошибки, так как фосфолипиды выделялись из раствора после осаждения железа. Они могли быть увлечены вместе с гидратом окиси железа.

Чтобы решить этот вопрос, следует провести опыты, культивируя *Th. ferrooxidans* как на среде с железом, так и на среде с сульфидными минералами.

Влияние минеральных солей

Th. ferrooxidans нуждается также в различных минеральных солях, в особенности важны фосфаты и аммонийные соли. В рудах и рудничных водах азот и фосфор могут содержаться в незначительных количествах. Например, в рудничных водах Дегтярского месторождения содержание азота и фосфора не превышало 1—3 мг/л. Добавление фосфора к этим водам ускоряло процесс бактериального окисления закисного железа (Каравайко и др., 1966). Оптимальная концентрация KH_2PO_4 равна 400 мг/л раствора. Аналогичное действие оказывает также добавление аммонийных солей. Оптимальное количество азота для окисления халькопирита бактериями по Брайнеру (Bryner et al., 1954) равно 300 мг/л.

Действие магнитного поля

Влияние магнитного поля на бактериальное окисление Fe^{2+} изучается в Институте горючих ископаемых (ИГИ) Классеном и др. Действию магнитного поля подвергаются как сами растворы закисного железа, так и бактериальные суспензии. Опыты показали, что при обработке магнитным полем (напряжением 150 эрстед в течение 10 сек.) раствора FeSO_4 скорость бактериального окисления Fe^{2+} возросла в 1,6—1,7 раза (Агафонова и др., 1970). Механизм интенсификации бактериального окисления Fe^{2+} при действии магнитного поля еще недостаточно ясен.

Селекция бактерий

В тесной связи с практическим использованием микроорганизмов для выщелачивания цветных металлов из руд находится вопрос получения активных штаммов бактерий, устойчивых к высоким концентрациям тяжелых металлов и водородных ионов. Важной физиологической особенностью *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans* является их устойчивость по отношению к повышенным концентрациям меди, цинка, железа и металлов. Так, Ляликовой (1968) выделены из рудничных вод культуры *Th. ferrooxidans*, которые без предварительной адаптации могли развиваться в присутствии 2 г/л цинка, хотя лаг-фаза удлинялась. В пробах Малова и Пратера (Malouf, Prater, 1961) 50 мг/л цинка стерилизовали культуру. Исходная культура Циммерлея (Zimmerley et al., 1958) могла развиваться в присутствии 150 мг/л цинка. В опытах Данкана и др. (Duncan et al., 1957) 3 г/л цинка не были токсичны для *Th. ferrooxidans*. Некоторые штаммы *Th. ferrooxidans*, выделенные Мархлевиц и др. (Marchlewitz, Hasche, Schwartz, 1961), выдерживали 5 г/л меди и 5 г/л цинка. Мышьяк в концентрациях 965 мг/л (Ehrlich, 1964) и 1 г/л (Trussell, 1965), уран (UO_3) в концентрации 1 г/л не были токсичны для этих бактерий. Очевидно, что устойчивость различных штаммов *Th. ferrooxidans* к тяжелым металлам неодинакова, что, вероятно, связано с адаптацией бактерий в природе.

Как отмечает Ляликова (1968), место выделения и предыстория штамма влияют на скорость адаптации. Так, культура, выделенная из вод гидрометаллургического завода, была адаптирована к концентрации меди 16 г/л очень быстро. Для адаптации культуры *Th. ferrooxidans*, выделенной из воды, не содержащей меди, понадобился значительно больший период, около трех месяцев. Причем, адаптацию этой культуры нужно было вести постепенно, увеличивая концентрацию меди при каждом пересеве не больше, чем на 500 мг/л.

В дальнейшем, путем постепенного повышения концентрации меди и цинка, *Th. ferrooxidans* был адаптирован к 20 г/л меди и 10 г/л цинка. Культура *Th. ferrooxidans* Бута и Мерсера выдерживала 10 г/л меди, а *Th. thiooxidans* — 20 г/л (Booth, Mercer, 1963).

Мархлевиц с сотрудниками (Marchlewitz, Hasche, Schwartz, 1961) адаптировал *Th. ferrooxidans* к 25 г/л цинка и 5 г/л меди, а *Th. thiooxidans* — к 10 г/л меди и 50 г/л цинка. Таким же путем Голомзиком и Ивановым (1965) была получена культура *Th. ferrooxidans*, окисляющая закисное железо при pH 1. Камаловым (1968) *Th. ferrooxidans* был адаптирован к 16 г/л закисного железа в виде хлорида. Молибден оказался токсичным для бактерий в кислой среде (Trussell, 1965). Трасселлу удалось адаптировать *Th. ferrooxidans* только к концентрации молибдена 70—80 мг/л.

Большой интерес представляет также получение термофильных штаммов бактерий, которые, как известно, отличаются повышенной активностью. Сведений о существовании в природе термофильных тионовых бактерий мало. Эмото (Emoto, 1929) выделил термофильные бактерии, близкие к *Th. thiooxidans*, из иловых отложений горячих серных источников с pH 1,8—3,0. Термофильные железокисляющие бактерии были обнаружены Заварзиним (1966) на о-ве Кунашир в кислом источнике при 55°. Накопительная термофильная культура *Th. ferrooxidans* была получена также Мархлевиц в ГДР (Ляликова, 1968). Культура *Th. ferrooxidans*, с которой работал Ландесмен и др. (Landesman et al., 1966), могла расти при 40° и, вероятно, была термофильной.

Таким образом, путем адаптации, а также, используя мутагенные факторы, можно получить культуры бактерий со свойствами, нужными промышленности.

Выделение новых видов бактерий, способных использовать энергию окисления отдельных минералов

При окислении целого ряда восстановленных соединений элементов, имеющих различную валентность, выделяется свободная энергия, которая используется микроорганизмами для усвоения свободной углекислоты. Примером могут служить известные хемоавтотрофы, которые получают энергию при окислении закисного железа (*Th. ferrooxidans*) и серы (*Th. thiooxidans*, *Th. ferrooxidans*). В природе многие металлы могут проявлять различную валентность, так например, Cu^{1+} и Cu^{2+} , Mn^{2+} и Mn^{4+} , Pb^{2+} и Pb^{4+} , Sn^{2+} и Sn^{4+} , Tl^{1+} и Tl^{3+} , Ca^{2+} и Ca^{4+} , Ge^{2+} и Ge^{4+} , Mo^{2+} , Mo^{3+} , Mo^{4+} , Mo^{5+} и Mo^{6+} , Co^{2+} и Co^{3+} .

Кузнецов (1968) и Ляликова (1967) приводят термодинамические расчеты, которые показывают, что при образовании ряда окислов с высшей валентностью выделяется значительное количество энергии, которая, вероятно, может быть использована бактериями. Например, при окислении трехвалентной сурьмы по реакции: $2\text{Sb}_2\text{O}_3 + \text{O}_2 = 2\text{Sb}_2\text{O}_4$ выделяется 73,3 ккал (Ляликова, 1967). Следовательно, если эти элементы входят в минералы-рудобразователи, то можно ожидать участия микроорганизмов в окислении их в руде.

Таким образом, важной задачей микробиологических исследований является выделение таких микроорганизмов и изучение их физиологии. Вторым важным вопросом является изучение условий, при которых эти процессы могут протекать. Важным условием окисления восстановленных соединений является pH. Некоторые соединения металлов с низшей валентностью устойчивы только в нейтральных и щелочных условиях среды, как, на-

пример, куприт (Cu_2O). В этих условиях возможно участие микроорганизмов в их окислении.

Наличие автотрофов, которые способны окислять сульфиды металлов в условиях нейтральной и слабощелочной среды, в настоящее время уже доказано (Ляликова, 1967).

Интересно отметить, что *Thiobacillus* у окислял в слабощелочной среде висмутин, т. е. минерал, окисление которого не происходило в кислой среде *Th. ferrooxidans*.

Большую роль в окислении восстановленных соединений металлов играет окислительно-восстановительный потенциал.

Ниже приводятся значения окислительно-восстановительного потенциала некоторых пар металлов при различной реакции среды (Разенкова, Галактионова, 1963; Шоу, 1959; Юнг, 1959; Сауков, 1966).

Окислительные пары	Потенциал, в	
	в кислой среде	в щелочной среде
$\text{Fe}^2/\text{Fe}^{3+}$	+0,77	
$\text{Mn}^2/\text{Mn}^{4+}$	+1,23	-0,05
$\text{Tl}^+/ \text{Tl}^{3+}$	+1,25	-0,05
$\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$	+1,79	Низкий
$\text{Pb}^{2+}/\text{Pb}^{4+}$	+1,80	—
$\text{V}^{4+}/\text{V}^{5+}$	+1,0	—
$\text{Mo}^{5+}/\text{Mo}^{6+}$	+0,78	—

Из этих данных видно, что в кислой среде при 18—25° окислительно-восстановительный потенциал для некоторых пар ионов очень высок и маловероятен в природе. Поэтому окисление этих соединений в кислой среде может быть затруднено или невозможно.

Более легко процесс окисления некоторых соединений металлов идет при высоких значениях рН, когда Ен резко снижается. О том, что эти процессы имеют место в природе, свидетельствует наличие минералов с высшими валентностями металлов.

Таким образом, важной задачей микробиологических исследований является выделение новых микроорганизмов и изучение их геохимической деятельности в месторождениях. Это позволит не только правильно объяснить многие процессы, происходящие в месторождениях, но и создаст базу для разработки новой технологии выщелачивания цветных и редких металлов.

Однако многие вопросы еще не решены. Так, нет данных об оптимальном ионном составе выщелачивающих растворов, о кислородном и углекислотном режиме бактериального окисления, о путях достижения максимального перевода сульфидов в растворимые сульфаты и т. п.

Не раскрыт еще механизм биокатализа. Несомненно, что работы в этом направлении будут способствовать решению вопроса о регулировании жизнедеятельности микроорганизмов в желаемом направлении.

ЗАДАЧИ И МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И УКРУПНЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ТЕХНОЛОГИИ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ ЦВЕТНЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ИСХОДНЫХ ДАННЫХ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ УСТАНОВОК

Месторождения меди и других цветных металлов могут быть представлены различными сульфидными минералами. Роль микроорганизмов и химических реагентов, таких, как сернокислородное железо или слабые растворы серной кислоты, в их окислении неодинакова. Так, вторичные сульфидные минералы меди легко окисляются сернокислым окисным железом. Эти минералы сравнительно легко окисляются также *Th. ferrooxidans*. Растворы серной кислоты являются слабыми растворителями сульфидных минералов. Таким образом, наряду с *Th. ferrooxidans* в окислении вторичных сульфидов меди и выщелачивании меди из руд, содержащих эти минералы, большую роль играет и сернокислородное железо.

В противоположность этому халькопирит с трудом окисляется химически и значительно легче за счет деятельности *Th. ferrooxidans*.

Направление всех этих процессов еще очень сильно зависит от того, в каких вмещающих породах находятся минералы меди или других цветных металлов. Окислы щелочных металлов, карбонаты, алюмосиликаты приводят к повышенным расходам серной кислоты на подкисление растворов. Наличие же в руде пирита способствует выщелачиванию вследствие образования при его окислении серной кислоты и сульфата закиси железа. Последний, как известно, окисляется бактериями до сульфата окиси железа.

Таким образом, от определения того, как идет окисление испытуемой руды с образованием растворимых солей цветного металла — химически или биогенно, зависит и технология процесса выщелачивания металла из руды при кучном, подземном или чановом извлечении.

Например, от того, производится ли орошение руды растворами сернокислородного окисного железа регенерированными бактериями или растворами цементационной установки, зависит соотно-

шение объемов растворов в циркуляции и в регенераторе, а это, в свою очередь, определяет объем прудков, мощность насосов и пр.

До настоящего времени все еще недостаточно изучен вопрос об оптимизации процессов подземного и кучного выщелачивания. Имеющиеся в литературе сведения указывают на большое значение при выщелачивании таких факторов, как расход раствора, пауза между двумя очередными орошениями. Однако экспериментальное обоснование принятого режима работы установки обычно не приводится. Параметры работы установки, вероятно, отрабатываются в процессе ее эксплуатации. Тем не менее практика лабораторных исследований и опытное выщелачивание меди на Дегтярском руднике (Голомзник и др., 1965а, б; 1967а) показали, что оптимальные условия выщелачивания меди из различных типов руды, такие, как пауза в орошении, расход растворов на орошение руды и т. д., могут быть отработаны в лабораторных условиях. Совершенно очевидно, что при установлении оптимальных величин факторов, указанных выше, и некоторых других удастся повысить эффективность выщелачивания.

Таким образом, тематика исследовательских работ при изучении технологии выщелачивания цветных металлов из руд может быть разделена на три части.

1. Поисковые лабораторные исследования с использованием малых навесок чистых сульфидов, сульфидных минералов, концентратов или руд. Цель этих исследований — изучить относительную скорость бактериального и химического окисления сульфидов цветных металлов, кинетику, механизм и условия выщелачивания (рН, скорость аэрации, добавки солей азота и фосфора и т. д.). На основании этих данных можно судить о том, как нужно вести выщелачивание металла и какие растворы использовать в этой технологии.

2. Укрупненные лабораторные исследования с большими навесками руды с целью определения оптимальных значений основных параметров технологии бактериального выщелачивания цветных металлов из руд.

Помимо вышеперечисленных (п. 1), здесь определяются следующие параметры:

- а) расход растворов при выщелачивании;
- б) количество раствора, которое периодически выводится из оборота;
- в) пауза в орошении руды;
- г) расход серной кислоты;
- д) декриптация руд и фильтрующая их способность при выщелачивании металлов.

3. Полупромышленные испытания в колонках с целью уточнения данных, необходимых для проектирования опытно-промышленных установок (см. п. 2).

Выщелачивание цветных и редких металлов из малых навесок сульфидов или руды

Эти опыты следует проводить с сульфидными минералами, чистыми сульфидами, с концентратами или богатыми рудами. Малые навески бедных руд непригодны для этих целей из-за низкого содержания сульфидов. Обычно используют тонкоизмельченную руду или сульфиды крупностью около 200—325 меш. Навески от 1 до 10 г помещают в колбы Эрленмейера на 250 мл или больше, в которые добавляется питательная среда Летена (№ 11) или среда 9К Сильвермана и Люндгрена (№ 10) в количестве 100 мл. Для аэрации и перемешивания раствора колбы ставятся на качалки при температуре 28—35°.

Стерилизация руды, если она необходима, проводится спиртом. Сульфиды или руда в колбе заливаются спиртом и оставляются на 2 часа. Затем спирт сливается, а руда высушивается либо в сушильном шкафу при 50°, либо путем продувания стерильного воздуха через стеклянную трубку, вставленную в пробку и заполненную стерильным активированным углем. После этого в колбы заливается раствор среды Сильвермана и Люндгрена или среда Летена и вносится чистая или накопительная культура *Th. ferrooxidans*. Обычно культура вносится в количестве 1—2% к общему объему выщелачивающего раствора. В контрольные колбы добавляется тимол.

Опыт ставится по следующей схеме.

1. Руда + стерильная среда без железа + тимол (контроль)
2. Руда + стерильная среда без железа + бактерии
3. Руда + стерильная среда с железом $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + тимол (контроль).

4. Руда + стерильная среда с железом $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + бактерии.

Все варианты ставятся в двух повторностях.

В варианте 3 нужно следить, чтобы железо присутствовало в трехвалентной форме. Если оно быстро восстанавливается при взаимодействии с сульфидами, то нужно либо добавлять $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, либо производить замену старого раствора новым с $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. В бактериальном варианте 4 регенерация $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ осуществляется *Th. ferrooxidans*.

В опытах следует использовать культуры *Th. ferrooxidans*, предварительно адаптированные к выщелачиваемому металлу, например, меди, цинку или др.

При исследовании микробиологического выщелачивания руд конкретного месторождения целесообразна постановка также экспериментов с местными штаммами бактерий. Выделение микроорганизмов можно вести непосредственно из окисленных участков медной руды или из рудничной воды, засевая пробами соответствующие питательные среды.

Сравнение первого и второго вариантов опыта дает возможность решить вопрос, насколько быстро бактерии одни способны окислять сульфидные минералы в сульфаты соответствующих металлов. Сравнение данных третьего и четвертого вариантов дают возможность решить вопрос о совместном действии $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ и бактерий и о действии только $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ на сульфидные минералы.

В том случае, если сульфидные минералы содержат железо, как, например, халькопирит (CuFeS_2), арсенопирит (FeAsS) и др., оно будет выделяться в раствор при окислении этих минералов бактериями. Таким образом, варианты 2 и 3 могут быть похожими, т. е. здесь в окислении сульфидных минералов будут участвовать бактерии и железо, хотя последнее будет присутствовать в различных концентрациях. Тем не менее роль $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ в окислении этих минералов может быть четко установлена в вариантах с бактериями в начальный период опыта, когда бактериальные окислительные процессы еще не развились, а также в вариантах без бактерий, так как скорость окисления сульфидных минералов кислородом воздуха в кислой среде очень низкая. Поэтому железо, если и выделяется из минералов, то в незначительных количествах.

Основные критерии определения активности окислительных процессов следующие: по ходу опыта производятся анализы содержания бактерий, содержания Fe^{2+} и Fe^{3+} , pH и выщелачиваемых металлов. Продолжительность этих опытов зависит от их цели. Однако, как правило, они продолжаются не более месяца.

Аналогичные эксперименты можно проводить в перколяторах, хотя скорость окисления сульфидов в данном случае ниже, чем в опытах на качалках.

Выщелачивание цветных металлов из различных типов руды в перколяторах

Лабораторные исследования по выщелачиванию меди и других цветных металлов из различных типов руды удобнее всего вести в перколяторах. Лабораторный стеклянный перколятор, как видно из рис. 11, представляет стеклянную трубку диаметром 3—4 см, в нее сбоку впаяна тонкая трубка с боковым отростком, через который поступает воздух.

Припой отростка должен быть сделан к боковой трубке ниже уровня раствора в перколяторе для обеспечения подъема раствора по тонкой трубке; при подаче воздуха капли раствора им захватываются и переносятся в перколятор, орошая руду. Избыток раствора стекает под ложное днище перколятора и вновь захватывается током воздуха на орошение руды. Для того, чтобы руда не проваливалась в отверстие ложного днища, на него сверху

укладывается слой стекловолокна или асбеста толщиной 2—3 мм. Воздух, поступающий в боковой отрезок, пропускается через ватный фильтр. Перколяторы устанавливаются на стенде, защищенном от действия прямых солнечных лучей, при постоянной температуре (28° или 35°).

В этих опытах обычно выщелачивающий раствор добавляется в каждый перколятор в соотношении (0,5—2) : 1 к навеске сульфида и песка. По ходу опыта проводятся те же анализы, что и в случае опытов на качалке. Опыт длится обычно два-три месяца, но может длиться и дольше. Смена растворов производится после трех-четырех циклов орошения. Каждый цикл орошения длится 5—8 суток.

Помимо вопросов, перечисленных в п. 1 на стр. 113, путем этих лабораторных опытов можно решать также следующие вопросы:

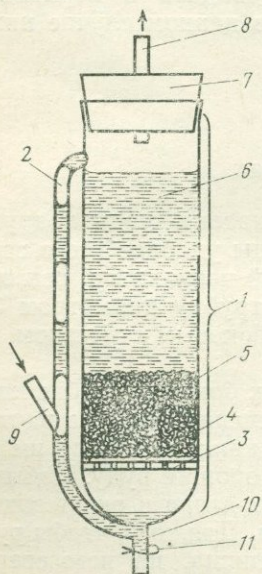
1) влияние паузы между двумя очередными орошениями на скорость выщелачивания металлов;

2) расход серной кислоты на поддержание низких значений pH растворов;

3) изменение ионного состава растворов в зависимости от количества и продолжительности циклов выщелачивания и влияние его на скорость выщелачивания металлов;

4) полноту извлечения металлов.

Для проведения этих исследований руда дробится до нужной величины частиц (мы использовали руду, измельченную до $-3+0,25$ мм) и помещается в количестве 100—200 г в перколятор. Эта же руда идет на рациональный и полный химический анализы.



Р и с. 11

Перколятор

- 1 — основная трубка,
- 2 — аэролитная трубка,
- 3 — ложное днище,
- 4 — асбестовый или из стеклянной ваты фильтр,
- 5 — навеска руды,
- 6 — раствор,
- 7 — резиновая пробка,
- 8 — трубка для отвода воздуха,
- 9 — трубка для подачи воздуха,
- 10 — трубка для слива раствора,
- 11 — зажим, или кран

В. И. Иванов и др. (1961) в опытах использовали минералы крупностью — 65 меш, которые смешивались с кварцевым песком в соотношении 1 : 10.

Брайнер с сотрудниками (Bryner et al., 1954) в опытах использовали 20 г пирита класса — 60 + 200 меш, который смешивали с 200 г чистого кварцевого песка. Смесь песка и сульфида помещается в перколятор и заливается средой в соответствии со схемой опыта.

На основании этих данных ориентировочно можно определить основные факторы, влияющие на процесс выщелачивания, и в дальнейшем правильно объяснить механизм выщелачивания меди или других металлов из руды.

В качестве выщелачивающего раствора могут использоваться рудничные воды или питательные среды Сильвермана и Люндгрена (№ 10) или Летена (№ 11). Можно использовать также водопроводную воду, подкисленную до pH 2,0—2,5 и содержащую 1,0—2,0 г/л окисного или закисного железа. В варианты с бактериями добавляется культура *Th. ferrooxidans* одна или совместно с *Th. thiooxidans* в количестве 3—5% к объему выщелачивающего раствора.

Все варианты опыта ставятся минимум в двух повторностях. При выяснении вопроса о том, каким путем идет окисление сульфидов в данной руде — биологическим или химическим, опыт ставится по следующей схеме.

1. Руда + выщелачивающий раствор + тимол (без бактерий)
2. Руда + выщелачивающий раствор + бактерии
3. Руда + выщелачивающий раствор + $Fe_2(SO_4)_3$ + бактерии
4. То же (без бактерий)
5. Свежеотобранная руда + выщелачивающий раствор без железа
6. Свежеотобранная руда + раствор $Fe_2(SO_4)_3$.

Из сравнения анализов растворов, взятых из первого и второго перколяторов, можно видеть насколько энергично бактерии способны выщелачивать медь из руды чисто биологическим путем. Сравнение третьего и четвертого перколяторов дает возможность установить насколько быстро бактерии совместно с $Fe_2(SO_4)_3$ окисляют сульфиды, а также действие только $Fe_2(SO_4)_3$. Анализ выщелачивающего раствора пятого перколятора показывает как быстро в данной руде может активизироваться микрофлора самой руды и начаться процесс выщелачивания в соответствующих условиях. Эти данные могут представить большой интерес при сравнении различных типов руды из одного и того же или из разных месторождений.

Анализы выщелачивающего раствора шестого перколятора показывают, как может пойти процесс извлечения меди из руды и как развивается автохтонная микрофлора, если выщелачивание ведется раствором серноокислого окисного железа.

pH раствора в перколяторах контролируется ежедневно и при необходимости доводится до заданных значений добавлением серной кислоты. По ходу опыта систематически производятся химический и микробиологический анализы раствора от выщелачивания, определяется концентрация выщелачиваемых металлов, закисное и окисное железо и количество клеток бактерий.

Цикл выщелачивания одной порцией раствора может длиться для сульфидных руд 10—20 суток и для окисленных и смешанных 5—10 суток в среднем, затем весь раствор или часть его выводится, его объем замеряется и растворы анализируются. По результатам анализа рассчитывается извлечение компонентов в раствор. Выщелачиваемая руда после паузы заливается свежей порцией раствора или старым раствором с добавлением воды в объеме, соответствующем выведенному. Повторной инокуляции большей частью не требуется, так как в руде остается достаточное количество бактерий. Однако этот вопрос следует решать в зависимости от данных микробиологического анализа растворов после выщелачивания.

Полное время проведения эксперимента зависит от его цели. При изучении влияния отдельных факторов на ход выщелачивания он может ограничиться полутора-тремя месяцами. При постановке эксперимента на полноту извлечения он может длиться год и более. В конце опыта производится извлечение твердого остатка, его анализ и подведение итогов выщелачивания по распределению компонентов руды между раствором и твердым остатком. Конечное извлечение в раствор (%) рассчитывается как частное от деления количества металла, извлеченного в раствор, на сумму металла в растворе и в твердом остатке. Примерная схема регистрации результатов лабораторных опытов приведена на стр. 119.

Исследования в укрупненных перколяторах

Основные вопросы, которые изучаются в этих опытах, описаны выше (стр. 115—116).

Принципиально организация этих исследований не отличается от поисковых исследований в стеклянных перколяторах. Однако ввиду того, что целью их является получение более или менее надежных данных о технологических параметрах выщелачивания, масштабы экспериментов значительно увеличены.

Укрупненные перколяторы конструктивно подобны стеклянным, изготавливаются из винипласта, асбоцемента, нержавеющей стали и рассчитываются на навески руд в среднем от 10 до 20—30 кг.

Данкан и др. (Duncan et al., 1967) при проведении укрупненных опытов использовали колонки, в которые загружали по 40 кг

Схема регистрации результатов лабораторных опытов

Номер смены раствора	Дата смены раствора и показатели	Номер перколятора					
		1	2	3	4	5	6
1	Снято раствора, <i>мл</i> Содержание, <i>г/л</i> меди цинка Извлечено за цикл, <i>г</i> меди цинка всего, <i>г</i> меди цинка за цикл, % меди цинка всего, % меди цинка Расход кислоты, <i>мл</i>						
2							
3	<hr/> Извлечено всего, <i>г</i> меди цинка Вес твердого остатка, <i>г</i> Содержание в твердом остатке, % меди цинка Содержание в твердом остатке, <i>г</i> меди цинка Сумма в растворе + в твердом, <i>г</i> меди цинка Конечное извлечение, % меди цинка Расход кислоты, <i>г</i> <i>кг/т</i> руды						

руды, измельченной примерно до 6 мм. Колонка имела следующие размеры: длина — 1,52 м и диаметр — 15 см. В колонки добавляли 1 л посевного материала. Объем циркулирующего раствора составлял до 10 л. Исходный рН раствора был или 2,4, или 2,8. Выщелачивающий раствор циркулировал непрерывно со скоростью 25 мл/мин.

В соответствии с увеличением масштабов эксперимента возрастает количество руды в исследуемой пробе, емкость сосудов для сбора и хранения растворов, количество раствора в обороте и т. п. Поскольку масштабы этих опытов резко возрастают в сравнении с поисковыми в стеклянных перколяторах, на их результатах в значительно меньшей степени сказываются случайные факторы. Например, при работе в стеклянном перколяторе потеря 1 мл раствора может значительно отразиться на результате опыта, в укрупненном перколяторе она не может значительно повлиять на результат эксперимента, поскольку ее значение может находиться в пределах точности замера объема раствора или в пределах ошибки анализа.

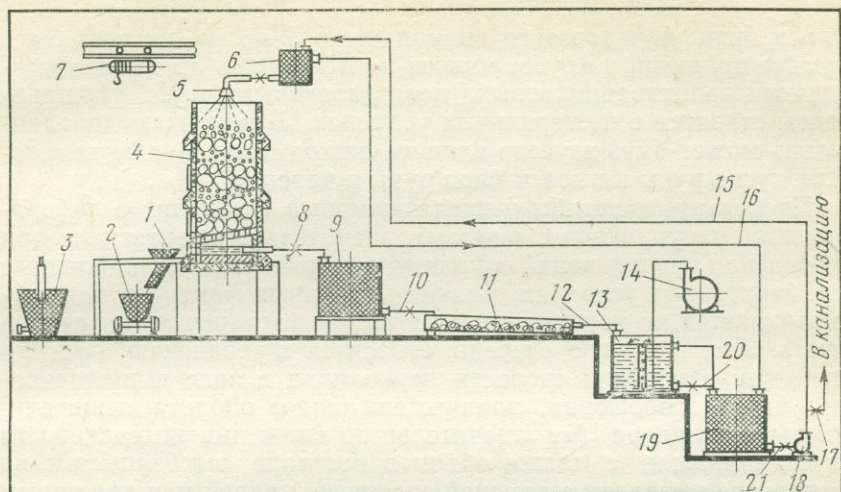
Схема постановки опыта не отличается от вышеприведенной (стр. 117), однако в нее включаются уже все факторы, которые могут быть значимыми при регулировании процесса выщелачивания.

Полупромышленные испытания в колонках

Полупромышленные испытания по выщелачиванию руды могут быть осуществлены в колонках; по своим габаритным размерам воспроизводящим часть отвала или разрушенного рудного тела. Колонка может быть изготовлена из бетона или дерева (в первом случае могут быть использованы железобетонные трубы большого диаметра, во втором — колонки могут быть изготовлены в виде срубов). Вполне приемлемы колонки из нержавеющей стали. Габаритные размеры колонки (ориентировочные); высота 8—10 м, диаметр — 1—1,5 м. Колонка имеет ложное днище, снабжена устройством для загрузки и выгрузки руды, насосом для перекачивания раствора и его разбрызгивания над рудой в колонке, зумфом для сбора раствора от выщелачивания, емкостью — регенератором с 8—10-кратным объемом по отношению к суточному расходу раствора при выщелачивании и воздухоподводкой с расходом сжатого воздуха не менее 2 л/мин на 1 м³ раствора.

Оформление схемы укрупненных испытаний в колонках предусматривает следующие основные узлы и участки (помимо колонок):

- 1) сборник растворов от выщелачивания;
- 2) емкость растворов для бактериальной регенерации окислителя ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$).



Р и с. 12

Принципиальная схема укрупненной установки перколяционного выщелачивания металлов из руды

1 — течка, 2 — вагонетка, 3 — кубель, 4 — перколятор (колонка), 5 — разбрызгиватель, 6 — бак напорный, 7 — тельфер, 8 — сливная труба перколятора, 9 — сборник растворов, 10 — сливная труба, 11 — желоб, или ванна для цементации меди, 12 — сливная труба, 13 — регенератор, 14 — воздуходувка, 15 — нагнетательная линия, 16 — линия перемешивания, 17 — линия слива растворов, 18 — центробежный насос, 19 — бак для сбора регенерированных растворов, 20—21 — линия слива

3) сборник растворов (коллектор) для хранения и распределения регенерированных бактериальных растворов по опытным колонкам;

4) насос для перекачивания регенерированных растворов из сборника в коллектор;

5) трубопроводы: а) соединяющий сборник растворов от выщелачивания с емкостью бактериальной регенерации; б) для перекачивания регенерированного раствора в сборник-коллектор; в) распределяющий растворы из сборника-коллектора в колонки; г) подающий пресную воду к любому из аппаратов (гибкий шланг);

6) воздуходувку с производительностью из расчета 2 л/мин сжатого воздуха на 1 м³ раствора;

7) приспособления для загрузки и разгрузки руды.

Принципиальная схема укрупненной установки изображена на рис. 12.

При монтаже схемы необходимо иметь в виду, что растворы, циркулирующие в системе, являются весьма агрессивными по отношению к обычным материалам (сталь, чугун). Поэтому емкости, чаны, баки должны готовиться из дерева, или гуммиро-

ваться, или футероваться винипластом. Насосы должны быть кислотостойкими, а трубопроводы монтируются из винипластовых или полихлорвиниловых (полиэтиленовых) труб. Эксперименты ставятся в нестерильных условиях. В колонках дополнительно может быть изучено влияние на ход выщелачивания: размера куска руды и высоты слоя руды в колонке.

Поскольку масштабы выщелачивания в сравнении с лабораторными укрупненными опытами значительно возрастают, при проведении исследований в колонках закладываются найденные в лабораторных условиях величины основных факторов и предусматривается их корректировка с учетом увеличения масштабов опыта. Это, в первую очередь, относится к уточнению: расхода раствора, изменения скорости перколяции в ходе выщелачивания, паузы в орошении, количества циклов оборота выщелачивающего раствора без значительного снижения интенсивности выщелачивания, а также объемов раствора, выводящегося на осаждение металлов с заменой его свежей водой или хвостовым раствором после осаждения металла.

Рассмотрим на примере организацию испытаний технологии выщелачивания меди из руды. При изучении влияния крупности куска руды на скорость выщелачивания опыты ставятся в трех колонках (при высоте столба руды 5 м):

колонка № 1	крупность руды	—	30 мм
» № 2	»	»	— 100 »
» № 3	»	»	— 200 »

По рекомендациям Касаткина (1948), диаметр колонки должен в 8 раз и более превышать размер максимального куска руды. В связи с этим колонка № 3 для проведения исследований должна иметь диаметр около 1,5 м.

По результатам лабораторных исследований пауза между двумя очередными орошениями данной руды выбирается оптимальная и задается при проведении исследований на опытной колонке № 5. Колонки № 4 и № 6 являются вариантами изменения паузы в большую и меньшую сторону (например, на 30—60% от оптимальной по данным лабораторных исследований). Крупность материала в колонках — минимальная — 30 мм, обеспечивающая достаточную скорость перколирования и наименьшую продолжительность эксперимента. Высота столба руды — 7 м.

Следующая серия опытов ставится для исследования оптимальной высоты столба руды в колонке (а следовательно, и величины τ — длительности контакта руды и раствора. Эта величина измеряется в часах или сутках). Поскольку колонки № 1 и № 5 отличаются лишь высотой столба руды (соответственно 5 и 7 м), целесообразно ставить лишь один опыт в том же режиме перколирования и с той же крупностью руды (—30 мм), но с высотой столба руды 3 м (колонка № 7).

Количество раствора, проходящее через сечение колонки в единицу времени, определяется скоростью его перколирования через руду определенной крупности, т. е. расход раствора является функцией крупности кусков руды $v = f(d)$ при постоянной для данной руды пористости, где v — объем раствора, л/час; f — значок функции и d — крупность куска, мм.

Очевидно, что с повышением крупности руды скорость перколирования возрастает.

После проведения перечисленных опытов ставится контрольный опыт уже в оптимальных условиях. Этот эксперимент позволяет определить время, необходимое для получения максимально возможного извлечения металла из руды.

Описанный пример постановки опытов не является стандартным и может меняться в зависимости от объекта исследований и других факторов. Так, при получении надежных данных исследований на укрупненных перколяторах с применением матричного планирования достаточно постановки контрольного эксперимента в одной-двух колонках. При исследовании руды, которая будет выщелачиваться в подземных условиях (потери горного производства), нет необходимости ставить опыты в колонках с различной крупностью руды, достаточно ограничиться постановкой эксперимента с крупностью—75 или—100 мм. В случае выщелачивания смешанной руды основное внимание должно быть уделено вопросу циркуляции и регенерации растворов и в соответствии с этим должна быть составлена схема опытов.

Суммарное извлечение при выщелачивании рассчитывается в конце опыта по распределению металлов между раствором и твердым остатком. Расчету предшествует извлечение твердого остатка из перколятора, или из колонки, его сушка, взвешивание, усреднение и опробование. По результатам химического анализа рассчитывается распределение металлов между раствором и твердым остатком от выщелачивания и суммарное извлечение металлов в раствор.

Рациональный анализ твердого остатка с целью определения различных форм соединений меди и цинка позволяет судить о выщелачиваемости каждой из этих форм.

Результаты контрольных опытов по выщелачиванию различных руд в условиях оптимальных параметров технологии помещаются в сводную таблицу.

Калабин (1969) приводит схему фильтрационного лабораторного прибора для изучения параметров подземного выщелачивания металлов из руд. Как отмечает Калабин, при проведении лабораторных опытов необходимо соблюдать следующие условия: 1) образцы руд, извлеченные из рудного тела и предназначенные для опыта, должны иметь ненарушенную структуру; 2) доступ кислорода к фильтрату должен быть исключен. То есть опыты следует проводить в атмосфере инертного газа. Дик-

Сводная таблица результатов контрольных опытов по выщелачиванию руд ряда месторождений в оптимальных условиях.

№№ п. п.	Руда	Содержание в руде, %				Формы соединений, %					
		меди	цинка	железа	серы	меди			цинка		
						сульфат, окислы	вторичные сульфиды	первичные сульфиды	сульфаты	сульфиды	

№№ п. п.	Руда	Длительность выщелачивания, суток	Среднее содержание в растворе, г/л		Извлечено, %		Расход кислоты, кг	
			меди	цинка	меди	цинка	на 1 т руды	на 1 кг меди

туется это тем, что в рудном теле кислород либо отсутствует, либо его мало. Таким путем, по его мнению, можно изучить механизм и кинетику выщелачивания металлов из руд в условиях, наиболее близких к тем, которые имеются в рудном теле.

При изучении влияния кислорода или других газов на скорость выщелачивания металлов из руд выщелачивающие растворы насыщают газом барботажным способом или газ продувают через образцы руды, помещенные в приборе.

Полученные в результате проведенных исследований данные являются исходными для проектирования опытно-промышленных установок кучного и подземного выщелачивания.

Схема Калабина требует еще проработки.

Применение методов математического планирования для выяснения условий бактериального выщелачивания цветных металлов из руд

Поскольку круг изучаемых факторов, оказывающих влияние на бактериальное выщелачивание цветных металлов, велик, применение обычной классической методики исследования связано с большим объемом работы. Действительно, обычный метод ис-

следования связан с фиксированием всех основных факторов на одном уровне и изменением одного фактора в сторону его увеличения или уменьшения. Подобные операции необходимо провести по каждому фактору, затем изучить влияние парных взаимодействий, тройных и т. д. После нахождения оптимальных значений факторов обычно ставится контрольный опыт. Громоздкость такого метода исследования очевидна.

В последние годы приобрели широкий размах исследования с применением методов математического планирования эксперимента. Сущность этого метода заключается в том, что по заранее сформированной программе варьируются одновременно все факторы. Для нахождения оптимальной комбинации выбранных основных факторов применяется метод крутого восхождения, сочетающий метод факторного эксперимента и движение по градиенту.

Практический смысл использования факторного эксперимента состоит в том, что при минимуме числа опытов из них извлекается достаточно большая информация, оцениваются степень влияния на процесс каждого из исследуемых факторов, а также взаимодействия между ними. Этот способ успешно применяется при исследованиях различных бактериальных и других процессов (Максимов, Федоров, 1966; Максимов и др., 1966; Богоров и др., 1965; Федоров и др., 1966; Vox, Wilson, 1951; Плаксина и др., 1966; Плаксин и др., 1967).

Подобные эксперименты по оптимизации условий регенерации сульфата окиси железа *Th. ferrooxidans* были проведены Крючковым и др. (1970). Эксперименты по регенерации сернокислого окисного железа проводились на промышленной воде в стационарных условиях. В целях исследования были выбраны следующие факторы: x_1 — pH, x_2 — KH_2PO_4 (мг/л); x_3 — концентрация клеток *Th. ferrooxidans* в 1 мл; x_4 — концентрация двухвалентного железа (мг/л). Параметром оптимизации (y) в этой задаче служила скорость окисления двухвалентного железа.

При обычной постановке эксперимента каждый фактор испытывается при нескольких значениях, а при использовании факторного эксперимента в первой серии достаточно испробовать каждый из факторов на двух уровнях, значения которых определяются интервалами варьирования. Шаг варьирования должен быть достаточно велик по сравнению с ошибками эксперимента и достаточно мал, чтобы по возможности точно уловить направление движения к оптимальной области. При этом приняты следующие обозначения уровней: (+) — верхний уровень; (—) — нижний уровень.

Для планирования эксперимента была выбрана полуреплика типа 2^{4-1} .

В табл. 13 приведены матрица планирования и результаты вычислений для первой серии опытов. Каждый результат здесь

таблица 13

Матрица планирования эксперимента и результаты вычислений при изучении режима регенерации окислителя*

Показатель	x_1	x_2	x_3	x_4	Средне- суточная скорость окисления Fe^{2+} , мг/л**
Основной уровень	1,9	300	$5,5 \cdot 10^3$	750	129
Интервал варьирования (λ_i)	0,2	100	$4,5 \cdot 10^3$	250	
Опыт					
1	+	-	-	-	161
2	-	+	-	-	136
3	-	-	+	-	179
4	+	+	+	-	187
5	-	-	-	+	164
6	+	+	-	+	178
7	+	-	+	+	203
8	-	+	+	+	192
Коэффициент регрессии (b_i)	+7,25	-1,75	+15,25	+9,25	$b_0 = 175$
$b_i \cdot \lambda_i$	1,45	175	$68 \cdot 10^3$	2313	-
Шаг	0,05	0	$8 \cdot 10^3$	300	-
Новый уровень	1,9	300	10^4	1000	-
Крутое восхождение					
Опыт					
9	1,95	300	$1,8 \cdot 10^4$	1300	243
10	2,00	300	$2,6 \cdot 10^4$	1600	370
11	2,06	300	$3,4 \cdot 10^4$	1900	501
12	2,10	300	$4,2 \cdot 10^4$	2200	602
13	2,15	300	$5 \cdot 10^4$	2500	570

* $\sigma^2 = 27,75$; $\varepsilon = 3,14$; $F_3 = 2,83$; $F_T = 4,35$, где σ — дисперсия.

** Среднее из двух параллельных опытов, рандомизированных во времени.

есть среднее из двух параллельных определений, рандомизированных во времени.

Ведение эксперимента по такой схеме позволяет очень просто производить все вычисления. При этом коэффициенты регрессии определяются независимо друг от друга (что резко сокращает расчеты) с одинаковой и минимальной дисперсией.

По данным эксперимента были получены следующие значения для коэффициентов регрессии и ошибок в их определении: $b_0 = 175$; $b_1 = 7,25$; $b_2 = -1,75$; $b_3 = +15,25$; $b_4 = +9,25$; $\varepsilon = 3,14$, где b_0 — свободный член уравнения линейного приближения (ти-

па $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n$), b_1 , b_2 и т. д. — коэффициенты регрессии при линейных членах и ε — доверительный интервал. Вычисленные коэффициенты регрессии представляют собой качественную и количественную информацию о степени влияния факторов на процесс. Эта информация позволяет рассчитать программу согласованного изменения факторов, по которой практически можно приблизиться наиболее быстрым способом к оптимальной области (произвести так называемое «крутое восхождение»). Значимость коэффициентов определялась путем построения для него доверительного интервала (ε). Если коэффициент регрессии больше вычисленных доверительных границ, данный фактор значим. В нашем случае три фактора оказались значимы (x_1 , x_3 , x_4) и один незначимым. Причинами незначимости фактора могут быть: малые интервалы варьирования или близость уровня данного фактора к оптимальному.

Проверка по критерию Фишера показала, что линейное приближение адекватно и можно проводить крутое восхождение к оптимуму ($F_s = 2,83$; $F_T = 4,35$), где F_s — критерий Фишера, найденный экспериментально, и F_T — критерий Фишера табличный.

Крутое восхождение осуществлялось путем изменения варьируемых факторов на величину единичного шага λ_i . Абсолютные значения единичного шага (округленные) пропорциональны найденным значениям $b_i \cdot \lambda_i$ и оказались равными $+0,1$ для x_1 , $+8 \cdot 10^3$ для x_3 и $+300$ для x_4 . Для незначимого фактора шаг принимается равным нулю. Необходимо отметить, что, исходя из технологических особенностей процесса регенерации, шаг варьирования для x_1 принят равным $0,05$, так как при получении более высоких значений рН сульфат окиси железа будет гидролизовать и препятствовать контакту клеток с источником питания.

В данном случае было поставлено пять опытов в направлении крутого восхождения (табл. 13, опыты 9—13).

Как показывают результаты опытов крутого восхождения, движение по выбранному направлению приводит к увеличению среднесуточной скорости окисления двухвалентного железа по сравнению с исходной скоростью. Уменьшение скорости окисления двухвалентного железа в опыте 13 показывает, что оптимальная область окисления двухвалентного железа пройдена. По-видимому, соотношение факторов в опыте 12 является близким к оптимальному.

Таким образом, в результате крутого восхождения скорость окисления двухвалентного железа в опыте 12 по сравнению с исходной скоростью увеличилась почти в 5 раз.

Было решено поставить вторую серию опытов, приняв за нулевой уровень условия опыта 12 из серии крутого восхождения. Концентрация клеток была задана $5,5 \cdot 10^4$ для удобства расчета и внесения инокулята. В этой матрице с учетом полученных в

первой серии данных о незначимости коэффициента регрессии по x_2 был увеличен интервал варьирования по этому фактору, для x_1 — оставлен прежним, а для x_3 и x_4 увеличен так, чтобы варьирование этих переменных производилось в границах, обеспечивающих нормальное протекание процесса.

таблица 14.

Планирование экспериментов во второй серии опытов *

Показатель	x_1	x_2	x_3	x_4	Среднесуточная скорость окисления Fe^2 , мг/л **
Основной уровень	2,1	300	$5,5 \cdot 10^4$	2200	
Интервал варьирования (λ_i)	0,2	150	$4,5 \cdot 10^4$	400	

Матрица планирования эксперимента

Опыт					
1	—	—	—	—	512
2	+	+	—	—	532
3	+	—	+	—	615
4	+	—	—	+	501
5	—	+	+	—	526
6	—	+	—	+	494
7	—	—	+	+	582
8	+	+	+	+	609
b_i	+17,8	-6,1	+36,8	+0,1	$b_0 = 546,$

* $\delta^2 = 114$; $\varepsilon = 7,1$; $F_9 = 11,1$; $F_T = 4,35$.

** Среднее из двух параллельных опытов, рандомизированных во времени.

В табл. 14 приведена матрица планирования и результаты вычислений второй серии опытов. В этой серии опытов критерий Фишера оказался больше приводимого табличного, а среднесуточная скорость окисления железа в большинстве опытов не превышала исходной опыта 12; процесс находится в области, близкой к оптимальной.

Дальнейшее математическое описание этой области нецелесообразно в связи с тем, что опыты проводились в лабораторных условиях. Непосредственного интереса точное описание околооптимальной области в этих условиях не представляет. В регенераторе (в полупромышленных условиях) процесс будет происходить при дополнительной аэрации, и соотношение уровней фак-

горов может измениться. В частности, как показали результаты последовавших полупромышленных исследований регенерации выщелачивающего раствора, оптимальным значением однозамещенного фосфата является 100—150 мг/л.

Таким образом, используя метод активного планирования, удалось, проведя 21 опыт, оптимизировать условия культивирования *Th. ferrooxidans*, что позволило увеличить скорость окисления двухвалентного железа в 2,5 раза по сравнению со скоростью окисления на среде Летена.

Аналогичным образом строятся матрицы и проводятся эксперименты в технологических опытах по выщелачиванию. В этом случае в матрицы закладываются изучаемые факторы (расход раствора, пауза в орошении, количество циклов в обороте и т. д.). Параметром оптимизации при этом (y) является абсолютное количество меди, перешедшее в раствор, или извлечение в процентах от исходного содержания в навеске. Одна из положительных сторон факторного эксперимента заключается в том, что при постановке полной реплики по всем значимым факторам отпадает необходимость постановки контрольного эксперимента. Учитывая то, что одна серия опыта по выщелачиванию занимает несколько месяцев, становится очевидным преимущество этого способа перед классическим методом исследования.

Рассмотрим пример технологического исследования, проведенного на пробах руд Левихинского и Коунрадского месторождений (Голомзик и др., 1971). В соответствии с данными анализов проб этих руд отмечается высокое содержание компонентов пустой породы, количество которых достигает 68%. Содержание меди в левихинской руде составляло 0,81%, цинка — 0,46%. Медь на 88,2% (относительных) была представлена первичными сульфидами. Содержание меди в коунрадской руде — 0,43%, которая на 69,8% (относительных) представлена вторичными сульфидами. Руда, измельченная до $-10 + 0$ мм, загружалась в перколяторы с рабочей емкостью 19,6 л; навеска руды составляла 20 кг на перколятор.

В первой серии опытов была реализована матрица типа 2³ (табл. 15). Длительность эксперимента составляла 60 суток. Данные извлечения металлов в раствор подверглись статистической обработке.

Для Левихинской руды определены следующие величины коэффициентов и критериев: коэффициент регрессии (b_i) соответственно факторам x_1 , x_2 , x_3 : (+)19,75; (—)8,9; (+)22,0 — по меди и (+)14,5; (—)8,7; (+)17,8 — по цинку; b_0 : 44,47 — по меди, 49,1 — по цинку; дисперсия (σ^2): 110,98 — по меди, 119,96 — по цинку; доверительный интервал (ϵ) — по меди 6,25, по цинку — 6,53; опытное значение критерия Фишера (F_s — по меди 3,6, по цинку — 1,1; табличное значение критерия Фишера (F_T) — 5,19.

таблица 15.

Матрица планирования и результаты эксперимента в первой серии*

Показатель	Фактор			Извлечение меди в раствор, мг/сутки	Извлечение цинка в раствор, мг/сутки**
	x_1 — расход раствора, л/т руды	x_2 — пауза в орошении, сутки	x_3 — количество заменяемого раствора, %		
Основной уровень	50	6	40	48,0 <hr/> 245	60,2
	$\overline{50}$	$\overline{6}$	$\overline{40}$		
Интервал варьирования (λ_i)	30	4	25	—	—
	$\overline{30}$	$\overline{4}$	$\overline{25}$		
Верхний уровень	80	10	65	—	—
	$\overline{80}$	$\overline{10}$	$\overline{65}$		
Нижний уровень	20	2	15	—	—
	$\overline{20}$	$\overline{2}$	$\overline{15}$		

Матрицы планирования экспериментов

Опыт	x_1	x_2	x_3	Изм. меди	Изм. цинка
1	20	2	65	50,5	57,2
	$\overline{20}$	$\overline{2}$	$\overline{65}$	$\overline{286}$	
2	80	2	15	47,5	51,5
	$\overline{80}$	$\overline{2}$	$\overline{15}$	$\overline{245}$	
3	20	10	15	7,0	16,7
	$\overline{20}$	$\overline{8}$	$\overline{15}$	$\overline{41}$	
4	80	10	65	91,0	78,4
	$\overline{80}$	$\overline{8}$	$\overline{65}$	$\overline{325}$	
5	20	2	15	16,2	27,5
	$\overline{20}$	$\overline{2}$	$\overline{15}$	$\overline{82}$	
6	80	2	65	99,2	95,4
	$\overline{80}$	$\overline{2}$	$\overline{65}$	$\overline{552}$	
7	20	10	65	25,2	37,1
	$\overline{20}$	$\overline{8}$	$\overline{65}$	$\overline{143}$	
8	80	10	15	19,2	29,5
	$\overline{80}$	$\overline{8}$	$\overline{15}$	$\overline{102}$	

*** Числитель — значения факторов и результаты извлечения металлов в раствор для левихинской руды, знаменатель — для коунрадской.

Извлечение цинка учтено только для левихинской руды.

Для Коунрадской руды: b_i — соответственно факторам x_1, x_2, x_3 : (+)0,084; (—)0,069; (+)0,104; b_0 — 222; σ^2 — 0,0011; ε — 0,02; F_3 — 6,4; F_T — 5,19.

Таким образом, статистическая обработка результатов эксперимента показывает, что все факторы, подвергнутые оптимизации, значимы, так как абсолютная величина доверительного ин-

тервала, вычисленного при надежности оценки $P = 0,95$, менее коэффициента регрессии каждого фактора. Знаки коэффициентов регрессии указывают направление изменения каждого фактора. Применительно к нашим опытам это выразится в увеличении расхода раствора на орошение, сокращении паузы и выводе большего количества выщелачивающего раствора из оборота.

Критерий Фишера позволяет оценить в какой области находится процесс в направлении к оптимуму. В опытах с левихинской рудой $F_э < F_т$, что означает необходимость проведения «крутого восхождения» — второй серии опытов по направлению к оптимуму.

В опытах с коунрадской рудой $F_э > F_т$, можно предположить близость исследуемой области к оптимуму. С целью уточнения оптимальных величин факторов, на коунрадской руде проведена вторая серия опытов, программа которой рассчитана на основе информации коэффициентов регрессии.

таблица 16.

Матрица планирования и результаты эксперимента во второй серии

Показатель	Фактор			Среднесуточное извлечение металлов в раствор, мг	
	x_1	x_2	x_3	меди	цинка
Левихинская руда					
$b_i \cdot \lambda_i$					
по меди	592	35,6	550	—	—
по цинку	435	34,8	445	—	—
Шаг					
по меди	11,8	0,8	11,0		
по цинку	8,7	0,8	9,0		
Усредненный шаг	10,0	0,8	10,0		
Новый основной уровень	50	6	40	32,5	150
Опыт					
9	60	5	50	58,0	206
10	70	4	60	65,7	224
11	80	4	70	67,7	248
Коунрадская руда					
$b_i \cdot \lambda_i$					
Шаг	2,5	0,2	2,6		
Новый основной уровень	50	5	40	208	—
Опыт					
12	60	4	50	397	—
13	65	4	55	437	—
14	70	3	60	420	—

За основной уровень при постановке второй серии опытов для обеих руд приняты уровни, возле которых поставлены матрицы планирования. Длительность второй серии 60 суток. Рассчитанные величины факторов, а также результаты извлечения металлов в раствор приведены в табл. 16. Для удобства проведения эксперимента пауза между орошениями округлена до целых величин (опыты 9—14).

Из табл. 16 видно, что оптимальными вариантами являются опыты 10 для левихинской руды и 12 — для коунрадской, так как последующие опыты дают либо незначительное увеличение скорости извлечения металлов в раствор (левихинская руда), либо совсем его не дают (коунрадская руда).

В результате оптимизации факторов процесс выщелачивания резко интенсифицировался: для левихинской руды это выразилось в увеличении скорости извлечения меди в раствор в 2 раза, а цинка — в 1,5 (опыты 10, 11) по сравнению с основным уровнем; для коунрадской руды скорость извлечения меди в раствор увеличилась более, чем в 2 раза (опыты 12, 13).

Постановка последующих серий опытов в лабораторных условиях для точного описания околооптимальной области нецелесообразна, так как найденные величины основных факторов вполне определяют область их оптимума и могут быть рекомендованы для проверки в полупромышленных условиях.

Следует отметить, что в конце эксперимента с левихинской рудой скорость извлечения металлов в раствор упала. Этот факт объясняется тем, что большинство вторичных сульфидов меди было переведено в раствор, что подтверждают анализы остатков от выщелачивания, а оставшиеся в руде первичные сульфиды меди требуют корректировки режима выщелачивания и постановки новой матрицы планирования.

Оптимизация трех факторов позволила не только увеличить скорость извлечения металлов в раствор, но также оказала благоприятное влияние на процесс в целом. Это положение подтверждается улучшением по сравнению с основным уровнем некоторых показателей состава растворов от выщелачивания (табл. 17), используемых впоследствии как на орошение, так и для дальнейшего процесса переработки.

Растворы, содержащие высокие концентрации железа (основные уровни для обеих руд), мало пригодны для выщелачивания, так как существует опасность выпадения гидратов железа и закупорки каналов между кусками руды, а чрезмерно высокая кислотность растворов резко снижает количество микроорганизмов (левихинская руда, основной уровень): при переработке таких растворов цементацией увеличивается расход скрапа.

Таким образом, применение метода Бокса — Уилсона для оптимизации процесса выщелачивания позволило увеличить скорость извлечения меди в раствор в 2 раза, цинка — в 1,5 раза,

таблица 17.

Сравнительные результаты выщелачивания руд

Показатель	Левихинская руда		Коунрадская руда	
	основной уровень	опыт 10	основной уровень	опыт 12
Режим выщелачивания				
расход раствора, л/т руды	50	70	50	65
пауза между орошениями, сутки	6	4	5	4
количество заменяемого раствора, %	40	60	40	55
Среднесуточное извлечение металлов				
меди, мг	32,5	65,7	208	437
цинка, мг	150	224	—	—
Состав растворов от выщелачивания				
железо, г/л	25	9,6	5,0	2,7
медь, г/л	0,57	0,56	3,2	2,2
pH	1,3	1,5	1,65	1,8
микрофлора, клеток/мл	$2,0 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^7$
Окислительно-восстановительный потенциал, ед. гН ₂	23,7	23,3	23,7	23,3

а также получить качественные растворы, пригодные для их дальнейшего использования. Эксперимент позволил также установить, что наличие в рудах различных минеральных форм извлекаемых металлов (окислы, вторичные сульфиды, первичные сульфиды) ведет к необходимости оптимизации процесса на стадии выщелачивания каждой из этих форм.

Все вышеизложенные данные были получены за сравнительно короткий срок (чистый эксперимент занял 120 дней), недостижимый при классическом методе исследования.

Найденная оптимальная комбинация факторов закладывается в испытание полупромышленного масштаба.

Разработка бактериального способа выщелачивания цветных металлов в чанах

Чановое выщелачивание цветных металлов из руд обладает рядом преимуществ перед другими способами, как, например, перколяционным. Во-первых, при чановом выщелачивании может быть достигнута значительно большая скорость извлечения цветных металлов. Это достигается благодаря тонкому измельчению руды, созданию интенсивной аэрации и другим факторам, которые могут быть заданы оператором. Во-вторых, процесс чанового выщелачивания может быть полностью автоматизирован.

Укрупненные опыты по выщелачиванию меди из халькопиритного концентрата и цинка из цинковой руды были проведены в Канаде в танках (Duncan et al., 1967). Танк представлял собой цилиндр высотой 60 см и диаметром 30 см, в который заливали 40 л раствора и добавляли руду. Аэрация и перемешивание суспензии осуществлялись с помощью мешалки при 1650 об/мин и сжатого воздуха. В опытах использовали 800 г халькопиритного концентрата (2% пульпа), измельченного до —325 меш и 300 мл посевного материала, выращенного на том же концентрате. Начальный рН раствора пульпы равнялся 2,8. Скорость извлечения меди после 65-часовой лаг-фазы составляла 53 мг/л меди в час, концентрация меди в растворе за 5 суток — 2,5 г/л.

Выщелачивание цинка из навески руды 1600 г проводили в танке, в который добавляли 40 л раствора и 200 мл посевного материала. Бактерии предварительно выращены на цинковой руде. Начальный рН был 2,5. Несмотря на повышенное содержание оснований в руде, добавления серной кислоты не требовалось уже после 6 дней опыта. Максимальная скорость извлечения цинка была 14 мг/л/час. Конечная концентрация цинка и железа после 35 суток была 6,2 и 3,0 г/л соответственно. Эти показатели скорости выщелачивания металлов все же значительно ниже, чем в опытах с использованием качалок.

Однако последующие работы Торма и др. (Torma et al., 1970) (гл. 4 и 5) показали, что цинк успешно выщелачивается из плотных пульп (16% твердого), что очень важно для технологии чанового выщелачивания этого металла. Более перспективной для выщелачивания металлов из руд является система противоточной декантации. Эта схема, предложенная для выщелачивания урана Горным бюро в Канаде, позволяет не только получать урансодержащий раствор, но и осуществлять одновременно с операцией выщелачивания разделение твердого от жидкого (рис. 13) (Mc Greedy et al., 1969). Исследование этой схемы проводили на руде текущей добычи одного из рудников в районе озера Эллиот (Эллиот-Лейк). Состав руды (в %) — U_3O_8 — 0,089, железа — 3,10, серы — 2,27. Сера представлена в основном пиритом и отчасти пирроотином. Материал тонко измельчали, 65% руды составляли фракцию 74 мк.

Осуществляли шестисуточную систему противоточной декантации с применением градуированных цилиндров емкостью 2 л, которые имитировали сгустители промышленного масштаба. Использовали также сосуды, в которых приготавливали бактериальный раствор сульфата окиси железа (среда 9К). Температуру поддерживали при 32°. Воздух, используемый для аэрации, прогревали и насыщали водяным паром, чтобы избежать испарения среды.

Свежая руда загружалась в первую ступень (а), а остаток после выщелачивания выводился в шестой ступени (е). Свежий

бактериальный раствор с полностью окисленным железом поступал в шестую ступень, а насыщенный урансодержащий раствор выводился из первой ступени. В каждой ступени пульпа кратко- временно перемешивалась (30% твердого) и затем отстаивалась. Через каждые 24 часа верхний слой раствора удалялся и подавался в предыдущую ступень, а осадок (60% твердого) перемещался на одну ступень в противоположном направлении. Общее время выщелачивания составляло 144 час. Серную кислоту добавляли только для приготовления бактериального раствора (шестая ступень).

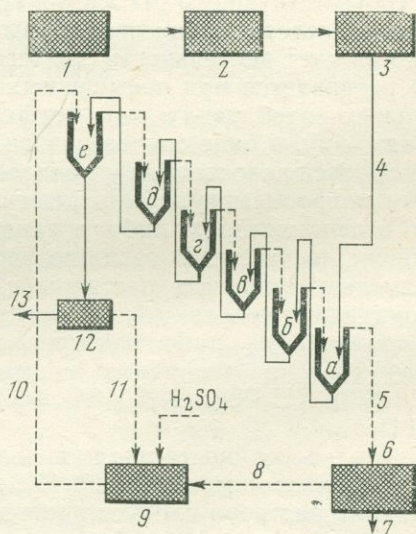
Каждый осадок после выщелачивания двукратно промывался разбавленной серной кислотой и один раз водой и анализировался на уран. Основная роль *Th. ferrooxidans* в этом процессе заключалась в регенерации $Fe_2(SO_4)_3$ и поддержании высокого окислительно-восстановительного потенциала. Работу по этой схеме проводили непрерывно около 10 недель. Было показано, что процесс выщелачивания происходил лучше при pH 1,5—1,6. Так, при снижении pH свежего раствора от 2,0 до 1,6 извлечение урана за 6 дней увеличилось с 84,6 до 91,1%.

Мак Греди и др. отмечают, что полунепрерывное кислотное выщелачивание по методу противоточной декантации при pH 1,6 с использованием бактерий для ускорения требующейся реакции

Рис. 13

Предполагаемая технологическая схема для выщелачивания руды Эллиот-Лейк с помощью бактерий (Mc Greedy et al., 1969)

- 1 — урановая руда для кислотного выщелачивания,
- 2 — измельчение и классификация в воде,
- 3 — нейтральное сгущение и фильтрация,
- 4 — влажный осадок с фильтра,
- 5 — насыщенный раствор,
- 6 — извлечение урана (методом ионного обмена или методом жидкостной экстракции),
- 7 — урановый продукт,
- 8 — раствор после извлечения из него урана,
- 9 — аэратор, продолжительность аэрации от 24 до 48 час.,
- 10 — бактериальный раствор $Fe_2(SO_4)_3$,
- 11 — фильтрат,
- 12 — фильтр,
- 13 — влажный осадок с фильтра в отвал,
- а — е — чаны



окисления с химической и технологической точек зрения осуществимо.

Отмечается, что нужно использовать рециркуляцию раствора после удаления из него урана. Это позволит снизить расход солей для приготовления бактериальной среды. Показано также, что раствор после операции ионного обмена является благоприятной средой для бактерий.

Можно полагать, что в основных своих чертах эта схема может быть применена и для выщелачивания металлов из медно-никелевых и других концентратов, а также для очистки оловянных концентратов от мышьяка. Перспективной является также прямоточная схема выщелачивания.

Как отмечалось выше, при непрерывном окислении FeSO_4 *Th. ferrooxidans* скорость этого процесса может быть повышена в 500 000 раз по сравнению с химическим окислением Fe^{2+} .

Мос и Андерсон (Moss, Anderson, 1968) приводят также расчеты по бактериальному выщелачиванию металлов из сульфидных минералов в непрерывной культуре.

Каков должен быть режим регенерационной установки?

Чрезвычайно большое значение при кучном и подземном выщелачивании меди имеет быстрое окисление серноокислого закисного железа в регенерационной установке. Как известно, растворы, выходящие из цементационной установки, имеют кислую реакцию, соответствующую рН 2,5—3. При этой реакции серноокислое закисное железо экономически выгодно может быть окислено только за счет деятельности *Th. ferrooxidans*. Этот организм хорошо развивается при повышенных температурах и наличии питательных солей таких, как фосфаты и серноокислый аммоний. По-видимому, в ряде случаев развитие этих бактерий может лимитироваться недостатком углекислоты.

Эти вопросы могут быть решены путем постановки опытов либо в перколяторах, либо в чанах с продувкой воздуха, что обеспечит достаточную аэрацию растворов. Только вместо руды в них следует вносить растворы из цементационной установки или рудничные (головные) растворы, содержащие либо автохтонную микрофлору, либо бактерии, которые добавляются извне. Кроме того, в различные варианты опыта вносятся соли: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ и соли среды Летена (№ 11).

Длительность опыта около недели.

Опыты проводятся при 10°, 15°, 20°, 25° С.

Анализ раствора следует проводить один раз в сутки, а если понадобится, то и чаще. Анализируются рН, железо окисное и закисное и численность *Th. ferrooxidans*.

ОБСЛЕДОВАНИЕ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ДЛЯ ОБОСНОВАНИЯ КУЧНОГО И ПОДЗЕМНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ

Основные требования (критерии) к рудным месторождениям, пригодным для подземного выщелачивания, подробно изложены в книге Калабина (1969), поэтому в настоящей главе мы остановимся только на основных из них.

Для организации выщелачивания металлов необходимо иметь представление об объекте, на котором предполагается организация этого процесса. Поэтому предварительно или параллельно с проведением исследований по выщелачиванию проб руды проводится обследование месторождения для определения технической возможности и экономической целесообразности выщелачивания.

Основные вопросы, подлежащие изучению при обследовании месторождения

Обследуемое месторождение может представлять:

- 1) руды, не тронутые горными работами;
- 2) руды, частично или полностью отработанные горными работами;
- 3) забалансовые руды в отвалах.

Изучение **экономико-географической** обстановки позволяет составить сводку о географическом положении месторождения (потерянных, отвальных рудах), климате, растительности, орографии, о характере промышленности в районе месторождения и энерговодоснабжении, наличии и состоянии дорог и транспорта, населенности и жилищно-бытовой обстановке.

Установление запасов металла (компонентов, которые могут быть извлечены при выщелачивании) производится на основании данных маркшейдерского учета запасов в месторождении. Запасы, потерянные при горной добыче руд, составляют от 5 до 20% от общих балансовых запасов (Кузнецов и др., 1962). Если выщелачиванию будет подвергаться участок действующего

месторождения, сводка должна содержать данные о перспективах потерь рудной массы и металлов в ней при последующей отработке месторождения.

Горно-геологическое описание содержит данные о строении месторождения, простираении, углах падения и условиях залегания рудных тел, их происхождении и метаморфизме, о вмещающих породах, структурно-текстурных особенностях и минералогическом составе руд и вмещающих пород, химическом составе руд и рациональном составе по основным рудным компонентам (медь, сера и т. п.).

Гидро-геологическая характеристика дает картину о водообильности месторождения в целом и по отдельным участкам (горизонтам, линзам и т. п.), о водопроницаемости руд и вмещающих пород, химическом составе и жесткости вод.

Горно-техническая характеристика включает разведанность месторождения, состояние балансовых и забалансовых запасов руды, их отработанность, мощность рудных тел, применявшиеся системы разработок при горной добыче (слоевое, массовое обрушение, подэтажные штреки и т. п.), степень разрушенности рудного тела в различных участках, принятый и прогнозируемый процент потерь, системы противопожарных мер (закладка, заиливание) и соответствующий процент или объем заиленного или заложенного пространства и мест сосредоточения их, физико-технологические свойства руд и вмещающих пород (влажность, объемный вес, пористость).

Описание инженерно-технических сооружений рудника включает наличие и состояние шахтных стволов (рудовыдачных, вентиляционных), полевых (рудных) штреков или восстающих, состояние водоотлива, вентиляции, осадительной (цементационной) установки и очистных сооружений, энергопитания.

Составление технико-экономического обоснования выщелачивания

В результате анализа материалов, полученных при обследовании месторождения, а также лабораторных, выдаются рекомендации и конкретные исходные данные для составления технико-экономического обоснования (ТЭО). При этом также используются материалы технологических исследований выщелачивания проб руды данного месторождения.

Рассмотрим отдельные примеры проработки полученных материалов в ТЭО.

На основании данных обследования рудного тела по профилям определяются: среднее сечение, максимальные раздувы и выклинивания рудного тела на отдельных участках, а также намечаются, в соответствии с углами падения и профилем рудного

тела, конусы орошения руд по вертикали и количество скважин, необходимое для орошения рудного тела. По возможности используются воронки и трещины в обрушении. По разрезам рудного тела определяются общая длина скважин и объем работ по бурению. Разбивка сетки скважин на поверхности производится в шахматном порядке с таким расчетом, чтобы расстояние между скважинами не выходило за пределы величины диаметра орошающего подземного потока (Ивакин, 1947). Правильное распределение скважин позволяет организовать равномерное орошение рудного тела. На рис. 14 приводятся два варианта подготовки участка к орошению, один из которых является правильным, другой — неудовлетворителен с точки зрения организации орошения руды. Отдельно составляется карта разбуривания массивных участков и блоков (охранные целики и т. п.), которые требуют для своей подготовки к выщелачиванию дробления.

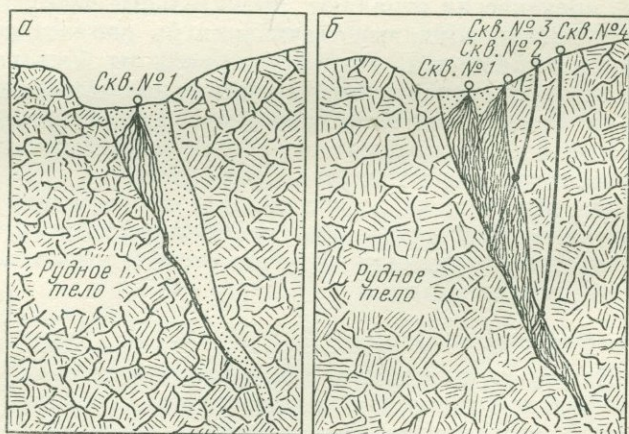
Чрезвычайно важным является вопрос о характере и состоянии лежащего и висячего боков, заключающих рудное тело. Обеспечение целостности, кислотоупорности и водонепроницаемости их, особенно лежащего бока, гарантирует минимум потерь богатых растворов, отходящих от выщелачиваемого участка. Этот же вопрос непроницаемости площадки для выщелачивающих растворов один из первостепенных и при подготовке к выщелачиванию металлов из руд в отвалах.

При организации выщелачивания на месторождении, где ведутся горные работы, необходима изоляция участка выщелачи-

Рис. 14

Разрез рудного тела по одному из профилей

а — орошение из одной точки неудовлетворительно: конус орошения охватывает лишь часть руды; б — орошение из нескольких точек, охватывает все рудное тело



вания от остальной части месторождения бетонными перемышками. При проведении выщелачивания меди на колчеданных месторождениях могут произойти колчеданные пожары, в результате которых в воздух выделяются сернистый газ, поэтому необходимо предусмотреть вентиляцию или изоляцию выработок, чтобы не допустить загрязнения воздуха в соседних участках, где ведутся горные работы.

Проведение принудительного выщелачивания металлов через скважины увеличит дебит рудничных растворов, поэтому мощность действующих насосов рудничного водоотлива должна быть рассчитана на количество растворов естественного притока и растворов, закачиваемых в рудное тело при выщелачивании металлов. При выщелачивании нередко устанавливается несколько дополнительных насосов для откачивания растворов на поверхность, на осадительную установку (Барабоскин, 1941).

Одновременно рассматривается достаточность существующих выработок (штреков, квершлагов) для транспортировки растворов от зоны выщелачивания к зумпфам перекачивания их на поверхность. В случае необходимости, для этой цели закладываются дополнительные выработки.

В комплекс подготовительных работ должен войти и вопрос о водоснабжении, особенно при проведении кучного выщелачивания, когда потери воды за счет испарения открытой поверхностью отвала, особенно в условиях жаркого лета, весьма значительны — до 15% и выше (Барабоскин, 1941).

Организация подземного или кучного выщелачивания на предприятии, ведущем горные работы и имеющем цех или участок переработки рудничных вод естественного притока, значительно упрощается, так как такие вопросы, как энергоснабжение установки по выщелачиванию металлов, обеспечение рабочей силой, снабжение необходимыми материалами и оборудованием и т. п., практически отпадают. Значительные затруднения может вызвать организация выщелачивания на полностью отработанном месторождении. В этом случае должны быть решены некоторые вопросы, требующие значительных дополнительных затрат, например, восстановление шахтных стволов, откачивание вод из затопленных горных выработок, восстановление или сооружение цементационных установок и т. п.

Таким образом, на основе анализа и обобщения материалов обследования месторождения или отвалов руд и изучения технологии их выщелачивания получаем необходимые для составления ТЭО исходные данные.

По горно-технической части

- 1) Запасы руды и количество металла в ней;
- 2) физико-химическая характеристика руды (удельный и объемный вес; пористость; гранулометрический состав, химсо-

став и т. п.), минералогический и рациональный состав ее, а также пород лежащего и всячего боков;

3) план и разрезы рудного тела, генплан;

4) объем дополнительных подземных работ (проведение дополнительных штреков или восстающих, дробление целиков взрывами, бурение скважин, установка насосов, изоляция участков, вентиляция и т. п.);

5) карта участка, на котором закладываются скважины с учетом максимального охвата рудного тела конусами орошения;

6) данные о подготовке площадки для отсыпки отвала (в варианте кучного выщелачивания);

7) сведения о необходимых габаритах отвала (при кучном выщелачивании), о сети каналов в основании отвала для дренажа перколирующих растворов и вентиляционных труб;

8) объем работ по подготовке руды к отсыпке отвала (транспортировка, классифицирование, додрабливание и т. п.).

По технологической схеме

1) Суточное количество растворов, регенерированных с помощью бактерий и используемых для орошения рудного тела, промывочных вод (при необходимости), которые используются для смыва образовавшихся продуктов окисления;

2) количество и состав растворов, поступающих на регенерацию в бактериальный прудок-регенератор, растворов, выходящих из бактериального прудка-регенератора, дренажных растворов, отходящих от участка орошения, хвостовых растворов после осаждения меди и промывочных растворов. Во всех этих растворах учитываются рН, содержание закисного и окисного железа, меди, цинка, кислорода, клеток бактерий, температура;

3) расход сжатого воздуха на дополнительную аэрацию при бактериальной регенерации сернокислого окисного железа;

4) продолжительность регенерации растворителя;

5) расход кислоты на подкисление растворов, используемых для орошения рудного тела;

6) исходя из п. 4, рассчитывается объем пруда-регенератора и его размеры;

7) даются рекомендации по конструированию прудка-регенератора (затенение и теплоизоляция для работы в зимнее время, материалы, конструкция аэратора, система подогрева раствора — при необходимости);

8) определяется (ориентировочно) производительность установки по продукции меди (по цементной меди). Ориентировочно определяется длительность эксплуатации участка или кучи;

9) определяется оптимальная пауза между двумя очередными орошениями участка или отвала;

10) даются рекомендации по контролю и регулированию температуры в выщелачиваемой руде;

11) составляется схема распределения растворов на участке выщелачивания с помощью трубопроводов, система перекачивания растворов;

12) даются характеристика и рекомендации по материалам трубопроводов коллекторов, делителей растворов, запорной и дросселирующей аппаратуры и т. п.

13) даются рекомендации по реконструкции действующей цементационной установки или по строительству новой установки в случае ее отсутствия на руднике. Этот узел установки является очень важным и требует тщательной проработки. Так, например, содержание извлекаемого металла при интенсифицированном принудительном выщелачивании может возрасти в несколько раз и существующая осадительная установка не в состоянии будет обеспечить полное выделение металла из поступающего на установку раствора.

Рекомендации по штату обслуживающего персонала

Примерный состав по обслуживанию установки производительностью 1000 т цементной меди в год: инженер-технолог — один, лаборант-микробиолог — один, рабочие на регенераторе и на участке орошения по два в смену, механик — один. Отдельно предусматриваются штаты на установке по осадению металлов.

Технико-экономический расчет

По вышеприведенным данным делается укрупненный технико-экономический расчет рентабельности метода бактериального выщелачивания применительно к конкретному объекту.

Ниже приводится взятый произвольно пример проведения предпроектной технико-экономической оценки целесообразности организации подземного выщелачивания руд в участке месторождения.

Допустим, что данный отработанный участок содержит 9000 т меди в 433 000 т потерянных руд и находится на значительном удалении от остальной части месторождения. В результате обследования указанного участка месторождения установлено, что организация выщелачивания на нем может быть перспективной вследствие:

- 1) достаточных запасов меди в потерянных рудах;
- 2) наличия надшахтных сооружений, водоотлива, вентиляции,

вспомогательных цехов, силовых установок, электроэнергетики, цементационной и нейтрализационной установок, кадров рабочих и ИТР, благоустроенного поселка;

3) благоприятного состава руд и положительных результатов исследований по выщелачиванию.

По результатам обследования или расчетов были приняты следующие исходные данные (все цифры взяты произвольно без привязки к конкретному объекту).

Количество руды	433 000 т
Количество меди в ней	9000 т
Среднегодовое извлечение меди при выщелачивании в раствор	10%
Извлечение меди из растворов	90%
Содержание меди в цементной меди	75%
Среднегодовое производство меди	810 т
Среднегодовое производство цементной меди	1080 т
Срок эксплуатации установки	7 лет
Количество скважин для орошения	140
Общая длина скважин, определенная по сетке бурения и по профилям рудного тела	9890 погон. м
Сетка бурения скважин	(10×10) — (15×15) м.
Удельный расход выщелачивающего раствора 60 л/т руды, в среднем за сутки пауза в орошении	15 суток
Количество растворов, идущих на цементацию	1200 м ³ /сутки
Естественный приток рудничных растворов	1200 м ³ /сутки
Содержание в них, г/л	
меди	0,25
цинка	0,25
железа общего	1,2
Кислотность (рН)	2,5
Количество раствора, поступающего на орошение	1732 м ³ /сутки
Количество раствора, поступающего в головной отстойник	2932 м ³ /сутки
Количество раствора, подаваемого в одну скважину	186 м ³ /сутки
Длительность работы одной скважины	12,4 часа/сутки
Расход раствора на одну скважину	15 м ³ /час
Состав раствора перед отстаиванием и цементацией, г/л:	
меди	2,25
цинка	1,02
железа закисного	1,5
железа окисного	1,0
твердого (ила)	1,1
Кислотность (рН)	2,0

таблица 18.

Расчет капитальных затрат

Статья затрат	Всего, тыс. руб.	В том числе, тыс. руб. на	
		выщелачивание	осаждение меди
Горно-капитальные работы	301,0	301,0	—
Надшахтные сооружения	—	—	—
Водоотлив	—	—	—
Реконструкция желобов цементации	60,0	—	60,0
Отделение сгущения и сушки меди			
а) здание	30,0	—	30,0
б) оборудование	6,0	—	6,0
в) прочие	30,0	—	30,0
Эстакады трубопроводов	156,4	156,4	—
Реконструкция головного прудка с насосной установкой	15,0	4,0	11,0
Пруд-регенератор	56,4	56,4	—
Насосная	1,6	1,6	—
Реконструкция станции нейтрализации	50,0	25,0	25,0
Прочие	55,0	27,5	27,5
Итого	761,4	571,9	189,5

В качестве пояснения к табл. 18 следует заметить, что горно-капитальные работы включают лишь расходы на бурение орошающих скважин и прокладку перепускных трубопроводов. Затраты на рыхление рудной массы (проходка и восстановление горных выработок, взрывание и т. п.) в данном случае не предусматриваются, поскольку, как показало обследование, руды, находящиеся в обрушенном пространстве, раздроблены и дополнительного разрушения не требуют. Водоотлив обеспечивает откачку дополнительного притока выщелачивающих растворов и реконструкции не подлежит. Цементационная установка, головной прудок и станция нейтрализации подлежат реконструкции вследствие увеличения объема растворов и содержания компонентов в них.

Исходя из принятой технологической схемы, расходных коэффициентов, штатного расписания и т. п., делается расчет эксплуатационных расходов по статьям и суммарных эксплуатационных затрат (табл. 19).

Как показали исследования, проведенные на многочисленных медно-колчеданных месторождениях, подкисления выщелачивающих растворов не требуется, так как руда содержит боль-

таблица 19.

Расчет эксплуатационных расходов

Статья затрат в единицах измерения	Цена, руб.	Выщелачивание меди		Осаждение меди		Всего расходов, тыс. руб.
		количественные показатели	сумма расходов, тыс. руб.	количественные показатели	сумма расходов, тыс. руб.	
1. Материалы						
Серная кислота, т	16—75	—	—	—	—	—
Железный скрап, т	28—10	—	—	1980	55,6	55,6
2. Топливо						
Мазут, т	26—80	—	—	92	2,5	2,5
3. Электроэнергия, тыс./квт	13—80	525	7,3	550	7,6	14,9
4. Зарплата с начислениями, тыс. руб.	—	—	6,8	—	33,2	40,0
5. Цеховые расходы						
содержание цехового персонала, тыс. руб.	—	—	1,0	—	5,1	6,1
амортизация	—	—	81,7	—	27,1	108,8
содержание и текущий ремонт	—	—	21,4	—	8,2	29,6
расходы по водоотливу и нейтрализации	—	—	—	—	10,0	10,0
прочие расходы	—	—	10,9	—	5,8	16,7
Итого по п. 5			115,0		56,2	171,2
Всего эксплуатационных расходов			129,1		155,1	284,2

шое количество пирита. При его бактериальном окислении образуется достаточное количество серной кислоты. Поэтому расходы на добавление кислоты извне исключены. Расчет по статье «зарплата с начислениями» произведен в Институте Унипроедмь на основе практики работы отечественных и зарубежных установок.

Амортизационные отчисления приняты, исходя из погашения основных затрат за 7 лет эксплуатации установки. Фактически эти отчисления могут быть ниже, поскольку значительная часть оборудования (насосы, часть трубопровода, центрифуги и т. п.) может быть демонтирована после окончания эксплуатации этой установки и использована на другом руднике.

При производстве меди 810 т в год ее себестоимость составит:

$$284,2 \text{ тыс. руб.} : 810 = 351 \text{ руб.}$$

Прибыль от реализации продукции в год:

$$(810 \times 630) - 284,2 \text{ тыс. руб.} = 226,1 \text{ тыс. руб.}$$

Окупаемость капитальных затрат с учетом амортизации:

$$\frac{761\,400 \text{ руб.}}{226\,100 \text{ руб.}} \approx 3,5 \text{ года.}$$

Окупаемость капитальных затрат без амортизации:

$$\frac{761\,400 \text{ руб.}}{334\,900 \text{ руб.}} \approx 2,3 \text{ года.}$$

Результаты проведенных расчетов схематично можно выразить так.

Технико-экономические показатели работы установки

Товарная продукция в год	510,3 тыс. руб.
Численность рабочих	28 чел.
Производительность труда на одного рабочего	18 225 руб.
Капитальные затраты	761,4 тыс. руб.
Удельные капиталовложения на 1 рубль товарной продукции	1,52 руб.
Эксплуатационные расходы	284,2 тыс. руб.
Себестоимость 1 т меди	351 руб.
Годовые накопления	218,0 тыс. руб.
Приведенные затраты на 1 т цементной меди	492,0 руб.
Окупаемость капитальных затрат максимально	3,5 года

Проведенные расчеты на ряде обследованных месторождений позволяют судить о перспективности освоения выщелачивания на них меди, очередности ввода их в эксплуатацию, а также наметить график подготовительных и эксплуатационных работ и производство продукции по годам. В зависимости от полученных результатов по отдельным объектам организуется проектирование установок выщелачивания, их строительство, опытно-промышленная, а затем и промышленная эксплуатация.

Экономика кучного выщелачивания рассматривается в работе Шумекера и Дарра (Shoemaker, Dargah, 1968). Отмечается, что кучное выщелачивание меди характеризуется тем, что капитальные затраты на его осуществление низкие. Авторы приводят экономический расчет кучного выщелачивания окисленной

руды, содержащей 0,5—1,0% кислоторастворимой меди при извлечении 60% меди и расходе серной кислоты — 5—9 кг/кг получаемой меди (1,5 кг — на выщелачивание меди, 1 кг — на реакцию с железным скрапом и остальное — на взаимодействие с компонентами пустой породы). В эксплуатационных расходах основные затраты падают на добычу руды, расход серной кислоты и железного скрапа. Эксплуатационные затраты оцениваются 0,497—0,905 доллара на 1 кг меди.

При замене цементации меди электролизом или при экстракции ее органическими растворителями эксплуатационные затраты снижаются и составляют 0,382—0,748 доллара на 1 кг меди.

ОРГАНИЗАЦИЯ КУЧНОГО И ПОДЗЕМНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕДИ ИЗ РУД (отечественный и зарубежный опыты)

Выщелачивание меди из руд известно с давних времен. Так, уже в 1725 г. в Испании на руднике Рио-Тинто начали применять принудительное кучное выщелачивание медных руд. Впоследствии этот метод распространился в США, Канаду, Южную Африку, Мексику, Австралию, Португалию, Югославию и в другие страны. На территории СССР кучное выщелачивание осуществлялось в Кедабеке (Азерб. ССР) еще в конце прошлого столетия. Почти одновременно — в сентябре 1939 г. — на Ново-Левинском и Белореченском рудниках на Урале начало практиковаться подземное выщелачивание. На ряде уральских рудников и в настоящее время работают цементационные установки, на которых извлекается медь из рудничных вод естественного притока. Применение гидрометаллургического способа для извлечения металлов, в особенности меди, из бедных руд показало перспективность этого метода.

Известно, что себестоимость 1 т меди, полученной гидрометаллургическим способом, в три и более раза ниже, а затраты труда в пересчете на единицу металла в 9—10 раз меньше, чем в пирометаллургии.

В настоящее время за рубежом ежегодно получают до 20% меди гидрометаллургическим способом. На некоторых предприятиях добыча меди выщелачиванием составляет до 6,5 тыс. т в год (Багдад) и до 9—11 тыс. т в год (Кананеа). В Бингамском каньоне (штат Юта, США) при выщелачивании бедных руд и вскрышных пород в отвалах ежемесячно получают около 6 тыс. т меди (Mining Journal, 1967).

Несмотря на положительный опыт, доля добычи меди гидрометаллургическим способом в СССР мала. Из рудничных вод естественного притока за многие годы в сумме получено немного больше 50 тыс. т меди. В период максимального развития этого производства в 1949 г., когда работало 13 цементационных установок, было добыто 5730 т меди, в том числе 3070 т на Дегтярском руднике, 1913 т — на Блявинском руднике, 338 т — на

Красноуральских рудниках и т. д. В 1962 г. из 13 установок работало лишь три, и добыча меди составила всего 1100 т (Собиев, Ходов, 1963).

По неполным данным, потери меди в отработанных участках только месторождений РСФСР составляют сотни тысяч тонн. В дальнейшем, по мере отработки ряда месторождений, они возрастут в несколько раз. Путем выщелачивания из этого количества можно извлечь до 70% меди. При ежегодном извлечении десятков тысяч тонн меди капитальные затраты ориентировочно составят 30 млн. руб. Для получения такого же количества меди с помощью подземных горных работ на новых месторождениях средней мощности с учетом обогащения капитальные затраты составят примерно 100—110 млн. руб. (Собиев, Ходов, 1963).

Результаты многочисленных микробиологических исследований руд и отвалов, а также выщелачивающих растворов показывают наличие в них микроорганизмов *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans*. Результаты экспериментальных исследований по выщелачиванию меди из руд и минералов с участием этих бактерий свидетельствуют об их активном участии в процессах окисления руд, причем продукция бактериального окисления многократно превышает продукцию химического окисления.

Таким образом, можно констатировать, что окисление сульфидов при естественном и принудительном выщелачивании меди из руд связано с жизнедеятельностью бактерий, хотя этот фактор буквально до последних лет не учитывался, а создание условий для активной жизнедеятельности бактерий при организации подземного или кучного выщелачивания руд значительно повышает скорость процесса окисления и выдачу товарной продукции при выщелачивании.

Подготовка объекта к кучному выщелачиванию

Выбор и подготовка площадки

Перед отсыпкой отвалов руд, предназначенных к выщелачиванию, производится гидроизоляция основания площадки, на которую отсыпается руда. Это необходимо для предотвращения больших потерь растворов, что, помимо потерь металла, ведет к загрязнению источников общественного водопользования. Так, при выщелачивании одного из отвалов с неподготовленным основанием, на руднике Бисби потери раствора составили 22% (Плаксин, Юхтанов, 1949).

Сооружение отвала под выщелачивание кучным способом начинается с выбора и подготовки площадки для отсыпки руды.

Для обеспечения стока растворов от выщелачивания площадке придается уклон в несколько градусов. Рудник Бисби, напри-

мер, практикует различные уклоны. Так, под отвалом № 1, имеющем размеры $548 \times 213 \times 10$ м и запас руды 2 млн. т, уклон площадки составлял 5%. Под отвалом № 2 (отвал в форме полумесяца с максимальными размерами $427 \times 183 \times 22$ м, запас руды 1,4 млн. т) уклон почвы составлял 6—10% (Барабошкин, 1941).

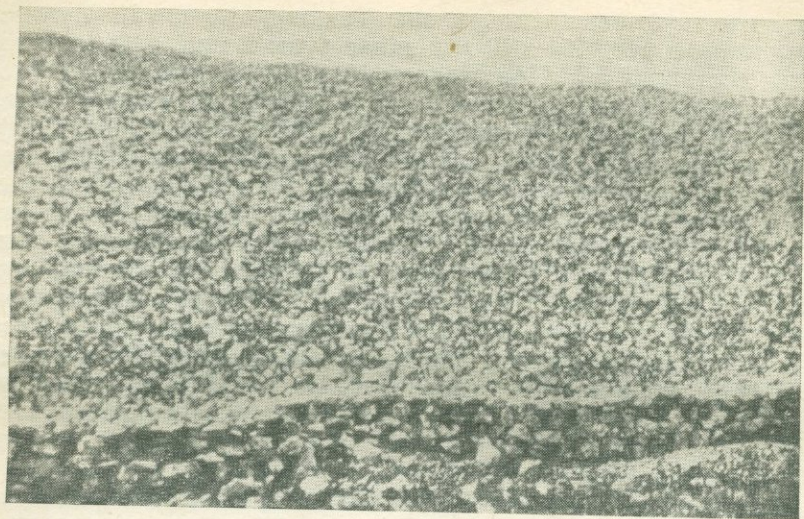
С площадки, выбранной для отсыпки отвалов, сдирается слой дерна, и поверхность гидроизолируется. Простейший способ — утрамбовка площадки глиной. На руднике Бисби для этой цели используются хвосты обогатительной фабрики, уложенные слоем 50 мм. На руднике Рам Джангл отвалы складированы на площади около 4 га с уклоном 2%, причем после уплотнения грунта его гидроизоляция была произведена насыщением слоя поверхности глубиной 100 мм стабилизирующей эмульсией из битума, продуктом, изготавливаемым в США, для укрепления грунтов. Необходимо отметить, что работа по гидроизоляции произведена этим способом с высокой скоростью — около $500 \text{ м}^2/\text{час}$ (Andersen et al., 1966).

На руднике Мангула (Южная Родезия) площадка размером 375×60 м бетонирована и имеет уклон в 4% от центра в сторону и 0,5% — по продольной оси (Mining Magazine, 1965).

Перед отсыпкой отвала на подготовленную площадку производится устройство дренажных и вентиляционных каналов в его основании. Каналы выполняются в виде продольно-поперечной сети (кульверта) размером 300×300 мм и на расстоянии 5—15 м друг от друга, в зависимости от высоты закладываемого отвала. Материалом, из которого выкладываются эти каналы, служат крупные крепкие куски выщелачиваемой руды. В точках пересечения продольных и поперечных каналов устанавливаются вертикальные вентиляционные трубы (они могут быть выполнены из железобетона или из глиняных гончарных труб). Подобным образом сооружены отвалы Рио-Тинто (Испания) (Taylor, Whelan, 1943) (рис. 15).

После сооружения каналов приступают к отсыпке отвала. Обычно крупнокусковая фракция чередуется с слоями более мелкой руды.

Изучение проникновения водных растворов в куски окисленной медной руды показало, что удовлетворительное просачивание раствора в руду имеет место при средних размерах руды 19—25 мм; при увеличении размеров кусков до 50—75 мм и тем более до 100—200 мм значительно снижается скорость их пропитывания (Плаксин, Юхтанов, 1949). Поэтому, хотя дробление руды не является обязательным и может осуществляться лишь для подготовки сравнительно богатых руд, на некоторых рудниках производится предварительное дробление, в частности, на руднике Рио-Тинто дробление руды производится до крупности 50—100 мм. Увеличение степени дробления также нежелательно, так как рост содержания мелочи ведет к забиванию пор и каналов и



Р и с. 15

Общий вид отвалов в Рио-Тинто. Основание отвала из крупных кусков руды (Taylor, Whelan, 1943)

к затруднению при просачивании растворов, а также к удорожанию операции подготовки руды. Во всяком случае количество мелкой фракции не должно превышать 10—20%. На руднике Мангула для выщелачивания меди используется богатая окисленная руда с содержанием меди 1,10%. Перед отсыпкой в отвалы руда дробится в две стадии: в первой — до 100 мм, во второй — до 37 мм. После классификации и обесшламливания руда транспортером подается на площадки, где складировается в отвалы высотой 6 м.

Отсыпка отвала может производиться по временной узкоколейной железной дороге с постепенным передвижением вдоль и поперек отвала или автотранспортом. Размеры отвалов колеблются от 10—20 до нескольких сот тысяч тонн. В практике работы рудника Бисби выщелачивались отвалы, содержавшие по 1,5—2,0 млн. т руды, а один отвал был отсыпан из 9 млн. т руды. В Австралии на руднике Рам Джангл отсыпаны два отвала — сульфидных руд 200 000 т и окисленных руд — 50 000 т.

Площадь поверхности на единицу объема отвала должна быть максимальной. Это может быть достигнуто путем рассыпания отвала на большой площади, а также рыхлением поверхности отвала для увеличения контакта с воздухом.

После отсыпки отвала производится подготовка ирригационной системы на его поверхности. Одна из систем орошения — устройство на поверхности отвала небольших бассейнов, как это осуществляется в Рио-Тинто (рис. 16). На руднике Бисби эти бассейны имеют размеры около $7,5 \times 7,5$ м, по краям бассейна насыпаются валики руды высотой около 200 мм. На руднике Сильвер Белл практикуются квадратные прудки на площади отвала размером 18×18 м с поддерживаемой глубиной раствора в них 45—60 см (Argall, 1963). Подача растворов в эти прудки осуществляется канавами, к которым подводятся 10,-6-дюймовые трубы, монтируемые и демонтируемые при переходе от одного прудка к другому. Аналогичным образом ведется орошение на руднике Инспирейшн, но размеры прудков составляют 30×30 м с глубиной слоя раствора 7,5—10,0 см.

Другой тип орошения — разбрызгивание раствора по поверхности (рис. 17). Такая система орошения применяется, например, на рудниках Эсперанца (США) и Рио-Тинто. На руднике Эсперанца на вершине отвала сооружается зумпф, распределяющий растворы по поверхности отвала, а орошение производится разбрызгиванием раствора через трубы с отверстиями, расположенными одно от другого на расстоянии 0,6—2,5 м. На руднике Рио-Тинто для разбрызгивания растворов используются полиэтиленовые шланги с отверстиями. Следует заметить, что при разбрызгивании растворов по поверхности отвала достигается более равномерное орошение руды, однако в условиях жаркого климата разбрызгивание сопряжено с повышенными потерями раствора вследствие испарения. На некоторых рудниках (Чино, Сан-Доминго) растворы на поверхности отвалов распределяются с помощью канав (Argall, 1963; Fitch, Davies, 1965).

Для подачи выщелачивающих растворов к распределительной системе на поверхности отвалов используются трубы различного размера — от 4-, 6-дюймовых до 10-, 14-дюймовых. Материал труб различный. Так, на рудниках Бингам, Эсперанца используются асбоцементные и полихлорвиниловые трубы, на руднике Багдад главная магистраль подачи растворов выполнена из 14-дюймовых труб (материал — нержавеющая сталь), а разводка общей производительностью около 13 м³/мин. — из 4-дюймовых полиэтиленовых труб. Рудник Сильвер Белл с 1960 г. использует магистрали с футеровкой из эпоксидных смол. Необходимо подчеркнуть, что полиэтиленовые и полихлорвиниловые трубы, а также эпоксидные смолы находят в последнее время широкое применение на установках по выщелачиванию (рудник Мангула в Южной Родезии и др.).

В практике организации выщелачивания широко используются особенности рельефа местности, с тем, чтобы максимально



Рис. 16

Система распределения выщелачивающих растворов прудками на поверхности отвала рудника Рио-Тинто (Trussell et al., 1964)

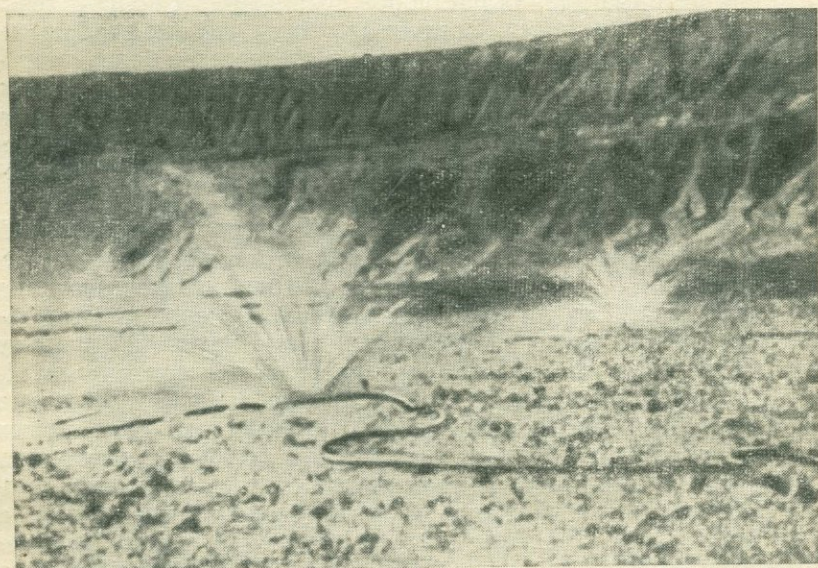


Рис. 17

Система распределения выщелачивающих растворов путем разбрызгивания на поверхности отвала в Рио-Тинто (Taylor, Whelan, 1943).

выгодно расположить отвалы и остальные участки установки с точки зрения использования самотека растворов и минимального перекачивания их насосами.

Одновременно с отсыпкой отвалов и монтажом магистралей производится организация хранилищ растворов: бассейнов богатых головных растворов, идущих на осаждение, хвостовых растворов после осаждения меди, бактериальных растворов сернокислого окисного железа, а также промежуточных прудков, служащих буферными емкостями в периоды сезонных изменений дебита вод.

Приведем некоторые примеры организации хранилищ растворов и прудков. На руднике Сильвер Белл для этой цели используются каньоны, имеющие водонепроницаемые борта, для создания емкостей воздвигнуты земляные дамбы, имеющие со стороны бассейна грунтовую изоляцию, а также бетонный шибер. Ввиду того, что емкость бассейна головных растворов невелика (около 650 м^3), на руднике сооружен промежуточный бассейн, собирающий растворы от выщелачивания и соединенный с главным бассейном головных растворов 16-дюймовым трубопроводом длиной 75 м. Емкость промежуточного бассейна около 400 м^3 и при аварии насосов главного бассейна головных вод он служит коллектором на период ремонта. Бассейн хвостовых растворов, емкостью около 2000 м^3 , расположен примерно на 230 м западнее бассейна головных растворов.

На руднике Багдад пруд-хранилище растворов имеет емкость около 6000 м^3 и габариты 79,2 м длины, 34 м ширины и 2,1 м глубины. Изнутри бассейн облицован поливиниловым покрытием, причем стоимость этого покрытия, толщиной 9 мм, составила 24 000 долларов (Argall, 1963). Австралийская горная и плавильная компания на руднике Рам Джангл для изоляции дна бассейнов применяет пластиковое покрытие, представляющее сэндвич из слоя волокнистого стекла между двумя слоями битума. В случае нарушения целостности его ремонт производится быстро путем сочетания слабого нагрева под небольшой нагрузкой для уплотнения (Andersen et al., 1966).

Подготовка объекта к подземному выщелачиванию

По характеру и химизму процессы, развивающиеся при подземном выщелачивании, подобны процессам, имеющим место при выщелачивании отвалов. Подготовка и монтаж надземных участков установки, бассейны для растворов, трубопроводы и разводка, узел цементации аналогичны вышеописанным. Но подготовка участка рудного тела имеет свои особенности.

При подземном выщелачивании орошение участков рудного тела производится через скважины, пробуренные с поверхности

или из выработок, а также через трещины в обрушении, шурфы и т. п. Орошение через скважины в основном практиковалось на ряде рудников Урала (Дегтярский, Ново-Левихинский). Подача растворов в зону обрушения практикуется на рудниках Кананеа (Мексика), Сан-Доминго (Португалия), Рей (США) и др.

В 1938 г. с прекращением горных работ на Ново-Левихинском руднике (Средний Урал) в Электролинзе осталось около 15,5% потерянных руд. Линза имела крутое падение с востока на запад под углом около 70°. Не доходя до горизонта 110 м, линза выклинивалась и в нижней части образовывала воронку. Всячий бок линзы представляли серицитовые сланцы, лежащий — альбитофиры. Ввиду значительной окисляемости руды, линза была выбрана в качестве объекта подземного выщелачивания, тем более, что она была изолирована от других участков слоистой породы мощностью около 100 м, а это обстоятельство исключало влияние процессов выщелачивания на соседние участки, где продолжались горные работы.

Подготовка участка к выщелачиванию заключалась в монтаже трубопровода из деревянных труб общей длиной 300 м. Для подачи растворов в рудное тело было пробурено 20 оросительных скважин над висячим боком Электролинзы. Глубина скважин (в зависимости от толщины верхнего водонепроницаемого слоя) составляла 16,5—47,0 м, с расстоянием между скважинами 25 м. Кроме того, было пройдено два шурфа с поверхности на меньшую глубину. В промежуточной линзе (соседняя с Электролинзой) на горизонте 110 м был установлен особый водоотлив, качающий растворы от подземного выщелачивания на цементационную установку.

На Белореченском руднике, расположенном недалеко от Ново-Левихинского, в это же время была проведена подготовка к выщелачиванию Северной линзы месторождения. Подготовка этого участка заключалась, в основном, в сооружении магистралей на поверхности для подачи растворов в рудное тело, так как верхняя часть линзы была вскрыта горными работами еще до революции. Таким образом, средняя часть линзы, выходящая на поверхность, не требовала вскрытий и проходки буровых скважин, и орошение осуществлялось с поверхности в обрушение (Барабашкин, 1941).

На руднике Рей в период экономических кризисов горные работы неоднократно прекращались и возобновлялись. При возобновлении горной добычи было установлено, что руда второго горизонта, подготовленная к выемке перед первой остановкой рудника, настолько окислилась, что стала непригодной к обогащению. Поэтому в 1938 г. была проведена первая подготовка к подземному выщелачиванию — был открыт доступ дренирующих растворов в обрушение. В течение дождливых 1935—1936 гг. происходило значительное обводнение участка. Содержание меди

в водах, прошедших через рудное тело, достигало в среднем 10 г/л. Запасы меди в участке составляли 22 500 т.

При подготовке этого участка для выщелачивания потребовалось провести значительные подготовительные подземные работы. Существующая дренажная система была демонтирована. В подземных тоннелях были возведены бетонные перемычки для предотвращения попадания растворов на 4-й действующий горизонт (выщелачивание меди проводилось из руды трех вышележащих горизонтов). На 3-м горизонте была построена бетонная траншея для сбора растворов, поступающих с расходом до 2 м³/мин. Для выкачивания на поверхность растворов от выщелачивания были смонтированы два кислотоупорных насоса производительностью 75 м³/час каждый. Подача выщелачивающих растворов производится в обрушение четырехступенчатыми автоматическими центробежными насосами через систему труб с разбрызгивателями.

На руднике Бингам (штат Юта, США), осуществляющем параллельно с кучным и подземное выщелачивание, до применения выщелачивания месторождение разрабатывалось системой блокового обрушения, вследствие чего руды, оставшиеся в нем, сильно разрушены. Для орошения был принят вариант подачи выщелачивающих растворов над воронкой обрушения площадью 240×275 м и глубиной 275 м. Эта воронка при проведении горных работ была заполнена пустой породой. Позже, в целях регулировки распределения орошающих растворов на верхнем горизонте рудника, был пройден штрек с боковыми ответвлениями для отвода раствора на желаемые участки рудного тела.

Проект подземного выщелачивания отработанного участка месторождения Сан-Доминго предусматривает извлечение около 4000 т меди из массива бедных руд объемом 3,5 млн. м³ с запасами меди 4640 т. В этот объем руд входят разрушенные горными работами бедные руды, а также бедные руды, использовавшиеся в качестве закладки. Орошение производили путем разбрызгивания раствора в обрушении. Для изоляции смежных участков были намечены меры по гидроизоляции участка орошения на глубину до 360 м. Для откачивания растворов установлены два центробежных глубинных насоса, работающих в два подъема по 180 и 190 м каждый. Работа насосов контролируется поплавковым переключателем (Fitch, Davies, 1965).

В 1964 г. на Дегтярском руднике проводилось бактериальное выщелачивание медно-колчеданных руд южной выклинки. Длина фронта выщелачивания составляла 220 м, ширина 40—50 м, при глубине рудного тела в этом районе до 200 м и более. Участок был обустроен скважинами глубиной от 20 до 70 м. Частота сетки обурирования в среднем 10 м. Для подачи бактериальных выщелачивающих растворов был смонтирован трубопровод диаметром 4—6 дюймов и длиной около 2500 м. На участке орошения

растворы распределялись коллекторами через гибкие полиэтиленовые шланги, опущенные в скважины. Для приготовления бактериальных растворов был сооружен прудок-регенератор с затенением. В прудок подавался сжатый воздух. Раствор из прудка-регенератора перекачивался в зону орошения двумя попеременно работающими насосами АЯП-75. Емкость прудка была 1600 м³.

Контроль процесса бактериального выщелачивания и изменений в рудном теле при орошении осуществлялся систематическим отбором проб в рудном теле и на поверхности, а также оценкой прироста продукции — цементной меди — на цементационной установке.

Для выкачивания растворов, поступающих из участка орошения, использовался действующий рудничный водоотлив, объединявший растворы от выщелачивания с естественным притоком рудничных вод.

Технология выщелачивания меди из руд

Схема выщелачивания

Примеры выщелачивания меди на зарубежных рудниках приведены в табл. 20.

На большинстве рудников, как видно из этих данных, применяется кучное выщелачивание меди. Выщелачиванию подвергаются в основном бедные руды, содержащие от 0,2 до 0,6% меди в виде сульфидов или окислов. На отдельных рудниках выщелачивают более богатые руды, содержащие 0,8—2,5% меди.

схема 3

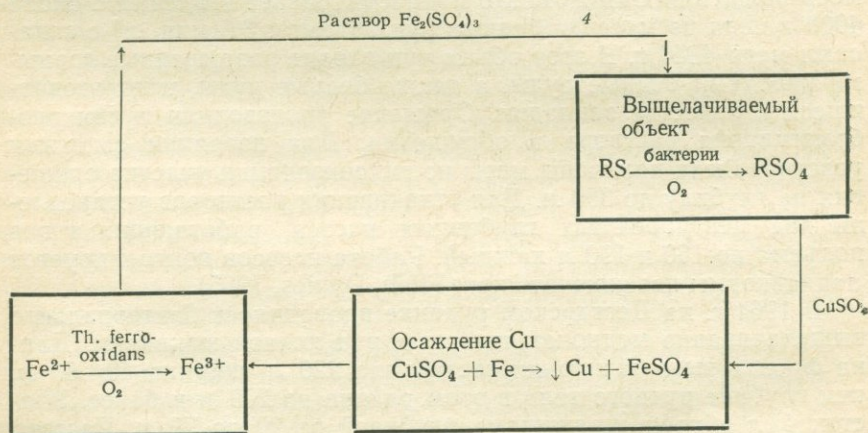
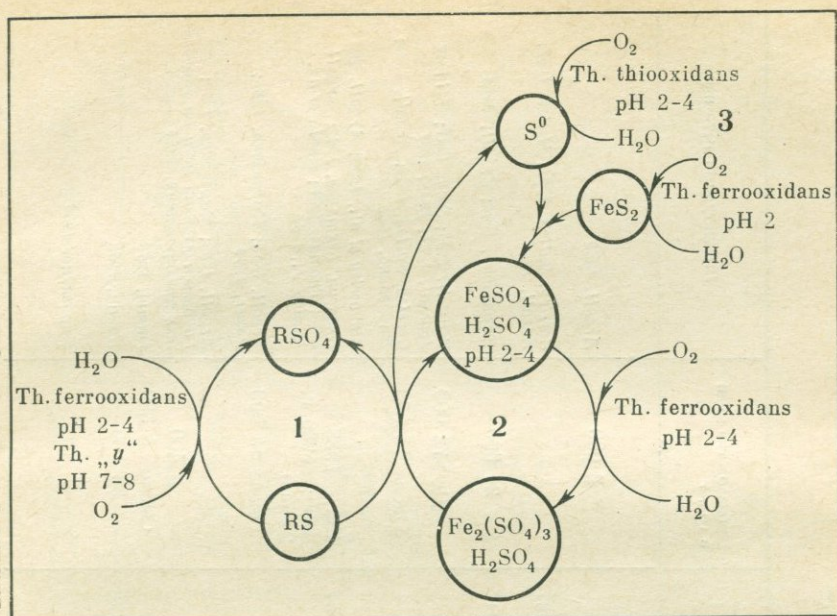


Схема 3 представляет установку по бактериальному выщелачиванию меди из руды. Она включает в себя выщелачиваемый



Р и с. 18

Схема окисления сульфидов (по С. И. Кузнецову)

1 — непосредственное окисление сульфидов, 2 — регенерация сернокислого окисного железа, 3 — окисление пирита и серы

мый объект (рудное тело или отвалы руды), отстойник для осветления растворов, цементационную установку для осаждения меди на железном скрапе и прудок-регенератор для бактериального окисления закисного железа в растворах цементационной установки. В прудок-регенератор подается воздух для аэрации растворов. Перевод закисного железа в окисное производят для получения в растворе окислителя и бактериальных клеток повышенной концентрации, а также для осаждения избыточной части железа в прудке. Последнее мероприятие в значительной мере снижает осаждение железа в руде. В противном случае происходит забивание каналов и пор в отвале руды и снижение скорости перколяции растворов.

Регенерированные растворы, содержащие окисное и закисное железо, подаются на орошение руды. Таким образом, цикл замыкается. Часть растворов после цементационной установки периодически выводится из оборота и подается на нейтрализацию или очистку в специальные отстойники.

Участие тионовых бактерий в процессе выщелачивания меди из руд представлено в виде схемы на рис. 18. Как видно из этой

таблица 20

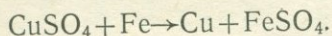
Выщелачивание меди из руд в подземном и кучном вариантах

Место проведения выщелачивания	Вид выщелачивания	Наличие бактерий в растворах *	Тип руд и характер минерализации	Производство меди в год, т	Литературный источник
США					
Аризона (Инспирейшн)	Кучное	—	—	2 000	<i>Argall, 1963</i>
Аризона (Эсперанца)	То же	+	Халькозин, халькопирит, пирит	—	<i>Corrick, Sutton, 1961; Houot, 1967; Argall, 1963</i>
Невада (Мелли Гибсон)	Кучное и подземное	—	Хризоколла, сульфиды	21 600	<i>Каравайко, 1968; Argall, 1963</i>
Бингам (Юта)	Кучное	+	Окислы, сульфиды	До 72 000	<i>Trussell, 1965; Seck, 1967; Mining Journal, 1967; Beck, 1967</i>
Багдад (Аризона)	То же	+	Окислы	Около 15 000	<i>Corrick, Sutton, 1961; Argall, 1963; Каравайко, 1968</i>
Чино	»	+	—	—	<i>Zimmerley et al., 1958; Argall, 1963</i>
Аризона (Рей)	Подземное и кучное	—	Халькозин, халькопирит, хризоколла, малахит, пирит	1937—1938 гг.— 2700; 1966 г.— 24 000	<i>Плаксин, Юхтанов, 1949; Argall, 1963; Thomas, 1938; Engineering, Mining J., 1966</i>
Аризона (Сильвер Белл)	Кучное	+	То же и азурит	Около 18 000	<i>Argall, 1963; Каравайко, 1968; Power, 1964</i>
Кастл Даум	То же	—	—	—	<i>Argall, 1963; Каравайко, 1968;</i> <i>Гидрометаллургия меди на зарубежных предприятиях, 1964</i>
Бисби	»	+	—	5 400	
Монтана (Бьют)	»	—	—	Около 4 300	<i>Панин, 1968</i>
Аризона (Саффорд) (проект)	»	—	Хризоколла, халькопирит, халькозин, ковеллин	36 500	<i>Панин, 1968</i>
Огайо (Юта)	Подземное	+	Халькопирит	380	<i>Каравайко, 1968</i>

Место проведения выщелачивания	Вид выщелачивания	Наличие бактерий в растворах *	Тип руд и характер минерализации	Производство меди в год, т	Литературный источник
Мангула, Южная Родезия	Кучное	—	—	—	<i>Mining Magazine, 1965; Каравайко, 1968</i>
Рио-Тинто, Испания	То же	+	Халькозин, халькопирит, ковеллин, пирит	Около 9 000	<i>Каравайко, 1968; Taylor, Whelan, 1943; Trussell et al., 1964</i>
Сан-Доминго, Португалия	Подземное	+	Медистые пириты	Около 670	<i>Fitch, Davies, 1965</i>
Рам Джангл, Австралия	Кучное	+	Халькопирит, халькозин, борнит	Нет данных (выщелачивается два отвала, в общем 250 тыс. т руды)	<i>Anderse: et al., 1966</i>
Кананеа, Мексика	Кучное и подземное	+	Халькозин, пирит	9 600	<i>Bryner, Jamerson, 1958; Weed, 1956</i>
Дегтярск, Урал, СССР	То же	+	Халькопирит, халькозин, пирит	В 1964—1965 гг. Около 400	<i>Голомзлик и др., 1967а; Каравайко, 1968</i>

* Плюс — есть бактерии, минус — нет данных.

схемы, участие *Th. ferrooxidans* в процессе выщелачивания меди сводится, с одной стороны, к непосредственному окислению сульфидов и, с другой, к образованию сернокислого окисного железа. Дешевым источником Fe^{2+} являются растворы цементационной установки, где медь выделяется из раствора по реакции:



Бактерии окисляют также закисное железо, которое образуется в самом рудном теле или в отвале при окислении пирита и других железосодержащих сульфидных минералов.

При благоприятных условиях в процессах окисления сульфидных минералов могут участвовать и другие тионовые бактерии, как, например, *Thiobacillus y* и *Th. thiooxidans*.

Роль *Th. ferrooxidans* в выщелачивании меди из различных типов руд на основании вышеприведенных данных может быть представлена в следующем виде (Каравайко и др., 1970).

	Роль бактерий	Тип выщелачивания
Окисленные некарбонатные руды	Регенерация раствора после цементационной установки с целью осаждения избытка железа	Химическое (серной кислотой)
Руды, содержащие первичные сульфиды меди (халькопирит, медно-колчеданные)	Окисление сульфидов и регенерация раствора с целью осаждения избытка железа	Бактериальное
Руды, содержащие вторичные сульфиды меди	Окисление сульфидов и регенерация выщелачивающего раствора	Химическое (сульфатом окиси железа) и бактериальное

Роль микроорганизмов в выщелачивании меди из карбонатных руд практически не изучена. Возможно, что здесь нужно обратить внимание на другие виды тионовых бактерий, которые способны окислять сульфиды при нейтральной и слабощелочной реакциях среды.

Различия в технологии выщелачивания меди на различных рудниках заключаются главным образом в подготовке объекта к выщелачиванию (отвалы, подземные выработки), режиме и способе орошения и приготовлении выщелачивающего раствора.

Ниже приводится несколько схем выщелачивания меди из отвалов и подземных выработок. Наиболее крупная установка по кучному выщелачиванию меди из бедных руд имеется в Бингамском каньоне (США). Схема ее представлена на рис. 19 (Zimmerley et al., 1964). Особенностью этой схемы является то, что, помимо меди, предусматривается получение железа и алюминия.

По этой схеме получают также дополнительное количество серной кислоты, которая с обратными растворами поступает на орошение руды в отвалах. Таким путем расход серной кислоты на подкисление растворов был сведен до минимума. Выщелачивание меди осуществляется сернокислыми растворами

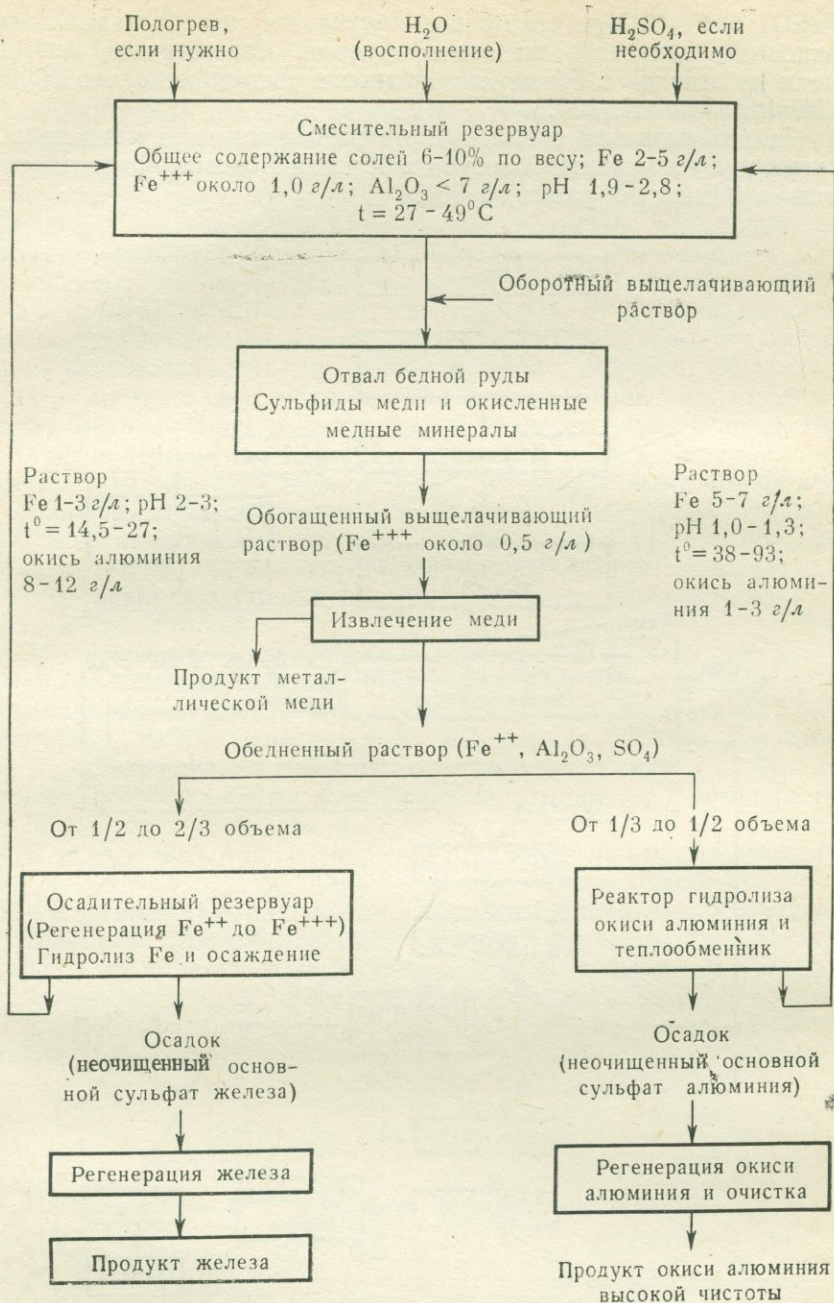
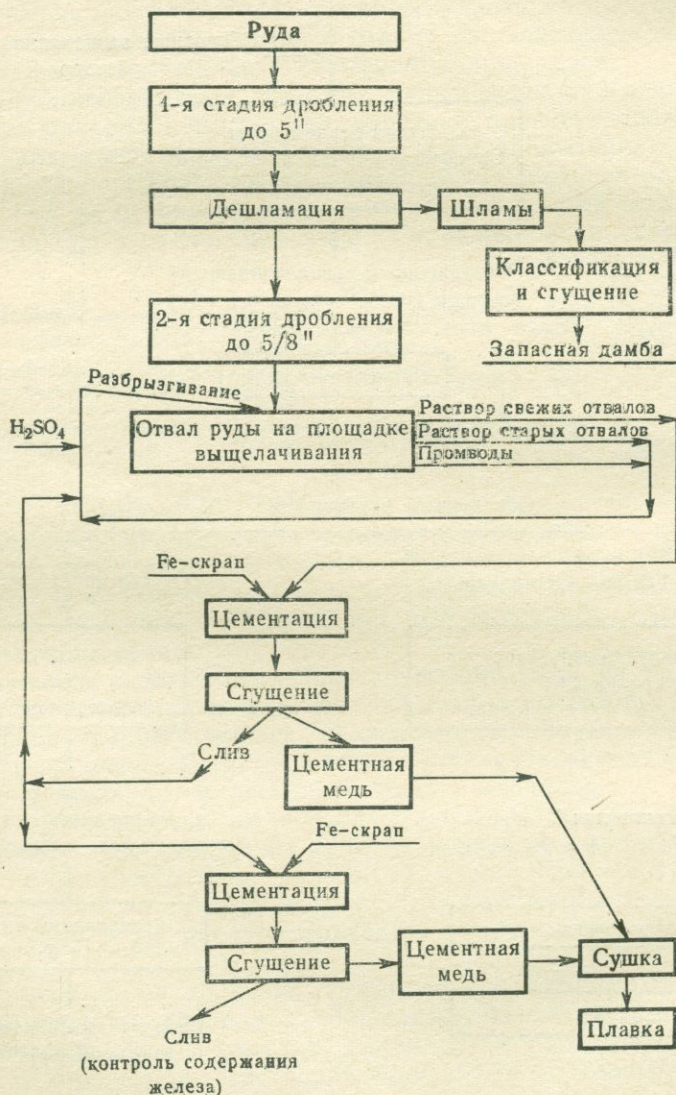


Рис. 19

Схема кучного выщелачивания меди в Бингамском каньоне (Zimmerley et al., 1964).

FeSO_4 и $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. Последнее получается при бактериальном окислении закисного железа в прудках. Ежемесячная добыча меди из отвалов в Бингамском каньоне составляет около 6000 т (Mining Journal, 1967).

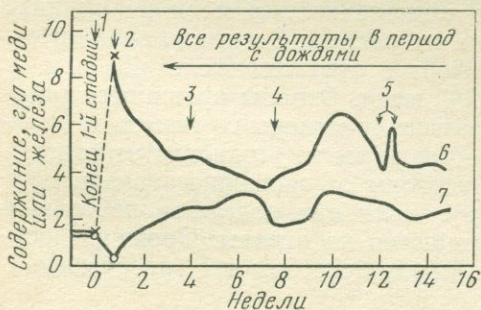
Технологическая схема кучного выщелачивания меди из богатых руд на руднике Мангула в Южной Родезии представлена ниже (Mining Magazine, 1965).



На руднике Мангула при выщелачивании в отвале руда предварительно дважды дробится и обесшламливается. Выщелачивание производится путем орошения растворами серной кислоты и сульфата окиси железа. Сернокислое окисное железо получают в результате естественного окисления сернокислого закисного железа в прудках. Можно полагать, что в данном случае окислению способствуют бактерии *Th. ferrooxidans*. Так как первые растворы после орошения свежесыпанных отвалов в течение пяти дней имели высокий рН, то они направляются на цементацию отдельно. Последующие растворы подкисляются и возвращаются на орошение отвала. Раствор, поступающий на цементацию, содержит 10 г/л меди. Особенностью осаждения меди на данном предприятии является цементация в две стадии. В первом цементаторе содержание меди в растворе снижается с 10 до 1 г/л (более глубокое осаждение меди приводило к большому расходу железного скрапа). Растворы, содержащие меди 1 г/л, поступают в другой цементатор, где они обедняются медью до 0,1 г/л. Трубопроводы на руднике сделаны из поливинилхлорида, цементационные бетонные чаны футерованы эпоксидной смолой.

В Австралии организовано выщелачивание меди из сульфидно-окисленных руд месторождения Рам Джангл с использованием бактерий для интенсификации этого процесса (Andersen et al., 1966). Особенностью организации объекта является то, что окисленная и сульфидная руды складировались отдельно, причем растворы после выщелачивания меди из сульфидного отвала подаются на окисленный.

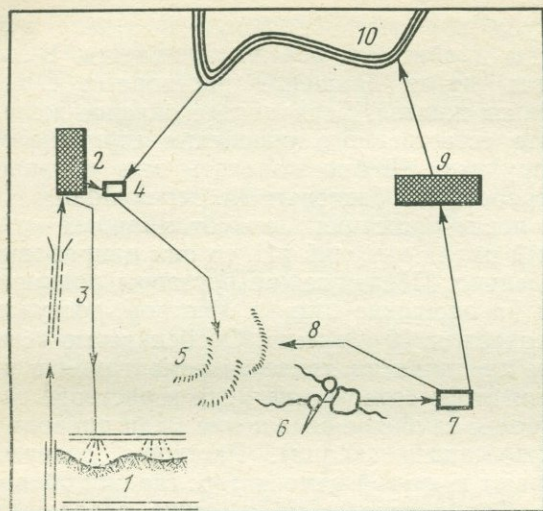
В первое время перед подачей растворов на сульфидный отвал добавляли серную кислоту. В дальнейшем необходимость в этом отпала. Серная кислота образовывалась при окислении сульфидов в самом отвале, рН растворов снизился с 2,4 до 2,0. Данные об изменении содержания меди и железа в растворах приведены на рис. 20. Подсчеты показали, что с сентября 1965 г. по январь 1968 г. было извлечено 6,5% меди из сульфидного отвала и 31% из окисленного (Allman, Harris, 1969). Таким об-



Р и с. 20

Изменение содержания меди и железа в растворах при выщелачивании из отвалов месторождения Рам Джангл (Andersen et al., 1966)

- 1 — орошение сульфидного отвала,
- 2 — орошение раствором, отходящим от сульфидного отвала,
- 3 — подкисление прекращено,
- 4 — выщелачивание новой секции отвала,
- 5 — период обильных дождей,
- 6 — медь,
- 7 — железо

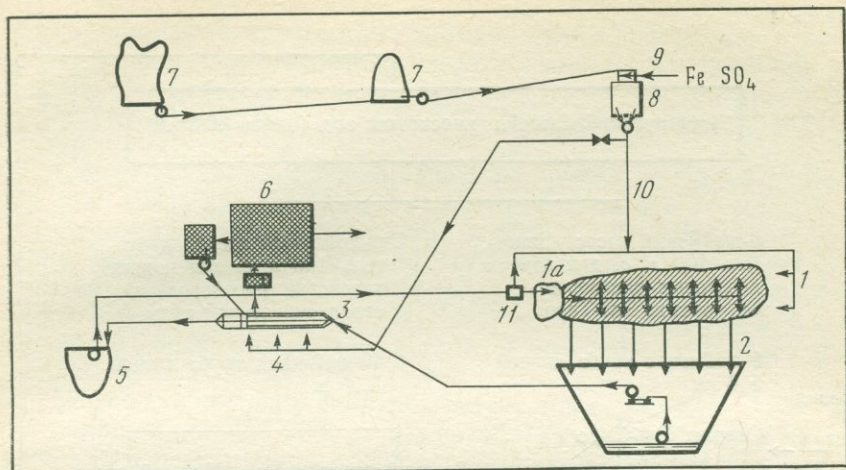


Р и с. 21

Схема выщелачивания меди на руднике Кананеа (Weed, 1956)

1 — подземное выщелачивание меди, 2 — установка, перерабатывающая растворы от подземного выщелачивания меди, 3 — подача растворов для орошения рудного тела, 4 — насосная для подачи растворов на отвалы, 5 — отвалы бедной руды, 6 — дамбы, собирающие растворы из-под отвалов, 7 — основная дамба, 8 — повторная подача растворов на орошение отвалов, 9 — установка, перерабатывающая растворы от кучного выщелачивания меди, 10 — бассейн для хранения оборотных растворов цементационной установки

разом, если допустить, что скорость извлечения меди из сульфидной руды близка к постоянной величине, то в среднем за 20 дней извлекалось $14\frac{1}{4}$ т меди. Извлечение меди из окисленной руды, изменявшееся в зависимости от количества меди, остающейся в отвале, авторы выражают кинетическим уравнением скорости первого порядка: $\log(1-x) = K \cdot t$, где x — количество меди, извлеченное за время t , K — константа. Схема кучного и подземного выщелачивания меди на руднике Кананеа в Мексике приведена на рис. 21. За длительное время эксплуатации рудника скопилось в отвалах около 40 млн. т бедной руды, содержащей 0,2% меди. Отвалы орошаются растворами цементационной установки, растворы хранятся в прудке. К ним добавляются также растворы из установки от подземного выщелачивания меди. Растворы от орошения отвалов идут на цементационную установку. Если они содержат небольшое количество меди, то вновь подаются на отвалы. Орошение осуществляется обычно через каналы, бассейны или разбрызгива-



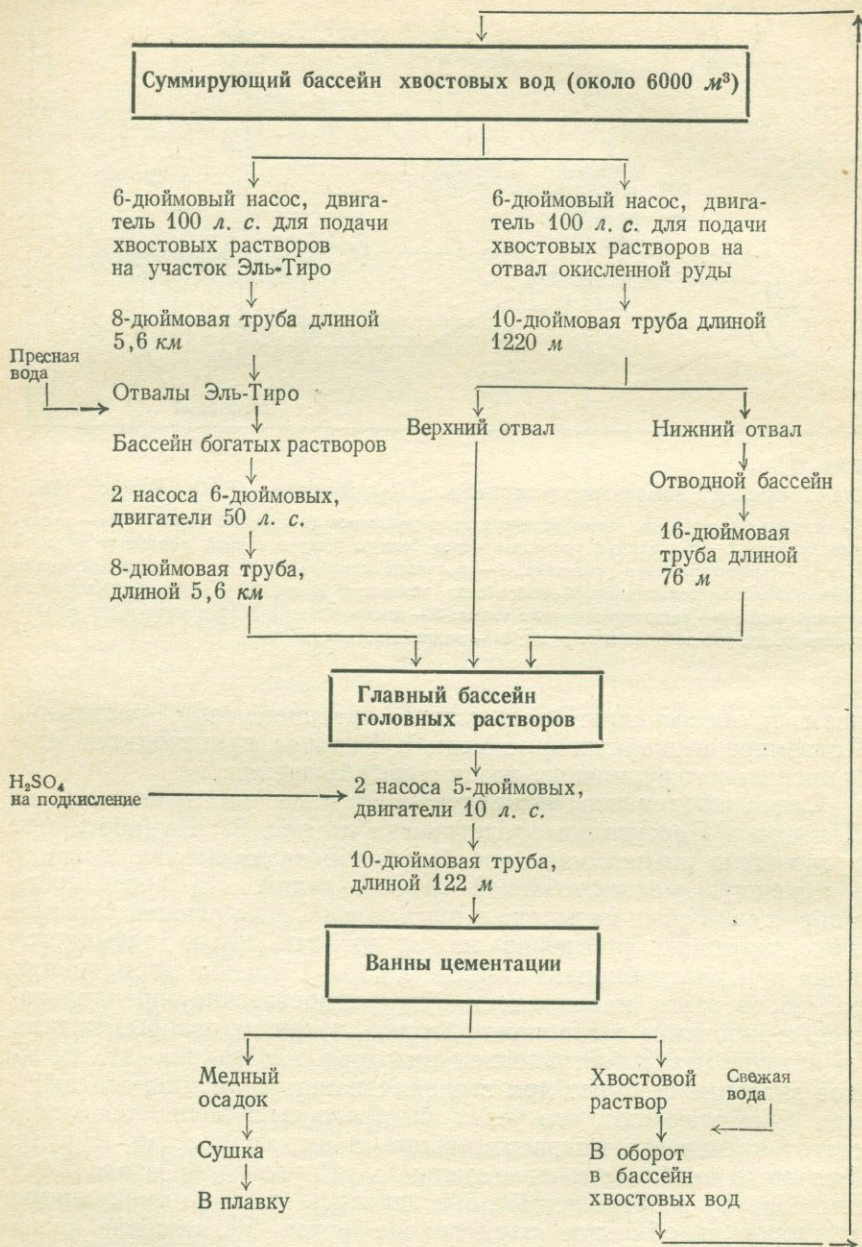
Р и с. 22

Схема процесса выщелачивания меди в Сан-Доминго (Fiteh, Davies, 1965)

1 — открытая выработка, схема распределения растворов (восточный карьер); 1а — западный карьер; 2 — перколяция растворов через бедную руду в старой выработке рудного тела, 3 — цементационная установка, 4 — смывание меди водой, 5 — дамба для собирания растворов после цементации, 6 — обработка цементной меди, 7 — дамбы для запасаания пресной воды, 8 — седиментационные танки; 9 — дозировка сульфата закиси железа; 10 — подача растворов на орошение руды; 11 — задвижка камеры

нием и обеспечивает равномерное распределение растворов. Подземное выщелачивание меди в Кананеа производится разбрызгиванием рудничных вод в зоне обрушения.

Схема подземного выщелачивания меди на руднике Сан-Доминго в Португалии представлена на рис. 22. Выработанное рудное тело представляет собой зубообразную выемку, доверху заполненную мелкодробленной бедной рудой. На поверхности в обрушении руда насыпана в виде отвала. Для лучшей аэрации циркулирующих растворов на поверхность руды насыпается шлак или раздробленная горная порода. Если для аэрирования растворов этого мероприятия будет недостаточно, предполагается аэрирование растворов проводить путем их разбрызгивания на воздухе перед поступлением на отвал. Авторы проекта большое значение придают при выщелачивании меди микроорганизмам. Они отмечают, что успех быстрого выщелачивания зависит от активности микроорганизмов и их количества в руде. Для этого необходимо поддерживать рН растворов около 2,0 и температуру в пределах 35°, обеспечивать быструю циркуляцию растворов и обильное аэрирование руды. Увлажнение руды следует чередовать с просушкой и не допускать содержания в растворах больших количеств цинка и мышьяка, так как они



могут подавлять активность бактерий. Закисное железо в растворах должно быть окислено перед подачей их на орошение руды. Выщелачивание меди на руднике рассчитано на шесть лет с добычей около 100 т меди в месяц в первые годы работы установки.

Схема кучного выщелачивания на руднике Сильвер Белл (Power, 1964) представлена на стр. 168 (схема 4).

Схема установки, испытанная в 1964 г. на Дегтярском руднике, представлена на рис. 23 (Голомзик, Нагирняк, 1965; Голомзик и др., 1967). Работу проводили на участке месторождения в южной части рудного массива длиной около 200 м и шириной 40—60 м. Рудное тело состоит в основном из медного колчедана, угол падения его 60—80°.

Установка включала прудок-регенератор объемом 1600 м³, трубопровод длиной 2500 м, цементационную установку и насосную для перекачивания растворов на орошаемый участок месторождения.

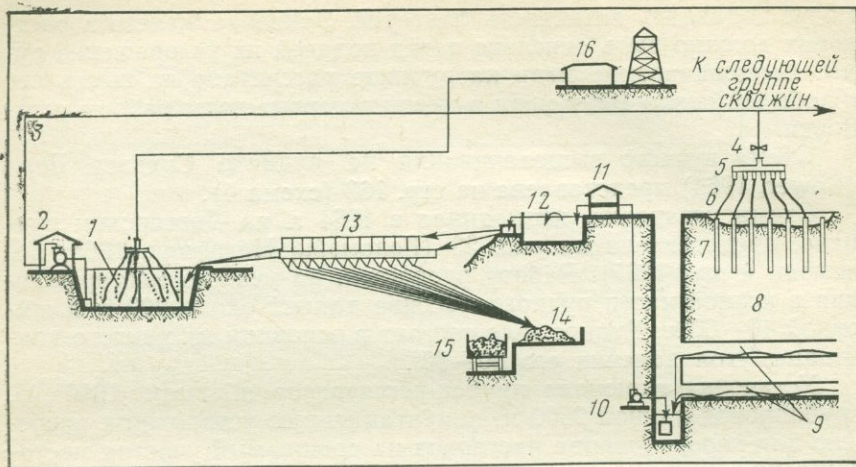
В рудное тело растворы подавались с помощью полиэтиленовых шлангов через серию специально пробуренных в зоне обрушения скважин (до глубины 30—70 м). Для выяснения условий бактериальной регенерации Fe₂(SO₄)₃ возле прудка были сооружены два деревянных чана по 5 м³ каждый. Воздух для аэрирования растворов в прудке подавался от воздушной магистрали шахты Средней.

Таким образом, как видно из вышеприведенных схем, технология кучного и подземного выщелачивания меди в основном одинакова на различных рудниках. Различия в технологии выщелачивания меди заключаются главным образом в организации выщелачиваемых объектов (подготовка отвалов, подземных выработок) и способе их орошения (режим, циркуляция).

В схеме предусматривается цикличность выщелачивания меди: орошение выщелачиваемого объекта → цементация меди → регенерация раствора → орошение выщелачиваемого объекта. Таким образом, цикл замыкается. В случае необходимости, часть раствора периодически выводится из оборота и заменяется свежим раствором (обычно пресной водой, подкисленной серной кислотой или раствором, ранее выведенным из оборота и подвергнутым очистке от нежелательных примесей, как это сделано на Бингамском руднике).

Химический состав растворов, используемых при выщелачивании, и расход серной кислоты

Химический состав растворов, используемых при выщелачивании меди на ряде рудников, представлен в табл. 21. Из данных таблицы видно, что для выщелачивания меди из руд кучным или подземным способами используются серноокислые растворы



Р и с. 23

Полная технологическая схема опытно-промышленной установки по бактериальному выщелачиванию меди на Дегтярском руднике

1 — бактериальный регенерационный прудок, 2 — насосная перекачки раствора на орошение, 3 — трубопровод растворов, 4 — задвижка на группе скважин, 5 — коллектор, 6 — гибкий полиэтиленовый шланг, 7 — скважины для орошения рудного тела, 8 — рудный орошаемый пласт, 9 — горизонт шахты, 10 — насос для откачки растворов, 11 — лимниграфная будка, 12 — отстойник головных растворов, 13 — цементационные ванна или желоба, 14 — сушка цементной меди и хранение, 15 — транспорт меди на завод-потребитель, 16 — компрессорная станция шахты Средней

сульфата закиси и окиси железа. Этими растворами служат либо рудничные воды, либо растворы цементационных установок, предварительно регенерированные в специальных прудках.

На орошение руды используются растворы с pH 2,0—4,0 и содержащие железо главным образом в двухвалентной форме. Химический состав растворов перед цементацией изменяется. pH их зачастую снижается, а на пиритных рудах в Рио-Тинто содержание серной кислоты возрастает с 1 до 11 г/л. Имеет место также разогрев руды до 65°. Растворы обогащаются медью и трехвалентным железом. Образование $Fe_2(SO_4)_3$ в водах свидетельствует об окислении $FeSO_4$ в самой руде.

Таким образом, очевидно, что выщелачивание меди из руд ведется при относительно низких содержаниях серной кислоты в растворах.

Анализ литературных данных показал, что расход серной кислоты на подкисление выщелачивающих растворов неодинаков на различных рудниках и зависит как от состава руды и пород, так и от самой технологии выщелачивания. Например, расход серной

таблица 21

Состав растворов при выщелачивании (г/л) *

Рудник	Исходные растворы				Количество, м ³ /мин	Конечные растворы				Количество, м ³ /мин
	pH	Fe ²⁺	Fe ³⁺	медь		pH	Fe ²⁺	Fe ³⁺	медь	
США										
Рей **	3,4—4,0	3,5—3,8	0,1	0,1	17	2,3—2,5	0,8—1,2	1,3	0,5—1,5	15,14
Багдад **	2,0	4,5	0,2	0,2	12,6	2,5	0,0	2,8	1,0	12,1
Чино **	3,5	3,5	0,2	0,3	37,85	2,5	0,9	0,6	2,3	34
Сильвер Белл **	3,35	1,67	0,04	0,007	3,4	2,4	0,01	0,57	1,086	3,255
Эсперанца	3,25	1,1	0,1	—	3,785	2,8	0,01	0,01	1,0	3,595
Юта	2,4	2,5	0,02	0,1	7,57	2,5	1,0	1,0	1,35	1,89
Рудник «А»	2,5	5,0	0,7	0,21	2,27	2,0	3,3	1,1	1,15	1,89
Кананеа, Мексика	2,7	7,1	1,8	0,35	—	2,3	3,0	7,4	3,3	—
Дегтярский, СССР	2,5—2,9	0,2	2,0	0,1	—	2,9	1,5	0,7	0,3	—
Мангула, Южная Родезия	15 г/л ***	—	6,8	—	—	—	—	—	10	—
Рио-Тинто, Испания	1 г/л ***	4,0	1,0	0,2	—	11 г/л ***	18	2	2,2	—

* Таблица составлена по данным: Argall, 1963; Weed, 1965; Голомзик и др., 1967a; Houot, 1967; Taylor, Whelan, 1943: Mining Magazine, 1965; Каравайко и др., 1966, 1967.

** Содержание сульфидной меди находится в пределах 0,24—0,3%.

*** Приводится концентрация H₂SO₄ г/л.

кислоты при выщелачивании меди из руд, содержащих пирит, либо незначительный, либо, как было показано на Дегтярском руднике, добавления серной кислоты не требуется вовсе. Как уже отмечалось выше, на Бингамском руднике дополнительный расход серной кислоты на выщелачивание меди был резко сокращен за счет усовершенствования технологии. При извлечении железа и алюминия из растворов выделяется значительное количество серной кислоты, в результате чего рН растворов, поступающих на орошение отвалов, снижался до 1,0—1,3.

Используемая схема выщелачивания меди на Бингамском руднике позволяет, помимо экономии серной кислоты, также регулировать состав выщелачивающих растворов. Периодический вывод из цикла части растворов и осаждение из них ионов металлов позволили предприятию преодолеть явление «утомления» растворов, беспрепятственно осуществлять рециркуляцию 160 000 м³ раствора в сутки и получить дополнительную продукцию алюминия и железа (Seck, 1967; Mining Journal, 1967).

На руднике Рам Джангл снижение расхода серной кислоты было достигнуто путем последовательного орошения сульфидного и окисленного отвалов. На сульфидном отвале серная кислота образовывалась при окислении пирита и халькопирита.

На руднике Багдад первоначальный расход серной кислоты составлял 10 кг на 1 кг извлеченной меди, а после усовершенствования технологии — 4,3 кг на 1 кг меди, т. е. снижен примерно в 2 раза (Argall, 1963).

Расход серной кислоты на руднике Мангула, где медь выщелачивается из богатых руд, составляет 3,5—4 кг на 1 кг осажденной меди.

Роль железа в технологии бактериального выщелачивания меди из руд

Серноокислое окисное и закисное железо являются непременными составляющими выщелачивающих растворов. Прежде всего они образуются при окислении сульфидных минералов и при растворении окислов, содержащихся в рудах. При осуществлении циклического выщелачивания в растворах железо накапливается за счет обменной реакции при цементации: $\text{CuSO}_4 + \text{Fe} \rightarrow \text{Cu} + \text{FeSO}_4$, далее окисляется Th. ferrooxidans по схеме: $2\text{FeSO}_4 + 0,5\text{O}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + \text{H}_2\text{O}$.

Целый ряд исследований и расчетов свидетельствуют о сильнейшем окисляющем и растворяющем действии серноокислого окисного железа. Последний по праву может рассматриваться как один из крупнейших факторов в процессе переработки сульфидного материала. Как отмечал Смирнов (1955), его значение как поставщика кислорода в различные горизонты зоны окисления, в том числе наиболее глубокие, переоценить трудно. Суль-

фат окисного железа энергично взаимодействует со вторичными сульфидами меди, сфалеритом, галенитом; слабо с халькопиритом и некоторыми другими сульфидными минералами.

При повышении pH выщелачивающих растворов $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ гидролизует по схеме: $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 6\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2\text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}_2\text{SO}_4$. Это свойство железа вызывает нередко осложнения при организации выщелачивания. Как отмечают Эрлих, Фокс (Ehrlich, Fox, 1967) и Бек (Beck, 1967), в практике выщелачивания меди введение трехвалентного железа вызывает следующие осложнения.

1. При орошении руды в отвалах в начальном периоде, когда pH руды высокий, может произойти выпадение гидрата окиси железа. Это ухудшает фильтрующую способность отвалов, ведет к снижению скорости просачивания и выщелачивания.

2. Повышенное содержание трехвалентного железа вызывает неумеренный расход железного скрапа при цементации: $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + \text{Fe} \rightarrow 3\text{FeSO}_4$. В целях борьбы с вышеуказанными явлениями на практике прибегают к использованию растворов с ограниченной концентрацией трехвалентного и общего железа. В начальном периоде выщелачивания применяется промывка руд подкисленной водой, не содержащей железа. При снижении скорости перколяции поверхность отвалов иногда рыхлят. Для экономии скрапа при цементации растворы иногда пропускают через пиритный фильтр, восстанавливающий железо до двухвалентного.

При повторном использовании растворов для орошения руды железо должно строго контролироваться. Концентрация железа в растворах после цементации меди или в головных растворах может быть снижена при бактериальном окислении его в прудке-регенераторе при pH 3,0—3,5. Этим способом значительную часть железа можно вывести из растворов, осадив его в отстойнике и не допуская осаждения в руде в ходе выщелачивания.

В зарубежной практике орошение руд в отвалах нередко осуществляется растворами, обогащенными закисным железом.

Введение в отвал преимущественно закисного железа может быть предпочтительным по следующим причинам. Во-первых, в этом случае при повышении pH растворов гидролиз железа будет ограниченным. Во-вторых, присутствие FeSO_4 в руде способствует развитию бактерий. Нужно же для интенсификации процесса выщелачивания количество $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, помимо внесенного с выщелачивающими растворами, будет образовываться и в самой руде при бактериальном окислении FeSO_4 выщелачивающих растворов.

Аналогичная технология выщелачивания меди из отвалов, как видно из вышеприведенных данных, практикуется на многих зарубежных рудниках (см. табл. 21).

Однако в ряде случаев используемые для орошения растворы должны содержать окисное железо. Так, при подземном выщела-

чивании меди растворы через скважины или зоны обрушения закачиваются в рудное тело. Как показали опытно-промышленные испытания, проведенные на Дегтярском руднике, наиболее эффективными растворами при выщелачивании меди были растворы сернокислого окисного железа. Растворы цементационной установки, содержащие FeSO_4 , были менее эффективны в выщелачивании меди. Объясняется это, вероятно, тем, что в самом месторождении условия для жизнедеятельности бактерий недостаточно благоприятны. Кроме того, в руде присутствуют вторичные сульфиды меди, которые, как известно, легко вступают в реакцию с $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. При подземном выщелачивании меди орошение рудного тела целесообразно вести регенерированными растворами $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, обогащенными бактериями и кислородом. Поступление в рудное тело восстановителей неблагоприятно для окислительного процесса, поскольку в самом месторождении имеет место дефицит кислорода, а скорость передвижения растворов низка. В связи с наличием этих факторов регенерация $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ в рудном теле может идти слабо.

Таким образом, в отдельных случаях целесообразно орошать руды регенерированными растворами сернокислого окисного железа. Этот вопрос следует решать в каждом конкретном случае, учитывая состав руд, минерализацию и другие факторы.

Регенерация растворов, используемых для выщелачивания меди

Регенерация растворов, которыми орошаются руды, включает следующие операции:

1) замену части отработанных растворов пресной водой, если это необходимо;

2) подкисление растворов до нужного рН (при необходимости);

3) бактериальное окисление закисного железа либо с целью получения окислителя $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, либо для осаждения части железа.

В первом случае рН растворов должен быть достаточно низкий — 2,0—2,5, а во втором — в пределах 3,0—3,5.

Если осуществление первых двух операций не представляет трудности, то регенерация растворителя с помощью бактерий требует соблюдения ряда условий. Остановимся кратко на наиболее важных из них.

Влияние температуры. Полевые исследования с естественной микрофлорой, проведенные в ходе промышленных испытаний бактериального способа выщелачивания меди на Дегтярском руднике, показали, что скорость бактериального окисления закисного железа при 20—25° была примерно в четыре раза выше, чем при 13—14°, т. е. при температуре растворов цементационной установки. За пять суток было окислено соответственно 999 и

228 мг/л двухвалентного железа. При снижении температуры до +4—6°, которая отмечалась в прудке-регенераторе в конце сентября — начале октября, регенерация $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ происходила крайне слабо. *Th. ferrooxidans* в этих растворах не развивался, число клеток не превышало 100 в 1 мл.

Влияние аэрации и бактериальных затравок. Для ускорения процесса окисления закисного железа необходима дополнительная аэрация растворов воздухом. Это мероприятие, хотя и различными методами, проводится на всех рудниках.

На некоторых рудниках создаются большие мелкие пруды, где растворы после цементации меди находятся продолжительное время. За это время закисное железо успевает в значительной мере окислиться за счет диффузии кислорода воздуха.

Аэрирование растворов и окисление двухвалентного железа происходит также при разбрызгивании растворов на поверхности отвалов и в прудках, которые зачастую создаются на поверхности отвалов. Важной особенностью выщелачивания меди из отвалов является и то, что кислород, вероятно, в достаточном количестве поступает в отвалы из атмосферы. Об этом свидетельствует то, что закисное железо окисляется в самой руде отвалов, и растворы обогащаются $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (см. табл. 21).

При подземном выщелачивании меди растворы подаются через скважины в рудное тело. Как было показано, на среднеуральских медно-колчеданных месторождениях в рудном теле имеет место дефицит кислорода (Каравайко и др., 1967). Поэтому целесообразно орошать подземные участки регенерированными и обогащенными кислородом растворами. Регенерация $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ в прудке показала, что как в стационарных условиях, так и при движении раствора (в результате его откачивания на орошение рудного тела со скоростью 40 м³/час), окисление закисного железа идет крайне медленно. Поэтому этот вариант регенерации серноокислого окисного железа неприменим для промышленных целей.

При аэрации растворов воздухом (2 л/мин на 1 м³) за 9 суток было окислено около 70% двухвалентного железа. В первое время к регенерируемому раствору целесообразно добавлять бактериальную затравку. Скорость регенерации $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ при этом возрастает. В дальнейшем часть регенерируемых растворов остается в прудке и добавления бактерий извне не требуется. При необходимости в регенерируемый раствор следует вносить также соли азота и фосфора.

Роль режима орошения при выщелачивании меди из руд

В практике выщелачивания меди и других металлов из руд большую роль играет режим орошения, т. е. количество растворов, расходуемых на орошение руды и пауза между орошениями.

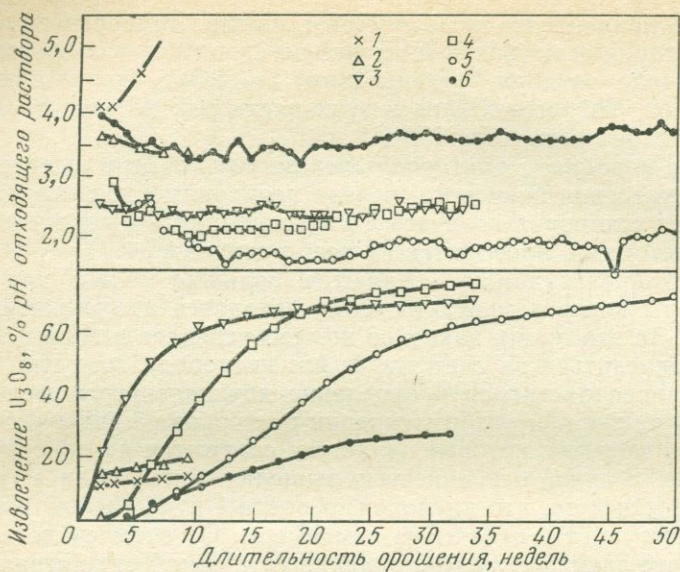


Рис. 24

Влияние расхода раствора на выщелачивание урана из отвалов руды с добавкой 2% FeS_2 (в л на 1 кг руды)

1—0,75; 2—0,25; 3—0,125; 4—0,025; 5—0,01; 6—0,0025

На рис. 24 приведены результаты выщелачивания урана из руды месторождения Бика (Португалия) (Кузнецов, 1963). Из приведенных данных видно, что оптимальный расход выщелачивающего раствора от 0,025 до 0,125 л/кг руды в неделю. В этих условиях обеспечивается достаточно интенсивная диффузия растворителя в руду и выход урана из руды в раствор. При расходе раствора 0,25—0,75 л/кг руды окисления почти не происходит, процесс также значительно замедляется при расходе 0,01 л/кг.

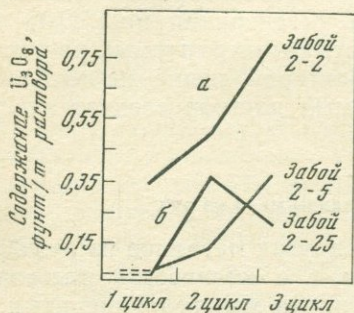


Рис. 25

Извлечение урана из забоев в зависимости от метода выщелачивания с предварительной промывкой (б) и без нее (а). Каждый цикл орошения длился 1 мес.

Чрезмерная промывка руды неблагоприятна для выщелачивания металлов. Так, на урановом руднике Стэнрок (Канада) интенсивная промывка забоев предшествовала дальнейшему бактериальному выщелачиванию урана из руды. Это мероприятие снизило эффективность извлечения урана по сравнению с выщелачиванием урана на участке, где интенсивная промывка забоя перед бактериальным выщелачиванием не проводилась (рис. 25) (McGregor, 1966).

Расход выщелачивающего раствора может меняться в широких пределах. Например, на руднике Рио-Тинто расход воды на выщелачивание около 570 л/т руды в год. Минимальное количество раствора, необходимое для успешного выщелачивания, составляет 1—3 л/сутки на 1 т руды, а максимальное около 15 л. Плаксин и Юханов (1949) приводят пример расхода раствора на одном из рудников в количестве 500—1000 м³ в сутки на отвал, содержащий 100 000 т руды, т. е. до 10 л на 1 т руды в сутки. На руднике Бисби при выщелачивании двух отвалов, содержащих 2 млн. т и 1,4 млн. т руды, расход растворов для выщелачивания составлял соответственно 1,0 и 1,4 л на 1 м³ руды в сутки (Барабошкин, 1941).

При микробиологическом выщелачивании меди из двух отвалов на руднике Рам Джангл в Австралии, один из которых содержал 200 000 т сульфидной руды и другой 50 000 т окисленной, расход раствора составлял около 4—5 л на 1 т руды в сутки (Andersen et al., 1966).

На Дегтярском руднике при проведении бактериального выщелачивания руд Южной выклинки расход растворов в орошении составлял около 2,0 л в сутки на 1 т руды.

Количество выщелачивающего раствора при орошении для каждого конкретного случая устанавливается исследованием. Совершенно очевидно, что превышение оптимального расхода ведет к охлаждению рудного тела за счет выноса тепла, накопившегося при окислении рудного тела или отвалов и приводит к снижению эффективности окисления сульфидов и выщелачивания металлов. Недостаток раствора не позволяет полностью увлажнить руду, развить интенсивные окислительные процессы, а также вытеснить продукты окисления. Об этом свидетельствуют данные термокаротажа отдельных выщелачиваемых участков Южной выклинки при выщелачивании на Дегтярском руднике (рис. 26) (Голомзик и др., 1965б).

В тесной связи с расходом раствора на выщелачивание находится и пауза между двумя очередными орошениями. Эта технология, предусматривающая чередование орошения и паузы, рассчитана на развитие бактериальных процессов окисления в самом рудном теле. При периодическом орошении создаются наиболее благоприятные условия для аэрации руды, т. е. снабжения ее кислородом. Окислительные процессы в руде при этом

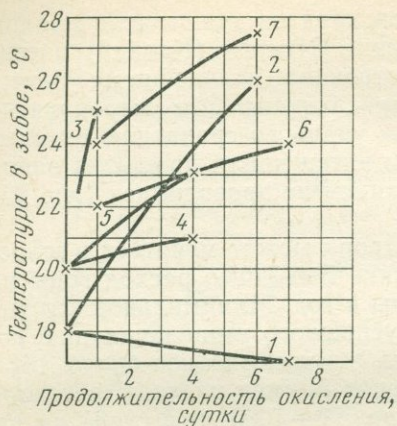


Рис. 26

Влияние количества подаваемых на орошение растворов на развитие окислительных процессов в рудном теле ($m^3/сутки$)

Скважина № 35: 1—120, 2—50, 3—30;
 скважина № 38: 4—240, 5—75;
 скважина № 12: 6—92, 7—65

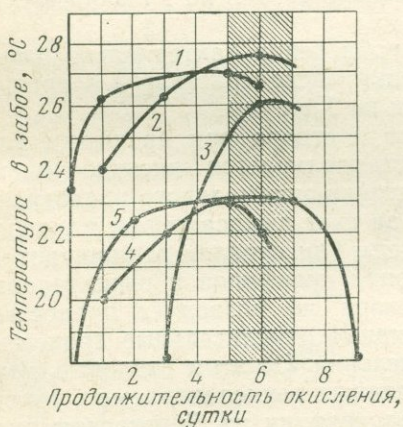


Рис. 27

Изменение температуры в забоях орошаемых скважин в связи с продолжительностью паузы в орошении

Скважины:
 1—№ 3, 2—№ 12, 3—№ 35, 4—№ 28, 5—
 № 30 (заштрихован оптимальный диапазон перерыва между орошениями)

усиливаются, а скорость выщелачивания меди и других металлов возрастает. Кроме того, во время паузы в орошении, когда руда подсыхает, происходит высаливание из нее растворимых в воде сульфатов металлов, что способствует более быстрому их выщелачиванию.

Как полагают Альман и Гаррис (Allman, Harris, 1969), лучшим способом проведения процесса выщелачивания металлов является циклическое смачивание, способствующее вымыванию выщелоченной меди из отвала с последующим дренажем для создания максимального притока воздуха. Пустоты в отвалах не должны заполняться водой или гидратом окиси железа и шламами. Так, на руднике Рей длительное непрерывное орошение одного и того же участка привело к постепенному снижению содержания меди в дренажных растворах. Была введена система орошения, при которой после снижения содержания меди в растворах от выщелачивания до $4,0 \text{ г/л}$ выщелачивание переводилось на следующие участки, а к первоначальному возвращались спустя некоторое время. Аналогичным образом строит свою работу и рудник Сильвер Белл: при обнаружении тенденции к снижению концентрации меди в растворе переходят от подачи раствора по площади одного прудка (на вершине отвала) к орошению следующего. Первый прудок оставляется для развития окисления под ним на период от нескольких дней до нескольких недель (Argall, 1963).

Длительность паузы в орошении зависит от ряда факторов, в том числе минерального состава руд, разрушенности их, мощности рудного тела. Этот фактор, как и количество растворов для орошения, должен определяться в период пуска установки по выщелачиванию. На Дегтярском руднике при проведении бактериального выщелачивания определялась оптимальная пауза между двумя очередными орошениями. Определение производилось по методике термокаротажа. Результаты определения температуры ряда контрольных скважин приводятся на рис. 27. Эти данные свидетельствуют, что на участке орошения оптимальная пауза при выщелачивании руд данной мощности и минерализации составляла около 6—7 суток. Эта пауза может изменяться при переходе на орошение этого же рудного тела, но в другом участке месторождения (например, в связи с увеличением или уменьшением мощности рудного тела в участке).

Основной контроль развития бактериальных и химических окислительных процессов в рудном теле осуществляется систематическим опробованием рудничных растворов в ряде контрольных точек, а также по валовой продукции на осадительной установке. При подборе оптимального режима выщелачивания в период пуска и регулировки процесса контроль может осуществляться термокаротажем в различных участках рудного тела или отвала. На Дегтярском руднике замеры температур в забоях скважин производились максимальным термометром. Более предпочтительна установка стационарных температурных датчиков с выводом непрерывной записи показаний на поверхность. На руднике Сан-Доминго для контроля развития окисления в выщелачиваемом участке установлено шесть датчиков с самописцем (Fitch, Davies, 1965).

Однако, если мы имеем дело со вторичными сульфидными рудами, богатыми пиритом и склонными к самовозгоранию, то процесс выщелачивания, вероятно, можно вести и фильтрационным способом непрерывного действия (Калабин, 1969). В этом случае рудное тело полностью заполняется растворителем, и орошение ведется непрерывно подогреваемыми растворами. Основным окислителем вторичных сульфидных минералов в данном случае является сульфат окиси железа. Постоянная регенерация его осуществляется бактериями *Th. ferrooxidans* в специальном прудке.

Итак, основными критериями успешного выщелачивания меди из руд являются следующие.

1. Руда должна содержать минералы, которые достаточно легко растворяются или окисляются *Th. ferrooxidans* и сернокислым окисным железом. При наличии в рудах упорных к окислению минералов процесс значительно замедляется.

2. Вмещающие породы должны обладать невысокой кислотопоглощающей способностью.

3. Степень декриптации руды должна быть умеренной во избежание значительного ошламливания растворов и снижения скорости перколирования их через отвал.

4. Выгодное размещение площадок отвалов и участков выщелачивания, обеспечивающих минимум потерь растворов и затрат на их перекачивание.

5. Создание оптимального режима выщелачивания и регенерации, соблюдение цикличности орошения, регулирование состава выщелачивающих растворов.

6. Содержание достаточного количества пирита в рудном материале, благодаря которому при окислении образуются серная кислота и сульфат окиси железа.

7. Образование сульфата окиси железа не должно превышать определенный предел, так как при недостатке свободной серной кислоты железо гидролизует и забивает каналы в руде. Кроме того, высокое содержание трехвалентного железа удорожает процесс цементации, увеличивая расход железного скрапа.

Кучное и подземное выщелачивание урана

Кучное выщелачивание урана впервые начали применять в Португалии. Руду дробили до 15 мм и складывали штабелями высотой до 1,8 м. За первые семь лет были переработаны отвалы руд в 5—10 тыс. т. Руда, содержащая пирит, выщелачивалась шахтной и дождевой водой. Извлечение урана до 80% обычно достигалось за один-два года (Mouret, Pottier, 1961).

Миллером и др. (Miller et al., 1963) были определены условия экстракции урана из разных типов португальских руд, где процесс этот ведется более семи лет. Здесь руды, содержащие FeS_2 от 0,5 до 5% и U_3O_8 от 0,1 до 0,3%, дробили до 25 мм, складировали в кучи и периодически увлажняли водой. За 16 месяцев таким образом извлекли до 80% урана. В США был опубликован ряд патентов по кучному выщелачиванию урана из сланцев, содержащих до 10% пирита.

Кучное выщелачивание урана проводится на ряде месторождений США и Канады. Обследование вод и пород показывает, что в них присутствуют тионовые бактерии *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans*.

Опыты по выщелачиванию урановых руд в штабелях, содержащих 21,5 т руды, проводились во Франции. Руда содержала сульфиды железа, а уран в руде находился в виде смолки и урановой черни. Содержание его равнялось 0,09%. За 19 месяцев нахождения руды под открытым небом дождями было вымыто 35% урана. Среднее содержание урана в растворе было 186 мг/л, а pH растворов — 2,45.

Подземное выщелачивание урана за рубежом проводится во Франции, Канаде, Португалии и других странах.

Микробиологические методы выщелачивания урана были применены в Канаде на руднике Стэнрок (Trussell, 1965; McGregor, 1966, 1969a). В отработанном руднике было проведено обрушение забалансовой урановой пиритизированной руды с образованием куч в подземных камерах. Кучи эти периодически из шлангов орошаются выщелачивающим раствором с рН 2, содержащим $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ и бактерии *Th. ferrooxidans*. После орошения дается период просушки, кучи орошаются водой, смывающей растворимые соединения урана. Период между орошениями составляет 3—4 месяца. В это время производят только смачивание руды, способствующее окислению пирита. В дальнейшем руда орошается под напором. Содержание урана в растворах достигает 453,6 мг/л. Орошающие растворы и промывочные воды собираются в коллекторе и выкачиваются на поверхность. Уран извлекается на колонках ионообменной смолы (амберлит Т. R. А-400), а растворы, содержащие FeSO_4 , идут на бактериальное окисление, при котором происходит регенерация $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. Десорбция урана и железа осуществляется 5%-ным раствором H_2SO_4 . Осаждение железа производится известью и аммиаком, осаждение урана — аммиаком. Кек обезвоживается и сушится.

На руднике Стэнрок методом бактериального выщелачивания получают 6,5% урана от общего его производства (McGregor, 1968).

На руднике Милликен в Эллиот-Лейк изучали возможность бактериального выщелачивания урана из остаточных руд в забоях (McGregor, 1968b; Кузнецова, 1970). Орошение руды производили периодически рудничными водами рудника Ланкор, имеющими рН 3,45. Первоначально пауза между орошениями составляла 3 месяца. Путем добавок солей среды 9К (Silverman, Lundgren, 1959), которые позволили активизировать деятельность бактерий в руде, время это было сокращено до 4—5 недель. Смесь солей разбрасывали в сухом виде в забоях, примерно по 3 кг на 1 кв. фут (0,09 м²) после каждой промывки. В течение года из подземных выработок рудника Милликен с помощью бактерий было извлечено 57 605 кг урана.

В целом в Канаде таким путем получают 6750—7300 кг U_3O_8 в месяц (Merrit, Pings, 1969). Производственные затраты для бактериального выщелачивания ниже, чем для обычных процессов добычи и переработки руд. Из растворов уран извлекают ионообменным способом, а из элюата путем осаждения аммиаком получают 80%-ный по U_3O_8 концентрат.

Бактериальное выщелачивание урана проводится и во Франции. На руднике Сань уран извлекали из рудничных вод естественного притока (дебит 20 м³/час). Концентрация урана в этих водах в среднем была 55 мг/л, рН 3,3. Эти воды пропускали через колонки с ионообменными смолами. Таким образом, на заводе Экарньер в 1961 г. было обработано 11 тыс. м³ рудничных

вод со средним содержанием урана 180 мг/л. Дополнительно было получено 2090 кг урана, стоимость которого составила 2,5 новых франка за 1 кг.

На заводе Бессин таким путем из рудничных вод этого же рудника было получено 9 т урана. Улучшение системы улавливания рудничных вод позволило повысить добычу урана этим способом до 2,5 т в месяц при концентрации урана в растворе около 100 мг/л. Технико-экономические расчеты показывают, что процесс этот очень выгодный. Так, при получении 25 т урана в год все затраты окупаются за один год. Минимальная концентрация урана в воде, при которой процесс еще экономически выгоден, составляет 14 мг/л.

Сведения о бактериальном выщелачивании урана в промышленных масштабах приводятся ниже (Кузнецова, 1970).

	Способ бактериального выщелачивания	Количество U_3O_8 полученного за 1 год, т
Португалия, 1953—1962 гг.	В штабелях	14% от общей добычи
То же, 1965 г.	То же	45
Канада, рудник Стэнрок, 1963 г.	Подземный	48
То же, рудник Милликен, 1964 г.	То же	6,5% от общей добычи*
Канада, 1969 г.	Общая добыча	57,5
Франция, рудник Сань, 1961 г.	В штабелях (при хранении руды на складах)	83—87,6**
То же, рудник Экарньер, 1966 г.	Подземный	От 2 до 9***
Южно-Африканская республика	В штабелях****	30—35
		—

* Mc Gregor, 1968.

** Merrit, Pings, 1969.

*** В зависимости от количества атмосферных осадков.

**** Выщелачивание хвостов золотоносных пород, содержащих уран. Подробных сведений не имеется.

Таким образом, вышеприведенные сведения показывают, что технология выщелачивания урана с помощью бактерий в основном такая же, как и при кучном и подземном выщелачивании меди.

Микробиологический и химический контроль при выщелачивании

Контроль микрофлоры и химические анализы, осуществляемые на месторождении или отвалах руды во время проведения выщелачивания меди и других металлов, несколько отличаются от обследований месторождений, где идут спонтанные бактериальные окислительные процессы. Основной задачей контроля в ходе выщелачивания является выяснение основных факторов, оказы-

вающих влияние на ход выщелачивания, на его эффективность и поддержание режима бактериального выщелачивания в области оптимума.

В отличие от полевых исследований на месторождении, когда принудительное орошение не ведется, район систематического опробования на выщелачиваемом участке или отвале значительно сужается и в основном ограничивается областью орошения и узлами выщелачивания.

При этом контролируется:

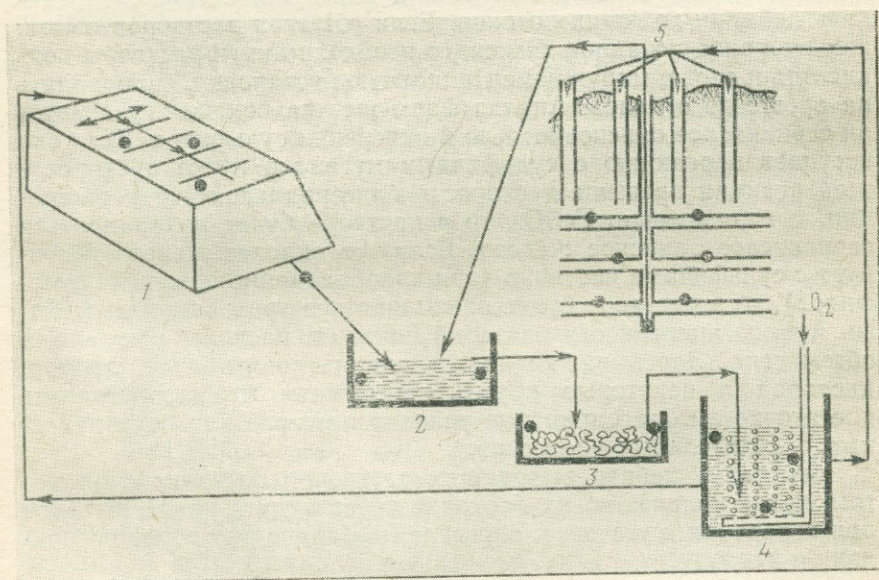
- 1) какие организмы участвуют в выщелачивании руды;
- 2) насколько полно охвачен процессами выщелачивания рудный массив или отвал, как по глубине, так и вдоль (вкрест) простираения его;
- 3) режим орошения руды;
- 4) режим регенерации выщелачивающего раствора (окисление двухвалентного железа, осаждение трехвалентного железа и других компонентов).

При режиме выщелачивания, близком к оптимальному, процессы окисления развиваются во всей массе отвала или рудного тела, и в периоды орошения руда обсеменяется бактериями и

Р и с. 28

Схема расположения точек опробования при кучном и подземном выщелачивании меди из руды

1 — отвал, 2 — отстойник, 3 — цементация меди, 4 — регенерационный прудок, 5 — рудник



происходит вынос меди с растворами, дренирующими через руду. В случае отклонения режима от оптимума количество и активность бактерий, а также вынос меди с растворами снижаются.

Основные участки, на которых необходимы систематическое опробование и контроль, могут быть проиллюстрированы на примере выщелачивания меди из отвалов и рудного тела в месторождении (рис. 28).

Кучное выщелачивание меди

1. Анализ руды в отвалах. При выщелачивании меди из отвалов руды образцы для микробиологического и химического анализов следует брать из следующих пунктов: а) поверхности отвала, б) из середины отвала и в) из нижнего слоя отвала.

Необходимо проводить рациональный анализ руды на медь. Эти данные позволят правильно решить некоторые технологические задачи, как, например, подбор растворителя, необходимую степень бактериальной регенерации железа и др.

Необходимо также анализ температуры в руде. При наличии в руде пирита и сульфидов меди в результате экзотермических окислительных процессов температура повышается. Температура, таким образом, может служить одним из критериев оценки интенсивности окислительного процесса в руде.

2. Анализ растворов из прудков, собирающих растворы из под отвалов. При этом в первую очередь следует производить анализы содержания выщелачиваемых металлов, рН, содержание закисного и окисного железа и бактерий, а также определять дебит выходящих потоков. Если рН этих растворов высок, а содержание металлов низкое, то необходимо эти растворы подкислять и снова, минуя цементационную установку, направлять на орошение отвалов. Анализ форм железа покажет, участвует ли серноокисное окисное железо в окислении сульфидов. Если оно вступает в реакцию с сульфидами металлов легко и скорость этой реакции превышает скорость бактериальной его регенерации, т. е. окисления $FeSO_4$, то в растворе будет накапливаться серноокисное закисное железо. Если же окисное железо реагирует с сульфидами частично (при преобладании первичных сульфидов), то в растворе будет накапливаться трехвалентное железо. Анализ численности бактерий покажет, насколько руда ими обсеменена. Здесь важно также анализировать азот, фосфор, кислород и некоторые другие компоненты, чтобы определить достаточно ли благоприятные условия в отвале для бактериальных окислительных процессов.

Измерение дебита выходящих растворов позволит судить о том, какое количество их проходит через руду и какое теряется при испарении и утечке, т. е. составить баланс растворов по приходу и расходу.

3. **Анализ растворов отстойника.** При этом необходимо определять какое количество шламов выносятся из руды и с какой скоростью они осаждаются при определенной скорости продвижения растворов, а также содержание меди, железа и бактерий.

4. **Анализ вод цементационной установки** производится в начале и в конце установки. Определяют содержание меди, железа, рН и количества бактерий. Анализы меди в начале цементационной установки показывают какое количество металла поступает на цементацию, в конце — полноту извлечения металла. Анализы рН, бактерий и железа характеризуют растворы, поступающие на регенерацию в прудок.

5. **Анализ растворов в регенерационном прудке.** Цель этого процесса — регенерация сернокислого окисного железа при бактериальном окислении сернокислого закисного железа растворов цементационной установки. Как уже отмечалось выше, этот процесс необходим как для удаления части железа из раствора, так и для образования окислителя и развития бактерий. При обильной аэрации раствора окисление идет равномерно по всему прудку. Поэтому достаточно произвести анализы содержания двух- и трехвалентного железа, рН и бактерий в начале и в конце прудка. Здесь же необходимо контролировать температуру, а также делать периодические анализы на содержание азота и фосфора, добавляя их при необходимости.

Подземное выщелачивание меди

Система контроля и карта опробования участка выщелачивания и установки при подземном выщелачивании практически подобны тем, которые применяются при организации контроля кучного выщелачивания. Однако имеются и некоторые особенности. Так, ввиду значительных размеров рудного тела в подземных условиях по сравнению с габаритами отвалов (сотни метров по падению по сравнению с 15—30 м высоты отвала) ход растворов при подземном выщелачивании намного сложнее, чем при кучном. Наличие заложённых и заиленных пространств, целиков, провалов и уцелевших горных выработок может значительно изменить путь выщелачивающих растворов. Поэтому в период пуска установки подземного выщелачивания необходимо, насколько возможно, точно установить распределение потоков по падению рудного тела от всех групп орошающих скважин и даже от отдельных скважин. Это необходимо для регулирования сплошного и равномерного орошения выщелачиваемого участка.

Как уже указывалось выше, развитие окислительных процессов в руде может контролироваться изменением температуры. В случае кучного выщелачивания температура вытекающих изпод отвала растворов близка к температуре внутри отвала. При подземном выщелачивании ввиду смешения растворов выщела-

чивания с грунтовыми водами естественного притока, которые, как правило, имеют относительно низкую температуру, по температуре раствора нельзя судить об интенсивности окислительных процессов в орошаемой зоне. Замер температуры осуществляется датчиками с выводом сигналов на поверхность. В качестве датчиков используются термистры, опускаемые в забой скважин, контактирующих с выщелачиваемым участком рудного тела.

Учет количества и активности микроорганизмов, данные химического состава вытекающих растворов и замеры температуры в руде дают возможность судить о ходе процесса окисления сульфидов и выщелачивания металлов. Это позволяет при необходимости регулировать процесс выщелачивания. Например, при медленном окислении железа в регенераторе следует поднять температуру раствора, усилить аэрацию или внести азотные и фосфорные соли. При снижении выноса меди из рудного тела или отвала следует изменить режим орошения.

Некоторые примеры очистки сточных вод гидрометаллургических установок

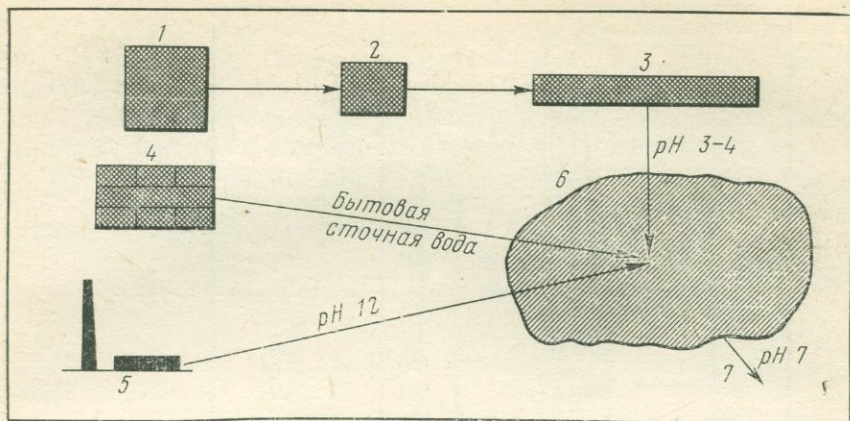
Одним из важнейших вопросов при получении меди гидрометаллургическим путем является очистка сточных вод, содержащих большие количества железа и имеющих кислую реакцию. Для нейтрализации растворов и осаждения металлов обычно используют известковое молоко.

В США фирма «Анаконда» за последние 10 лет затратила 12 млн. долларов на строительство установки по обезвреживанию сточных вод: 26,5 тыс. м³/сутки — рудничных вод (средний состав: меди — 0,35 г/л; железа — 2 г/л; рН 3,5—4,2); 204,4 тыс. м³/сутки — из сгустителей фирмы «Анаконда», с рН до 12; 68,1 тыс. м³/сутки — из сгустителей новой фабрики «Weed» и сточных вод от поселка на 50 тыс. жителей (Hazen, 1965).

Схема установки приведена на рис. 29. Рудничные воды пропускают через цементационную установку, в результате чего получают 362,9 т цементной меди в месяц.

Раствор после выделения меди, содержащий 2,3 г/л железа (рН 3,2—4,5), спускают в пруд-отстойник площадью около 3600 тыс. м², в который одновременно спускают воду из сгустителей обогатительных фабрик и сточные воды поселка. После смешения всех вод рН их возрастает до 6,8—7,4, а сульфат окиси железа осаждается в виде Fe(OH)₃. Коагулируются также и другие примеси.

Чистая осветленная вода спускается в реку. Химический состав сбрасываемой воды следующий (мг/л): растворимый кислород — 8—8,8; SO₄ — 88; Fe³⁺ — 0,3; Zn²⁺ — 0,4; Cu — 0,01; рН 7,2. Температура воды летом — 15,5—21,1°.



Р и с. 29

Схема очистки рудничных кислых вод (Кузнецов, 1968)

1 — рудник, 2 — отстойный пруд, 3 — цементационная установка, 4 — поселок, 5 — сгустители фабрики, 6 — пруд-коагулятор, объем 3,6 млн. м³, осаждение Fe(OH)₃; 7 — сброс очищенной воды в реку

Другой метод очистки кислых рудничных вод угольных месторождений разрабатывается Таттлом и др. в США (Tuttle et al., 1969a, b).

Авторами предлагается метод удаления SO_4^{2-} и других ионов из вод с помощью сульфатредуцирующих бактерий. Принцип метода заключается в следующем. Сульфатредуцирующие бактерии восстанавливают сульфаты дренажных вод до сероводорода, который взаимодействует с железом и осаждает его в виде сульфида.

В качестве источника углерода и энергии для этих бактерий используют продукты распада древесных опилок. Древесные опилки разлагаются смешанной гетеротрофной микрофлорой.

Лабораторные опыты с накопительной культурой сульфатредуцирующих бактерий показали, что при pH 3,6—3,8 с опилками и при 37° максимальная скорость удаления SO_4^{2-} из дренажных вод достигает 71,7 мкг на 1 мл в день. Восстановление сульфатов начиналось очень быстро и происходило с постоянной высокой скоростью более длительный период, если добавляли частично разложенные опилки. pH среды возрастал до 7,3. Снижался также окислительно-восстановительный потенциал. Концентрация растворенного закисного железа в первые пять дней инкубации возрастала. В дальнейшем она быстро снижалась в связи с образованием сероводорода и выпадения сульфида железа. Скорость сульфатредукции возрастала при добавлении к среде 0,1%-ной глюкозы, 0,1%-ного бутирата натрия, 0,1%-ных пропионовой и уксусной кислот.

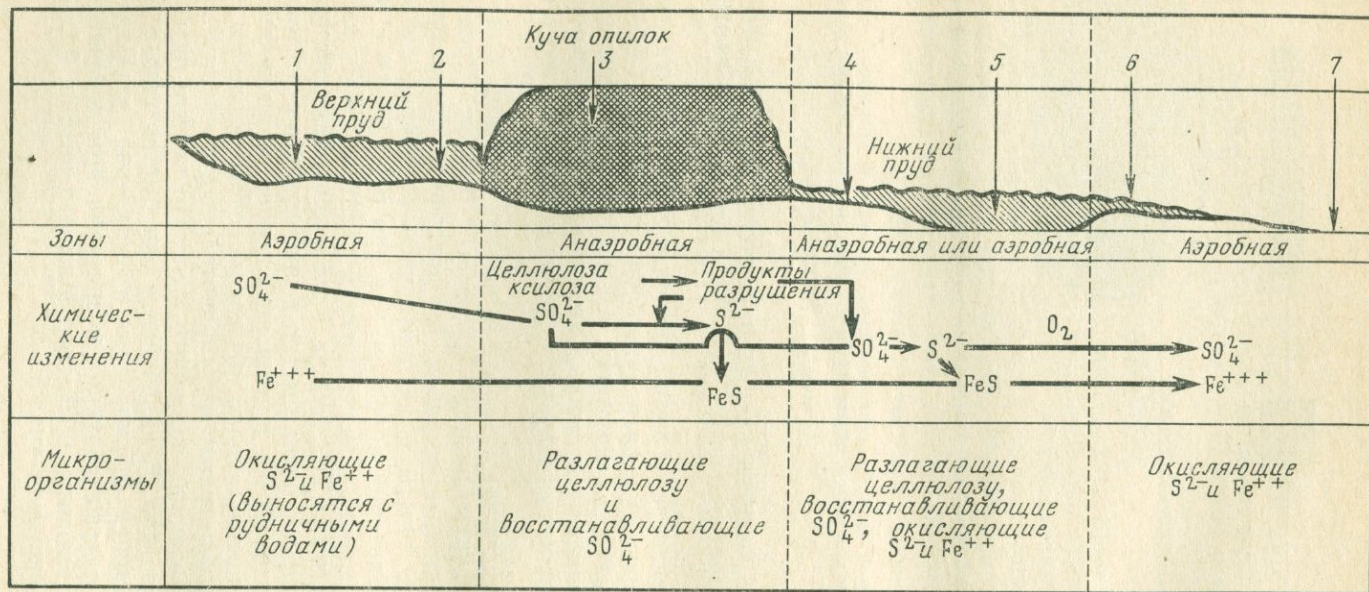


Рис. 30

Схема установки, показывающая химические изменения и распределение микроорганизмов по ходу кислого потока (Tuttle et al., 1969b)

1—7 — станции отбора проб

Схема укрупненного опыта по очистке рудничной воды приведена на рис. 30. На пути движения рудничной воды была насыпана дамба из древесных опилок. Вода поступала через дамбу с низкой скоростью. Особенности рельефа местности позволили образоваться двум прудкам, перед и после дамбы.

Ниже приведены химические и биологические изменения, происходящие в рудничной воде при продвижении ее через древесные опилки (Tuttle et al., 1969b).

	Верхний прудок *	Нижний прудок *
pH	2,84 (3,90—2,40)	3,38 (4,85—2,70)
SO_4^{2-} (мкМ/мл)	8,765 (5,205—12,492)	6,400 (3,277—10,306)
Общее железо (мкМ/мл)	1,067 (0,788—1,325)	0,313 (0,064—0,681)
Сероокисляющие бактерии (НВЧ/100 мл) **	9,580 (130—33 000)	1 820 000 (23 000—7 000 000)
Железоокисляющие бактерии (НВЧ/100 мл) **	9520 (490—33 000)	426 000 (33 000—1 400 000)
Анаэробы (в мл на тиогликолят-ной среде)	2,5 (0—10)	528 (10—1 000)
Сульфатредуцирующие бактерии (НВЧ/100 мл) **	0	876 (0—2400)
Гетеротрофные аэробы [в мл на СД-агаре (Дифко)]	15,4 (2—44)	821 000 (49—290 000)
TGUE-агар (Дифко) ***	47,4 (2,5—110)	350 000 (470—1 700 000)

* В скобках даны крайние значения цифр. Верхний прудок — станция № 1, нижний прудок — станция № 5, см. рис. 30.

** НВЧ — наиболее вероятное число бактерий.

*** TGUE — тригтонглюкозный экстракт (TGE), с добавлением 0,5 г дрожжевого экстракта на 1 л.

Из этих данных видно, что в водах, прошедших через опилки, возрастает pH и снижается содержание SO_4^{2-} и железа. В водах нижнего прудка резко возросло содержание гетеротрофных бактерий и в значительных количествах содержались сульфатредуцирующие бактерии из рода *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*. Из гетеротрофных бактерий в нижнем прудке обнаружено 10 штаммов дрожжей и 12 штаммов бактерий из родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* и *Xanthomonas*. Из опилок также выделены 7 штаммов стрептомицетов, использовавших целлюлозу, глюкозу и ксилосу. Наличие больших количеств бактерий в нижнем прудке, вероятно, связано с выносом их из древесных опилок. В лабораторных условиях смешанная культура сульфатредуцирующих бактерий восстанавливала SO_4^{2-} при pH 2,8 с опилками в качестве единственного источника питания. Чистая культура сульфатредуцирующих бактерий не восстанавливала SO_4^{2-} при pH ниже 5,5. Химические изменения воды в потоке и распределение микроорганизмов в различных участках установки показаны на рис. 30.

МЕТОДЫ УЧЁТА И ВЫДЕЛЕНИЯ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР

В настоящей главе приводятся методы и приемы количественного учета и выделения тионовых и некоторых других видов бактерий, которые встречаются в месторождениях полезных ископаемых и играют важную роль в окислении сульфидов металлов, серы, марганца или в восстановительных процессах.

Кроме того, приводятся методы выделения чистых культур тионовых бактерий, экология которых изучена слабо. Это — литогетеротрофы или гетеротрофы, способные окислять восстановленные соединения серы. Они, вероятно, играют второстепенную роль в окислительных процессах месторождений. Эти бактерии хорошо растут на различных средах с тиосульфатом натрия и затрудняют учет и выделение некоторых автотрофных тионовых бактерий.

Что касается других групп бактерий, как, например, нитрифицирующих, денитрификаторов (гетеротрофы) и др., которые встречаются в месторождениях сульфидных руд, но не имеют прямого отношения к рассматриваемой здесь проблеме, то мы ограничились только приведением питательных сред (настоящая глава). Методы учета и выделения этих бактерий приводятся в опубликованных руководствах (Кузнецов, Романенко, 1963; Большой практикум по микробиологии, 1962).

Микробиологическое обследование месторождений включает в себя проведение следующих работ:

- 1) изучение видового состава микроорганизмов в рудах и водах и определение характера их роста на используемых питательных средах, идентификация и выделение чистой культуры;
- 2) определение численности той или иной интересующей исследователя узкой группы бактерий в рудах и водах на специфических питательных средах.

Однако в полевых условиях зачастую первую задачу выполнить бывает трудно. Поэтому исследователи на месторождениях

большей частью проводят количественный учет известных и неизвестных микроорганизмов на стандартных питательных средах. В этом случае, после появления роста на той или иной питательной среде необходимо проводить идентификацию культур. По характеру роста бактерий на специфических питательных средах еще нельзя судить об их видовой принадлежности.

Из образцов руды, доставленных в лабораторию, необходимо также выявить другие группы бактерий. При их наличии следует провести повторный микробиологический анализ этих образцов на вновь выявленные группы.

Подсчёт микроорганизмов методом серийных разведений

Метод серийных разведений используется для учета жизнеспособных бактериальных клеток. Этот метод учета бактерий приводится в практических руководствах: Селибер «Практикум по микробиологии» и Дж. Мейнелл, Э. Мейнелл «Экспериментальная микробиология».

Для количественного учета жизнеспособных микроорганизмов в месторождениях полезных ископаемых простым и удобным является метод предельных десятикратных разведений. Хотя этот метод менее точен, чем, например, чашечный, однако на агаризованных средах многие тионовые бактерии растут плохо. Для посева берется 1 г руды или 1 мл исследуемой воды, которые вносятся в пробирку, содержащую 9 мл стерильной воды. После тщательного перемешивания по 1 мл суспензии переносят в следующую пробирку и т. д. Каждый раз используется новая стерильная пипетка. Таким образом, готовят последовательные разведения образцов руды или воды с таким расчетом, чтобы последние разведения были бы выше тех, которые содержат один микроорганизм в 1 мл. После этого из каждого разведения стерильной пипеткой берут по 1 мл и заражают по две пробирки с жидкой питательной средой. В каждой серии посевов несколько (2—3) пробирок со средой оставляются незасеянными. Они служат контролем и показывают абсолютно ли стерильна среда, используемая для учета бактерий, а также химические изменения, которые происходят при инкубации пробирок. После инкубации определяют в каких пробирках имеется рост и в каких нет.

Предельное разведение, в котором имеется рост, показывает примерное содержание бактерий, содержащихся в исходном образце. Так, например, были сделаны следующие разведения образца руды: 10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 и 10^6 . Рост был отмечен в разведении 10^5 в обеих пробирках. В разведении 10^6 рост не был отмечен. В таком случае при изучении распространения микроорганизмов мы считаем, что в исходном образце содер-

жится 100 000 клеток в 1 г руды или 1 мл воды. Зачастую рост наблюдается только в одной из двух пробирок. Так, например, рост был отмечен в разведении 10^6 в одной пробирке. В этом случае можно брать среднюю величину, т. е. в 1 мл или 1 г образца содержится 500 000 клеток бактерий. Если же развитие бактерий имело место и в крайних разведениях, то посев делается заново. Иногда в этом случае мы принимаем, что в 1 г пробы содержится бактерий больше 1 млн. Более точно число клеток бактерий в руде или воде можно учесть методом серийных разведений, пользуясь примерами и таблицами, приведенными в вышеуказанных руководствах (Большой практикум по микробиологии, 1962; Мейнелл, Мейнелл, 1967).

Степень разведения исходного образца зачастую трудно определить и поэтому обычно выбирается произвольно. Однако при тщательном анализе образца (в особенности при учете pH, содержания Fe^{2+} , Fe^{3+} и др.) можно с достаточной точностью определить степень, до которой нужно делать разведения исходного образца.

При бактериальном анализе высокоминерализованных пластовых вод питательную среду нужно готовить на воде, разбавленной пластовой водой. При бактериальном анализе руд и рудничных вод следует пользоваться средами, приведенными в настоящей главе. Питательные среды, приготовленные на рудничной воде с добавкой солей и проверенные нами на ряде месторождений, не имели каких-либо преимуществ перед стандартными средами. Для получения разведения мы обычно использовали водопроводную стерильную воду с pH, близким к pH исследуемой руды или воды.

Методы количественного учёта основных физиологических групп бактерий

Анализ автотрофных тионовых бактерий

Анализ на *Thiobacillus ferrooxidans*. Количественный учет этой группы бактерий проводится на среде Сильвермана и Люндгрена 9К (№ 10). О развитии судят прежде всего по появлению бурой окраски среды от образования окисного железа. В контрольных пробирках, в которые руда или рудничная вода не вносились, так же, как и в тех разведениях, где бактерий не оказалось (обычно это в последних разведениях), среда остается практически без изменения. В сомнительных случаях производится микроскопирование, определение закисного железа и повторные посевы на свежую питательную среду. На среде 9К, помимо *Th. ferrooxidans*, очень часто растут грибы и гетеротрофные бактерии.

Лаптева, Крючков и Голумзик (1971) предложили использовать для количественного учёта *Th. ferrooxidans* гелевые пластинки, пропитанные средой 9К. Гелевые пластинки готовятся из метакремнекислого натрия с добавлением кислоты по методу, описанному в руководстве Родиной (1965). После приготовления гель стерилизуется 20 мин. в автоклаве 0,5 атм. и пропитывается средой 9К с железом. На каждую чашку Петри с гелем наносится по 10 мл среды, подкисленной до pH 2,0. Для лучшего пропитывания среду перед добавлением к гелю подогревают до 40—50° и чашки помещают на сутки в термостат (28°). После пропитывания излишек среды сливается. Конечный pH геля 2,0—2,2. Посевной материал в определенном количестве наносится на чашки с гелем и равномерно распределяется по поверхности шпателем. Затем чашки помещаются во влажные камеры при 28° для предотвращения высыхания и растрескивания геля. После 3—5 суток инкубирования на геле появляются мелкие колонии рыжеватого-коричневого цвета с неровными краями. С возрастом колонии приобретают темно-коричневую окраску. Исследования, проведенные на Дегтярском руднике, показали пригодность данного метода для количественного учета *Th. ferrooxidans* в рудничных водах.

Анализ на *Th. thiooxidans*. Количественный учёт *Th. thiooxidans* проводится на среде Ваксмана с элементарной серой (№ 8). О развитии этой группы бактерий судят по подкислению среды и появлению специфического опалесцирующего помутнения. В сомнительных случаях проводят микроскопию среды и повторные пересевы на свежую питательную среду. Посевы обычно загрязнены грибами. Однако в том случае, если в исследуемых образцах присутствует *Th. ferrooxidans*, учёт первого организма усложняется. Как известно, *Th. ferrooxidans* окисляет элементарную серу и поэтому растет на среде Ваксмана. Таким образом, судить о развитии *Th. thiooxidans* только на основании анализа pH среды и помутнения ее еще нельзя.

При разработке метода учёта этих бактерий при их совместном присутствии мы попытались воспользоваться тем фактом, что имеющиеся у нас чистые культуры *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans* растут на среде с серой с разной скоростью. Так, если *Th. thiooxidans* на среде Ваксмана с серой проявился полностью за 10 суток при исходном его содержании от 10 до 10 000 клеток в 1 мл, то *Th. ferrooxidans* — только через две недели при исходном его содержании 100 000 клеток в 1 мл и через 20 дней при содержании 10 000 клеток в 1 мл. При исходном его содержании 10 и 100 клеток в 1 мл рост не был отмечен даже через 40 суток.

Однако, если учесть то, что в месторождениях сульфидных руд одни бактерии могут быть активными и встречаются в больших количествах (например, *Th. ferrooxidans*), другие же (на-

пример, *Th. thiooxidans*) слабо активны и содержатся в малых количествах, естественно, что в таком случае разграничить их по скорости роста на сере не удастся. Кроме того, в природе можно ожидать наличие штаммов *Th. ferrooxidans*, которые по-разному относятся к сере, одни более быстро окисляют ее, другие медленней. Опытным путем нами было показано, что повторные пересевы чистой культуры *Th. ferrooxidans* на среду с серой активизируют ее, и скорость окисления серы резко возрастает. Таким образом, возможна адаптация этих бактерий к сере и в месторождениях. Поэтому культуры бактерий, выросшие на среде Ваксмана с серой, необходимо повторно пересевать на среды 9К с двухвалентным железом и Ваксмана с серой. Отсутствие роста на среде 9К указывает, что на среде Ваксмана развивался *Th. thiooxidans*.

Если же на среде 9К имеется рост, типичный для *Th. ferrooxidans*, то можно думать, что на среде Ваксмана с серой растут либо обе культуры, либо только *Th. ferrooxidans*. В этом случае необходимо выделять чистую культуру и определять ее.

Крамаренко (1962) для учёта *Th. thiooxidans* использует среду Ваксмана, в которой сера заменена тиосульфатом натрия. О развитии этих бактерий судят по потреблению $S/S_2O_3^{2-}$ за 10 дней. Для засева 50 мл среды брали 15 мл рудничной воды или 10 г руды. Исходный рН среды — 3—4.

Недостаток этого метода заключается в следующем:

1) при внесении 15 мл воды или 10 г руды, имеющих низкие значения рН (1,0—2,5), рН среды снизится. Тиосульфат натрия при рН ниже 3,0 разлагается химически и тем быстрее, чем ниже рН;

2) при развитии *Th. thiooxidans*, который образует H_2SO_4 , рН резко снижается, что также способствует химическому разложению $S/S_2O_3^{2-}$.

Поэтому судить только по потреблению $S/S_2O_3^{2-}$ о развитии *Th. thiooxidans* нельзя. Причем, сам автор (Крамаренко, 1962) пишет, что только в ряде проб была установлена способность бактерий, отнесенных к *Th. thiooxidans*, окислять серу в аэробных условиях. Как известно, *Th. thiooxidans* прекрасно окисляет серу. Поэтому не ясно, с какими бактериями Крамаренко имела дело при анализе в руде и водах *Th. thiooxidans*.

Учёт бактерий, развивающихся на средах с $S/S_2O_3^{2-}$

Более трудным является учет тионовых бактерий, развивающихся на средах с тиосульфатом натрия. На средах с высокими значениями рН (7,0) тиосульфат натрия способен окислять многие тионовые бактерии и гетеротрофы.

Приведем один из примеров учета тионовых бактерий в рудах медно-никелевых месторождений Кольского п-ва методом

предельных десятикратных разведений на средах Баалсруда и Бейеринка. Данные анализа посевов приведены ниже.

Разведение пробы руды	Рост на средах Баалсруда и Бейеринка		Рост на МПА	Вид бактерий (чистые культуры)
	на жидких	на твердых		
1—3	Пленка и кольцо серы, помутнение на среде Баалсруда отложение серы на стенках и дне пробирок	№ 1. Колонии белые от выпавшей серы. № 2. Колонии трех типов: а) прозрачные углеводные приподнятые; б) с уплотнением в центре, плоские; в) плоские с изрезанным краем	Колонии трех типов, как на среде Баалсруда (№ 2); образуют синезеленый пигмент	№ 1—близкие к <i>Th. thiooxyanoxidans</i> ; № 2— близкие <i>Ps. denitrificans</i> и <i>Ps. fluorescens</i>
4 и 5	Равномерное помутнение	Колонии только № 2	То же	Только № 2
6	Нет развития	Нет развития	Нет развития	—

Очевидно, что на средах Баалсруда и Бейеринка развивается смешанная культура. Причем одни и те же бактерии могут развиваться на обеих средах. В нашем случае более активный рост был на среде Баалсруда (исходный pH 6,8). Следовательно, при оценке развития бактерий в данном случае можно говорить, что в пробе руды было $X \cdot 10^3$ клеток бактерий, откладывающих серу вне клеток, и $X \cdot 10^5$ — не откладывающих серу.

Выделение чистых культур и их изучение показало, что бактерии, откладывающие серу вне клетки, близки к *Th. thiooxyanoxidans* и являются автотрофами, а образующие только помутнение, близки к *Ps. denitrificans* и *Ps. fluorescens*. Они окисляют $S/S_2O_3^{2-}$ только до $S/S_4O_6^{2-}$ и лучше растут на органических средах. Таким образом, помутнение в крайних разведениях при количественном учёте бактерий свидетельствует не о слабом развитии автотрофов, а скорее о развитии гетеротрофов.

При проведении количественного учета бактерий на среде Баалсруда наблюдалась денитрификация с выделением газообразного азота. Изучение чистых культур, выделенных из денитрифицирующих накопительных культур, показало, что накопительная культура состояла из смеси бактерий — автотрофа, способного восстанавливать NO_3^{1-} до NO_2^{1-} и близкого к *Th. thiooxyanoxidans*, и гетеротрофов, близких к *Ps. denitrificans* и *Ps. fluorescens*. Опыты, поставленные с чистыми культурами этих бактерий, говорят о том, что автотроф и один гетеротроф в автотрофных анаэробных условиях практически не развиваются, а два гетеротрофных организма — очень слабо. Несколько лучше процесс шел в смешанной культуре. Так, за 10 суток смешанной культурой в анаэробных условиях (в колбах с резиновыми пробками и водяными затворами) было окислено 0,29 г/л $S/S_2O_3^{2-}$.

Процесс шел до S/SO_4^{2-} и $S/S_4O_6^{2-}$, возможно, за счет растворенного в среде кислорода. Образование азота было слабым. Для сравнения взята чистая культура автотрофного *Th. denitrificans*, любезно предоставленного нам Ляликовой. Этот организм за 10 суток в анаэробных условиях окислил около 0,8 г/л $S/S_2O_3^{2-}$ количественно до S/SO_4^{2-} . Развитие сопровождалось обильным выделением газообразного азота. Следовательно, обнаружение выделения газообразного азота, наряду с потреблением $S/S_2O_3^{2-}$ на среде Баалсруда, еще недостаточно для заключения о развитии как автотрофного (Lees, 1912; Baalsrud, Baalsrud, 1954), так и факультативно-автотрофного (Beijerinck, 1904; Тюльпанова-Мосевич, 1930) организма.

Выделенные нами гетеротрофные бактерии, близкие *Ps. denitrificans* и *Ps. fluorescens*, в чистой культуре энергично денитрифицируют на среде Гильтая с лимоннокислым кальцием и очень слабо — на минеральной среде Баалсруда с $S/S_2O_3^{2-}$. Можно допустить, что слабая денитрифицирующая способность подобных организмов, которая проявляется в автотрофных условиях, связана с наличием органического вещества, поступающего с рудой или водой. Источником его могут быть и отмершие клетки сапрофитных бактерий. В пользу этого предположения говорит и то, что на среде Баалсруда денитрификация идет активнее в присутствии автотрофов и кислорода (высокие пробирки или трубки Дунбара под ватной пробкой). В этом случае в верхних частях сосудов развиваются автотрофы, выделяющие слизь и другие органические вещества, которые используются гетеротрофами.

Таким образом, ни один из выделенных нами видов бактерий нельзя отнести к *Th. denitrificans*. Некоторые авторы (Тюльпанова-Мосевич, 1930; Baalsrud, Baalsrud, 1954) отмечают, что при развитии в аэробных условиях денитрифицирующая способность бактерий ослабевает или теряется.

Th. denitrificans, выделенный Ляликовой, в течение пяти лет выращивали в аэробных условиях на твердой среде Бейерника для *Th. thioragus*, тем не менее уже сразу после пересева в анаэробных условиях денитрификация происходила весьма активно. В итоге, можно заключить, что как физиология, так и особенности распространения и геохимическая роль тионовых денитрификаторов в рудных месторождениях изучены крайне слабо. Очевидно, что ни среда Баалсруда, ни среда Бейерника, используемые для количественного учета и выделения *Th. denitrificans* и *Th. thioragus*, не являются селективными и судить по характеру роста бактерий или по потреблению $S/S_2O_3^{2-}$, как это делает Крамаренко и др. (1961), о их видовой принадлежности нельзя. В каждом случае нужно выделять бактерии в чистую культуру и определять их.

Анализ на *Th. denitrificans*. Количественный учет проводится на твердой или жидкой среде Баалсруда (№ 6) в пробирках в анаэробных условиях. В этом случае среда наливается под резиновую пробку. О развитии этой группы бактерий судят по образованию газообразного азота. На твердой среде Баалсруда характерным признаком развития культуры является разрыв агара. Однако выделение газообразного азота и разрыв агара могут вызывать и бактерии типа *Th. trautweinii* и *Th. A2* при наличии органических веществ. Поэтому и этот признак еще не является категоричным для определения видовой принадлежности выросших бактерий.

Для идентификации этих бактерий из накопительных культур делаются пересевы на чашки Петри с твердой средой Баалсруда и МПА. Из отдельных колоний следует выделять чистую культуру и определять ее.

Анализ на *Th. thioragus*. Количественный учёт *Th. thioragus* проводится на среде Бейеринка (№ 1). О развитии этой группы бактерий судят по появлению плёнки или кольца на поверхности среды. Культуры, выросшие на жидкой среде Бейеринка, следует высевать на другие среды, как, например, среду Баалсруда (аэробно и анаэробно), на МПА и на твердую среду Бейеринка (№ 2). Для окончательной идентификации следует выделять чистые культуры и определять их.

Анализ на *Thiobacillus у*. Этот организм учитывается на жидкой среде Ляликовой с антимономитом (№ 3). Признаком развития *Th. у* является помутнение среды, разрыхление антимонита и снижение рН с 9 до 4,5—5,0. Для идентификации этой группы бактерий накопительную культуру высевают на твердую среду Бейеринка (№ 2), и затем из отдельных колоний следует выделить чистую культуру.

Анализ миксотрофных тионовых бактерий

Большого внимания заслуживают такие виды бактерий, как *Th. novellus*, *Th. perometabolis*, *Th. intermedius* и др. Эти бактерии выделены в основном либо из почв, либо из источников. Возможно, что они имеются также и в месторождениях сульфидных руд, однако до сих пор не учитывались. Следовательно, геохимическая роль их в месторождениях полезных ископаемых не изучена. Таким образом, приемы и методы учёта этих бактерий разработаны еще слабо.

Учитывая это, мы ограничились только описанием сведений, касающихся морфологии и физиологии этих бактерий (глава 1), а в настоящей главе приводим методы выделения чистых культур и состав питательных сред, используемых для их выделения и культивирования.

Следует отметить, что при экологических исследованиях эти

виды бактерий также необходимо учитывать. Основной принцип учёта и выделения таков же, как и для других тионовых бактерий, а именно:

- 1) посев на соответствующие питательные среды;
- 2) идентификация организмов путем перекрестных пересевов на другие среды, в том числе и на среды с органическими веществами и МПА, анализ характера роста бактерий на твердых и жидких средах;
- 3) выделение чистой культуры и изучение ее физиологических особенностей.

Эти приемы позволяют решить вопрос о том, с каким организмом исследователь имел дело в том или ином случае.

Итак, при количественном учёте тионовых бактерий нужно учесть следующее:

1) что в исследуемых рудах или водах мы имеем дело со смесью культур, а не с монокультурой;

2) что абсолютно элективных сред не существует. В особенности это относится к средам с тиосульфатом натрия и имеющей нейтральную или слабощелочную реакцию.

Поэтому, если не уделять должного внимания идентификации бактерий при экологических исследованиях, то одна и та же группа бактерий может быть учтена на многих средах, а один и тот же вид бактерий может быть принят за несколько. Это, естественно, приведет к ошибочным выводам. Следовательно, делать заключение о видовой принадлежности того или иного организма только на основании признаков роста на соответствующих средах нельзя. В каждом конкретном случае следует выделять выросшие на средах культуры бактерий и определять их. В том случае, если выделения чистых культур не проводится, то можем говорить только о группах тионовых бактерий, окисляющих восстановленные соединения серы на соответствующих питательных средах.

Рекомендуемые среды, характеристика основных групп тионовых бактерий, развивающихся на этих средах, и их видовой состав приведены ниже.

Среда	Характеристика основных групп	Видовой состав групп
9К	Окисляющие $FeSO_4$ в кислой среде	<i>Th. ferrooxidans</i>
Ваксмана с серой	Окисляющие элементарную серу в кислой среде	<i>Th. thiooxidans</i> , <i>Th. ferrooxidans</i>
Бейеринка, Баллеруда и др. в аэробных условиях	Окисляющие восстановленные соединения серы при нейтральной и слабощелочной реакциях среды	<i>Th. thioparus</i> , <i>Th. neapolitanus</i> , <i>Th. thiocyanoxidans</i> , <i>Th. denitrificans</i> , <i>Th. perometabolis</i> , <i>Th. intermedius</i> и др.
Баалеруда в анаэробных условиях	Окисляющие восстановленные соединения серы за счет кислородного ратова	<i>Th. denitrificans</i> (автотроф) и группа факультивно-автотрофных тионовых бактерий, способных к денитрификации

Учёт этих групп тионовых бактерий, наряду с данными анализов рН, Eh и различных элементов в водах, позволяет судить о характере и направлении процессов в рудных месторождениях.

Анализ сульфатредуцирующих бактерий

Количественный учёт сульфатредуцирующих бактерий проводится на твердых средах (№ 16 и № 17, см. стр. 215—216). Пробирки с посевным материалом заливают расплавленной и охлажденной средой и закрывают стерильной резиновой пробкой так, чтобы под ней не оставалось пузырьков воздуха.

В процессе развития сульфатредуцирующих бактерий образующийся сероводород вступает в реакцию с двухвалентным железом с образованием сульфида железа, который придает среде черный цвет. Этот признак свидетельствует о развитии сульфатредуцирующих бактерий. Для видового определения выросших организмов необходимо выделять чистые культуры.

Анализ гетеротрофов

Роль гетеротрофных микроорганизмов в геохимических процессах еще недостаточно изучена. Эти микроорганизмы в больших количествах встречаются в месторождениях меди, свинца и цинка Узбекской ССР и, вероятно, в месторождениях других районов (Казахстан), где активная реакция руд слабокислая или нейтральная (Малахова, Коваленко, 1969). В медно-колчеданных месторождениях (Урал, Армения) и полиметаллических, где рН резко снижается, гетеротрофные микроорганизмы практически не встречаются. Учёт гетеротрофов ведется обычно на МПА. Гетеротрофные бактерии окисляют органические вещества, образуя органические кислоты, которые играют большую роль в разрушении горных пород и руд и миграции металлов.

Анализ микроорганизмов, окисляющих и восстанавливающих марганец

Для учёта и выделения бактерий, восстанавливающих марганец, применяют агаризованную среду Бромфильда (№ 18), а также жидкую минеральную среду того же состава. В качестве источника марганца в пробирку вносят окисленную руду в количестве 0,5—1 г на 20 мл среды. О развитии бактерий судят по обесцвечиванию питательной среды.

Микроскопический подсчёт бактерий

Подсчёт бактерий в воде

«Прямой метод» состоит в прямом наблюдении и количественном подсчёте микроорганизмов в рудничной воде. Этим методом учитывается значительно больше микроорганизмов, чем методом подсчёта колоний по Коху, так как он позволяет учесть и ту часть микрофлоры, которая не растёт на стандартных средах или растёт крайне медленно.

Величина расхождения результатов подсчёта прямым методом и счётом колоний наибольшая для вод чистых или подвергшихся действию антисептиков и наименьшая для вод, несущих органическое загрязнение.

Прямой метод учёта бактерий в воде имеет несколько модификаций, которые были предложены Холодным (Cholodny, 1929), Перфильевым, Габе (1961; Габе, 1967), Кузнецовым и Карзинкиным (1930) и др. Ниже мы приводим модификацию, разработанную в 1932 г. Разумовым (1947; Разумов, Корш, 1960).

1. Пробы воды отбираются в стерильную, чисто вымытую посуду. В случае транспорта проб их следует фиксировать формалином (40%-ного формалина 0,2 мл на 100 мл воды). Формалин предварительно нужно профильтровать через мембранный фильтр.

2. Взятый для анализа объем воды пропускают через мембранный фильтр № 1—3, помещенный в воронку Зейтца. Наиболее пригодны воронки с внутренним диаметром в 11,3 мм, так как тогда площадь фильтра равна 1 см². В случае кислых вод, содержащих сернокислородное окисное железо, сульфат меди и др. металлы, нужно использовать воронки из пластмасс.

Фильтры предварительно кипятят в дистиллированной воде, которая сменяется несколько раз.

Колба Бунзена подсоединяется к водоструйному или масляному насосу, и внесенная в воронку вода профильтровывается до конца. Обычно фильтруют 10—20 мл рудничной воды. После фильтрования фильтр сушат на воздухе. В случае соленых вод фильтр промывают пропущенной через мембранный фильтр пресной водой. На полях его делают тушью отметку с указанием номера, или даты и профильтрованного объема воды.

3. При учёте бактерий *Th. ferrooxidans* фильтр может быть загрязнен гидратом железа. Чтобы удалить гидрат железа, фильтр помещают в чашку Петри на фильтровальную бумагу, под которую вносится слабый раствор соляной кислоты (1 н.). После растворения гидрата железа фильтры таким же образом промываются дистиллированной водой и дальше окрашиваются. Весь фильтр или его часть окрашивают карболовым эритрозином (3%-ной эритрозин в 5%-й карболовой воде). Фильтр красится 3—4 часа или его оставляют в краске на ночь. Продолжи-

тельность окраски зависит от качества краски. Окраску производят так: в чашку Петри помещают кружок фильтровальной бумаги и увлажняют свежеприготовленной краской. На смоченную краской бумагу нижней стороной кладут фильтры с осевшими на них взвесями и закрывают крышкой.

По окончании окрашивания краску отмывают, перекаладывая фильтры в чашки Петри с фильтровальной бумагой, обильно смоченной дистиллированной водой. Перекаладывание фильтров из одной чашки в другую продолжают до тех пор, пока фильтр перестанет окрашивать влажную фильтровальную бумагу.

После отмывания фильтр высушивают на воздухе при комнатной температуре. Площадь фильтра, задержавшая взвеси, остается розовой, а края фильтра — почти бесцветными.

4. Для подсчета микроорганизмов готовится микроскопический препарат. С этой целью на предметное стекло наносят каплю иммерсионного масла. На него накладывают окрашенный мембранный фильтр так, чтобы бактериальная взвесь была сверху. Поверх него наносят еще каплю иммерсионного масла, покрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом с иммерсионным объективом с увеличением 90, при окуляре с сетчатым микрометром с увеличением 10.

Расчет количества бактерий в 1 мл производится по формуле:

$$X = \frac{e \cdot 10^6 \cdot d}{a \cdot ж \cdot g}$$
 где X — количество бактерий в 1 мл воды, e — площадь фильтра, в $мм^2$, 10^6 — переводной коэффициент в $мм^2$ в $мк^2$; a — просчитываемая площадь окулярного сетчатого микрометра в $мк^2$, измеренная при том же увеличении; g — число полей зрения, в которых просчитывались бактерии; d — сумма подсчитанных бактерий в g полей зрения; $ж$ — объем профильтрованной воды в $мл$.

При работе с одним и тем же микроскопом и фильтровальным аппаратом отношение $\frac{e \cdot 10^6}{a \cdot ж \cdot g}$ остается постоянным и может быть заменено одним коэффициентом K . Использование этого коэффициента сильно упрощает все вычисления результатов анализов.

Подсчитывать следует 20 полей зрения так, чтобы в просчитываемой сетке, состоящей из 25 маленьких квадратиков, было не меньше 50 микробов. Снижение числа просчитываемых полей зрения до 10, как показала Новожилова (1959), увеличивает вероятную ошибку до 10%.

В случае больших количеств бактерий в поле зрения можно профильтровать меньший объем воды или применять разведение водой, профильтрованной через мембранный фильтр. При получении меньших чисел бактерий в поле зрения следует просчитывать большее число полей зрения и фильтровать большие объемы исследуемой воды.

Продажные мембранные фильтры могут быть сильно загрязнены бактериями (Рукина, Бирюзова, 1952). Поэтому при массовых анализах следует брать контрольные фильтры, кипятить их в воде, окрашивать и предварительно просматривать под микроскопом. Если фильтры загрязнены и нет возможности их заменить более чистыми, то нужно фильтровать такое количество воды, чтобы число бактерий на просчитываемой площади было раз в 10 больше, чем на контрольном фильтре (Разумов, 1952; Кузнецов, 1952). Количество микроорганизмов в рудничных водах можно определять, используя изотопы углерода (стр. 56).

Выделение чистых культур основных микроорганизмов

Выделение чистых культур известных микроорганизмов обычно ведут из накопительных культур. Последние получают путем посева образцов руды или рудничной воды на соответствующие питательные среды, которые приводятся в настоящей главе. Так, например, образцами кислой рудничной воды заражают среду 9К и получают накопительные культуры *Th. ferrooxidans*. Для получения накопительных культур *Th. denitrificans* и *Th. thioparus* образцы пород или рудничных вод высевают соответственно на жидкие среды Баалсруда и Бейеринка. Однако в руде и рудничных водах могут быть и другие неизвестные бактерии.

Применение специфических питательных сред со строго заданным рН позволяет выявить в основном те группы бактерий, которые могут активно развиваться на этой среде при данной активной реакции. То есть, по сути дела мы выделяем небольшую группу бактерий, для которых условия жизнедеятельности на данной среде наиболее благоприятны. Остальные же бактерии погибают. Об этом свидетельствует то, что при высеве болтушки руды на твердые агаризованные минеральные среды с тиосульфатом натрия рост на чашках Петри значительно разнообразнее, чем при высеве накопительных культур из жидких минеральных сред.

По-видимому, сведения, имеющиеся у нас о многообразии форм тионовых бактерий в месторождениях сульфидных руд, весьма ограничены. Поэтому выделение новых культур бактерий, встречающихся в природе, следует вести не из накопительных культур, а из болтушек, высеянных на твердые питательные среды, и высевать их на специально приготовленные жидкие питательные среды.

Для получения накопительных культур этих бактерий можно рекомендовать твердые среды Бейеринка (№ 2) и Баалсруда (№ 7). Эти твердые среды засевают болтушкой руды или рудничной водой и помещают в термостат при 28°. Выросшие колонии затем рассеивают на различные жидкие и твердые минераль-

ные и органические среды и получают накопительные культуры. Примером может служить обнаружение и выделение на твердой среде Бейеринка нового автотрофа *Thiobacillus y* (Ляликова, 1967).

Выделение чистых культур зачастую представляет значительные затруднения, особенно когда основной вид имеет сопутствующие ему виды бактерий.

Получить чистые культуры тионовых бактерий можно тремя путями.

1. Культуры хорошо растут на твердых минеральных средах. Из накопительной культуры, полученной на жидкой среде, делают ряд разведений и высевают на твердую минеральную среду. Выросшие колонии просматривают под микроскопом и однородные, наиболее далеко расположенные друг от друга, высевают в пробирки на косяки той же среды. После инкубации делают смыв с косяка и его высевают на соответствующие жидкие питательные среды. После появления роста проверяют чистоту.

2. Культуры плохо растут на твердых минеральных средах или вовсе не растут. В этом случае выделение чистых культур следует вести методами разведений.

3. Выделение чистых культур из одной клетки.

Методы выделения чистых культур из одной клетки предложены Комаровой (1949), Косиковым (1952), Перфильевым и Габбе (1961). Однако эти методы требуют специальных устройств, что затрудняет использование их, в особенности в немикробиологических институтах.

Выделение чистой культуры *Th. ferrooxidans*

Получение культуры накопления. Питательная среда Сильвермана и Люндгрена 9К (№ 10) заражается пробами рудничной воды или руды из месторождений сульфидных руд. О развитии судят по появлению бурой окраски среды от образования сульфата окиси железа. Путем нескольких последовательных пересевов 1 мл жидкости вместе с осадком гидрата окиси железа получают активную обогащенную культуру *Th. ferrooxidans*.

Выделение чистой культуры. Чистую культуру можно выделять, используя твердую агаризованную среду 9К или Летена. Однако следует подчеркнуть, что эти бактерии очень плохо растут на твердых агаризованных средах. Лучше использовать гелевые пластинки, пропитанные средой 9К (стр. 193). На гелевых пластинках появляются мелкие колонии рыжевато-коричневого цвета.

Из 80—100 колоний, выросших на твердой среде, производят отсев в небольшие объемы, 4—6 мл, жидкой питательной среды № 10. Появление бурого цвета среды и подкисление ее за счет гидролиза $Fe_2(SO_4)_3$ указывает на развитие *Th. ferrooxidans*.

Через неделю из тех склянок, где началось развитие, производят пересев большим объемом жидкости в колбы Эрленмейера объемом 100 мл с 50 мл среды 9К Сильвермана и Люндгрена и одновременно ведут проверку чистоты культуры.

Для выделения чистой культуры *Th. ferrooxidans* можно использовать метод разведений. Из накопительной культуры, в которой по данным анализов имеется, например, 10^7 — 10^8 клеток *Th. ferrooxidans* берут 1 мл раствора с осадком гидрата окиси железа и разбавляют в 10, 100... 1 млн. и 10 млн. раз. Таким образом, можно ожидать, что в последние разведения попадут единичные клетки *Th. ferrooxidans*. Другие виды тионовых бактерий на среде 9К не растут. Однако накопительные культуры *Th. ferrooxidans* большей частью заражены грибами.

Из наиболее разбавленных суспензий делают высевы на среде 9К. Из каждого разведения засевают около 50 пробирок. После появления роста *Th. ferrooxidans* проверяют чистоту культуры. Загрязненные культуры отбраковывают.

Проверка чистоты культуры. После предварительной отбраковки производится окончательная проверка чистых культур, развившихся в колбах Эрленмейера или в пробирках путем посева на следующие питательные среды: МПА, МПБ, среда Виноградского для нитрификаторов, среда Эшби, картофельный агар, крахмало-аммиачный агар, картофельная крошка, сусло, сусло-агар, среда 9К без железа, но с добавкой 1% глюкозы или солей органических кислот. По отсутствию роста на этих средах судят о чистоте культуры *Th. ferrooxidans*.

Чистая культура *Th. ferrooxidans* поддерживается в среде Сильвермана и Люндгрена (9К). При хранении культуры пересев производится один раз в 2—3 недели. В опытах используется молодая культура (4—7 суток). Чтобы культура была активной пересевы нужно делать один раз в неделю.

Выделение чистой культуры *Th. thiooxidans*

Получение культуры накопления. 50 мл жидкой питательной среды Ваксмана с серой (№ 8) заражается пробами рудничной воды (1 мл) или руды (1 г), где предполагается наличие данного организма, и инкубируется в термостате при 25—28°. Через 7—10 дней в среде появляется легкая муть, а pH раствора снижается. Из культуры накопления, которая, кроме *Th. thiooxidans* часто содержит *Th. ferrooxidans* и значительное количество плесневых грибов, производят 2—3 последовательных пересева для получения обогащенной культуры.

Выделение чистой культуры. Молодую культуру накопления, по возможности чистую от плесневых грибов, высевали на твердую среду Ваксмана с тиосульфатом (№ 9). Для приготовления среды используется выщелоченный агар или агар Дифко.

По прошествии 3—10 дней на поверхности агаровых пластинок образуются очень мелкие колонии *Th. thiooxidans*. Плесневые грибы на этой среде растут плохо. Для получения чистой культуры из колоний, выросших на твердой среде, производят массовый посев в 50—100 пробирок на жидкую среду Ваксмана с серой. О развитии *Th. thiooxidans* судят по снижению реакции среды до рН 2,0 и ниже и по помутнению среды.

Одновременно производят отбраковку загрязненных культур путем высева на МПА, картофельный агар и сусло-агар, так как именно на этих средах хорошо растут сопутствующие микроорганизмы.

Проверка чистоты культуры. Окончательная проверка чистоты культуры производится путем высева на ряд сред: МПА, МПБ, МПБ с глюкозой, сусло с мелом, сусло-агар, картофельная крошка, среда Виноградского для нитрификаторов, среда Бейеринка для *Th. thioparus*, среда Сильвермана и Люндгрена (9К) для *Th. ferrooxidans*, среда Баалсруда для *Th. denitrificans* и среда Бейеринка без тиосульфата, но с добавкой 1% глюкозы или молочнокислого кальция, или натриевых солей щавелевой, уксусной или муравьиной кислот, среда Лондона для *Th. intermedius* (№ 12). Отсутствие роста на этих средах указывает на чистоту культуры. Окончательный ответ о видовой принадлежности организма дается после его изучения и определения.

Чистая культура поддерживается на жидкой среде Ваксмана. При хранении культуры пересевы следует делать один раз в 2—3 недели. В опытах следует использовать молодую культуру (6—8 суток) и пересевы делать не реже одного раза в 8—10 суток.

Выделение чистой культуры *Th. denitrificans*

Получение культуры накопления. Накопительную культуру получают путем заражения пробами руды или воды твердой среды Баалсруда (№ 7). Через 2—3 дня на поверхности агара появляются различные колонии, белые от выпавшей серы. Колонии, отличающиеся друг от друга по внешнему виду, дальше высевают на косяки и затем из косяков на жидкую или твердую среду Баалсруда в анаэробных условиях. Используются сосуды с водяными затворами для жидкой среды и пробирки или трубки с запаянными концами для твердой среды. При наличии *Th. denitrificans* через 5—6 суток появляется рост бактерий. Об этом судят по помутнению жидкой среды и выделению газа. В анаэробных условиях на твердой среде выделяется газообразный азот и агар разрыхляется.

Выделение чистой культуры. Для выделения чистой культуры автотрофных денитрификаторов Баалсруды рекомендуют в среду добавлять 20 г/л агара Дифко. Из накопительной культуры

производится высев на чашки, которые инкубируются в анаэробных условиях при парциальном давлении углекислоты 50 мм рт. ст. В этом случае появляются колонии белые от осаждаемой серы. Культуру можно выделять в столбиках агара, здесь развитие идет в виде опалесцирующих звездочек. Выросшие колонии несколько раз пересеваются на чашки до полного освобождения от сопутствующей микрофлоры.

Проверка чистоты культуры производится путем посева на различные среды и микроскопированием аналогично другим бактериям (*Th. thiooxidans* и др.). Чистая культура поддерживается на жидкой среде Баалсруда. При хранении культуры пересевы нужно делать один раз в неделю, так как культура после потребления тиосульфата и подкисления среды погибает. Если же культуру хранить в холодильнике при 6°, то пересевы можно делать один раз в месяц.

Выделение чистой культуры *Th. thioaragus*

Получение культуры накопления. Накопительная культура *Th. thioaragus* получается так же, как и *Th. denitrificans*: твердая среда Бейеринка (№ 2) заражается небольшим количеством руды или рудничной воды. Колонии затем высеваются на косяки и дальше на жидкую среду Бейеринка (№ 1). При наличии бактерий среда через 2—3 дня мутнеет и на поверхности появляется белая плёнка, состоящая из элементарной серы и бактерий.

Выделение чистой культуры. Из обогащенной культуры, полученной путем нескольких последовательных пересевов на жидкую среду (№ 1), производится высев на твердую среду № 2. Через неделю на чашках появляются мелкие колонии, беловатые от отложившейся серы. Из отдельных колоний в количестве 80—100 штук производят массовый посев в пробирки со скошенным агаром. После того, как бактерии вырастут, по штриху в каждую пробирку вносят 2—3 мл стерильной жидкой среды того же состава. Появление плёнки серы на поверхности жидкости в пробирках указывает на рост *Th. thioaragus*. Содержимое этих пробирок переносят стерильной пипеткой в колбы с жидкой средой и проверяют на чистоту на различных средах (см. предыдущие культуры), включая среды для *Th. denitrificans*, *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans*.

Окончательный ответ о видовой принадлежности организма дается после его изучения и определения. Чистую культуру следует поддерживать на жидкой питательной среде, причем нужно делать пересевы не реже, чем через 3—7 дней. Инокулят добавляется в количестве 10—15%. При таких условиях культивирования *Th. thioaragus* не теряет своей активности.

Выделение чистой культуры *Thiobacillus* у

Накопительную культуру получают на среде № 3. Для выделения чистой культуры используется твердая среда Бейеринка (№ 2). Через неделю на чашках появляются мелкие колонии, белые от выпавшей серы. Путем пересевов из отдельных колоний может быть получена чистая культура. Чистота ее проверяется путем высева на МПА, МПБ, сусло-агар, картофельный агар, минеральную среду с глюкозой, агаризованную минеральную среду без органического вещества, а также среду Ваксмана (№ 9), Сильвермана и Люндгрена (№ 10) и др. О чистоте культуры судят по отсутствию роста на вышеуказанных средах. Окончательный ответ о видовой принадлежности бактерий дают после их изучения и определения.

Выделение чистой культуры *Th. intermedius*

Накопительная культура *Th. intermedius* была получена Лондоном (London, 1963) путем заражения минеральной среды с тиосульфатом (№ 12) илом, взятым с берега пресноводного ручья. Выращивание культуры проводили при 30° в аэробных условиях. Из накопительной культуры делали пересевы на твердую минеральную среду с гипосульфитом (№ 12) в чашки Петри. Через 7—10 дней инкубации на тиосульфатном агаре появлялись колонии. Рост значительно усиливается, если добавлять дрожжевой экстракт (0,005%). При добавлении к среде 0,5% дрожжевого экстракта колонии появлялись через трое суток, а диаметр их был в 2—4 раза больше, чем на среде без дрожжевого экстракта. Из отдельных колоний делают посевы на жидкую минеральную среду. Добавление к жидкой среде дрожжевого экстракта или других органических веществ, таких как гидролизат казеина, дрожжевой автолизат, смесь 16 аминокислот и др. ускоряют развитие бактерий. Проверка чистоты проводится на различных минеральных и органических средах аналогично другим бактериям.

Выделение чистой культуры *Th. perometabolis* nov. sp.

Накопительные культуры были получены путем заражения 100 мл жидкой среды (№ 13) 1 г почвы. После 14 дней, когда pH среды снизился до 2,8, культуры были пересеяны на твердую минеральную среду того же состава (№ 13) и выращивались при 30°.

Через 7 дней на чашках появился рост. Колонии были меньше, чем 1 мм в диаметре, гладкие, прозрачные, преломляли свет и не содержали осажденной серы. Путем серийных пересевов на минеральную среду была получена чистая культура. Чистые

культуры пересевали на жидкую минеральную среду с 5 г/л дрожжевого экстракта. Обильный рост имел место в течение 48 час. Культуры хранили на твердой среде с дрожжевым экстрактом. Пересевали каждые 10—14 дней. Жидкие культуры на той же самой среде, когда ее нейтрализовали стерильным раствором 5%-ного Na_2CO_3 и хранили при 10° , оставались жизнеспособными в течение года.

Проверку чистоты культуры следует проводить путем посева на различные минеральные и органические среды, как это делается для других бактерий.

Выделение чистой культуры *Thiobacillus A-2*

Организм был выделен из накопительной культуры *Th. denitrificans* на среде Баалсруда (№ 6) в анаэробных условиях. Чистая культура была выделена путем посева на агаризованную среду (рН 7,0). Культура образует два типа колоний: маленькие — 0,5 мм в диаметре и прозрачные — 2 мм в диаметре. Выращивают культуру на жидкой среде № 15.

Выделение чистой культуры *Th. trautweinii*

Накопительная культура была получена путем заражения среды № 4 фильтратом сточных вод. После 6 дней при $20-22^\circ$ в среде появилась опалесценция, а через 9 дней молочноподобная муть. На поверхности среды появилась белая плёнка. Чистая культура была получена путем посева студенистой пленки с жидкой среды на твердую среду того же состава. Через 2 дня при 30° появились маленькие беловатые колонии около 1 мм в диаметре. В дальнейшем колонии высевали на жидкую питательную среду следующего состава (по Натансону), в %: NaCl — 3; MgCl_2 — 0,25; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,2; KNO_3 — 0,1; Na_2HPO_4 — 0,05.

Рецептура питательных сред

В биогеохимических процессах превращения различных минералов, происходящих в месторождениях сульфидных руд, принимает участие целый ряд микроорганизмов. В главе I в табл. 1—2 мы приводим некоторые особенности физиологии основных групп микроорганизмов, участвующих в геохимических процессах, и характеризуем особенности их роста на твердых и жидких средах. По этим признакам можно судить о наличии или отсутствии их роста на питательной среде.

Ввиду того, что различные исследователи применяют разные среды для культивирования тионовых и сульфатредуцирующих бактерий, результаты их анализов зачастую остаются несравни-

мыми. Очевидно необходимо стандартизировать состав питательных сред. Ниже мы приводим многократно проверенную рецептуру состава питательных сред для вышеприведенных видов микроорганизмов.

Среда № 1. Среда Бейеринка для *Thiobacillus thioparus* (Beijerinck, 1904)

Тиосульфат натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	5 г
Двууглекислый натрий (NaHCO_3)	1,0 г
Хлористый аммоний (NH_4Cl)	0,1 г
Фосфорнокислый натрий двузамещенный ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	0,2 г
Хлористый магний ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,1 г
Железо сернокислое закисное — $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Следы
Водопроводная вода	1000 мл
pH 9,2—9,4	

Тиосульфат и бикарбонат натрия лучше стерилизовать по отдельности в пробирках, растворив в небольшом количестве воды (около 10 мл), и добавлять в стерильный раствор остальные соли после охлаждения. Следы солей железа также необходимо добавлять после стерилизации раствора.

✓ Среда № 2. Тиосульфатный агар Бейеринка (Beijerinck, 1904)

Тиосульфат натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	5,0 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,1 г
Двууглекислый натрий (NaHCO_3)	0,2 г
Хлористый аммоний (NH_4Cl)	0,1 г
Выщелоченный агар-агар или агар Дифко	20 г
Водопроводная вода	1000 мл
pH 9,2—9,4	

Для культивирования *Th. thioparus* желательно добавлять избыток мела (CaCO_3).

Среда № 3 для *Thiobacillus y* (Ляликова, 1967)

Антимонит (Sb_2S_3)	
Сернокислый аммоний ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	0,2 г
Сернокислый магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,2 г
Хлористый калий (KCl)	0,05 г

Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,1 г
Азотнокислый кальций [$Ca(NO_3)_2$]	0,1 г
Двууглекислый натрий ($NaHCO_3$)	0,5 г
Соль Мора [$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$]	Следы
Дистиллированная вода	1000 мл
pH 8,0—8,5	

Сода и измельченный антимонит, которые добавляются по 200—300 мг в каждую колбу Эрленмейера объемом 100 мл, стерилизуются отдельно в небольшом количестве воды.

√ Среда № 4 для *Thiobacillus trautweinii* (Trautwein, 1921)

Тиосульфат натрия ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)	5 г
Азотнокислый калий (KNO_3)	5 г
Двууглекислый натрий ($NaHCO_3$)	1 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,2 г
Хлористый магний ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)	0,1 г
Хлористый кальций ($CaCl_2 \cdot 6H_2O$)	Следы
Хлорное железо ($FeCl_3$)	Следы
Дистиллированная вода	1000 мл
pH 7,8—8,5	

Твердая среда готовится добавлением 2% агара.

Среда № 5 для *Thiobacillus thiooxydans* (de Kruyff et al., 1957)

Роданистый калий (KCNS)	0,02 г
Серноокислый аммоний [$(NH_4)_2SO_4$]	0,2 г
Фосфорнокислый натрий двузамещенный [$(Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O)$]	0,1 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	0,6 г
Серноокислый магний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,02 г
Хлорное железо ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)	0,02 г
Вода дистиллированная	1000 мл
pH 6,7	

Среда № 6. Среда Баалсруда для *Thiobacillus denitrificans* (Baalsrud, Baalsrud, 1954)

Тиосульфат натрия ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)	5,0 г
Азотнокислый калий (KNO_3)	2,0 г

Хлористый аммоний (NH_4Cl)	0,5 г
Двууглекислый натрий (NaHCO_3)	1,0 г
Хлористый магний ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,5 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	2,0 г
Сернокислое железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,01 г
Дистиллированная вода	1000 мл
Реакция среды устанавливается около	
pH 7,0	

Тиосульфат натрия и бикарбонаты стерилизуются по отдельности.

✓ Среда № 7. Твердая среда Баалсруда для *Th. denitrificans* (Baalsrud, Baalsrud, 1954)

Тиосульфат натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	5,0 г
Хлористый аммоний (NH_4Cl)	0,5 г
Хлористый магний ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,5 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	2 г
Двууглекислый натрий (NaHCO_3)	1 г
Азотнокислый калий (KNO_3)	2 г
Сернокислое железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,01 г
Дистиллированная вода	1000 мл
Выщелоченный агар-агар или агар Дифко	20 г
pH 7,0	

Среда № 8. Среда Ваксмана для *Thiobacillus thiooxidans* (Waksman, Ioffe, 1922)

Сернокислый аммоний [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$]	0,2 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	3,0 г
Сернокислый магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,5 г
Хлористый кальций ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,25 г
Сернокислое железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	Следы
Сера (серный цвет) (S^0)	10 г
Дистиллированная вода	1000 мл
Реакцию среды доводят до pH 4,0	

Серу вносят в виде серного цвета, предварительно ее стерилизуют отдельно спиртом в течение двух часов. Затем спирт испаряют либо в сушильном шкафу при 50°C , либо продувая в колбу через трубку, заполненную стерильным активированным углем, асептически воздух. Лучше стерильную серу добавлять

в простерилизованную среду, отдельно в каждую пробирку или колбочку. Можно также добавлять серный цвет в среду, разлитую по 50 и 100 мл в колбочки Эрленмейера на 100 или 250 мл соответственно и затем стерилизовать в аппарате Коха, нагревая три дня подряд по 30 мин.

Культивируются бактерии при 28°.

√ Среда № 9. Твердая среда для *Th. thiooxidans* (Waksman, 1932)

Тиосульфат натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	5 г
Хлористый аммоний (NH_4Cl)	0,1 г
Хлористый кальций ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,25 г
Хлористый магний ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,1 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	3,0 г
Выщелоченный агар-агар или агар Дифко	20 г
Вода дистиллированная	1000 мл
pH 5,0	

pH устанавливается добавлением серной кислоты после стерилизации среды.

√ Среда № 10. Среда Сильвермана и Люндгрена 9К для *Thiobacillus ferrooxidans* (Silverman, Lundgren, 1959)

1-й раствор: в 700 мл дистиллированной воды растворяют:

Сернокислый аммоний [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$]	3 г
Хлористый калий (KCl)	0,1 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,5 г
Сернокислый магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,5 г
Азотнокислый кальций [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$]	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 и 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 прибавляется, а 2-й раствор готовится 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 (т. е. как и в случае $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и 21,4 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Растворы стерилизуют отдельно: 1-й раствор при 1 атм. и 2-й — при 0,5 атм., перед употреблением оба раствора смешивают.

Температура 28°.

Среда № 11. Среда Летена и др. для *Th. ferrooxidans* (Leathen, McIntyre, Braley, 1951)

Сернокислый аммоний $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$	0,15 г
Хлористый калий (KCl)	0,05 г
Сернокислый магний $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$	0,5 г
Калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4)	0,10 г
Азотнокислый кальций $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$	0,01 г

К среде добавляется 10 мл 10%-ного раствора сернокислого железа, подкисленного до pH 3,5, который стерилизуется отдельно фильтрованием через асбестовый фильтр. Стерилизацию закисного железа можно прободить в автоклаве при 0,5 атм. предварительно подкислив раствор его серной кислотой до pH 2,0—2,5. Конечный pH среды устанавливается 3,5.

Среда № 12 для *Th. intermedius nov. sp.* (London, 1963)

Тиосульфат натрия $(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$	10 г
Хлористый аммоний (NH_4Cl)	1,0 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	1,0 г
Хлористый магний $(\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$	0,5 г
Водопроводная вода	1000 мл
pH 6,8	

Для приготовления твердой среды добавляли 1,5% агара. Следует также добавлять дрожжевой экстракт в количестве 0,5%. Так как pH среды при развитии бактерий резко снижается, то следует нейтрализовать ее путем добавления 10%-ного раствора Na_2CO_3 .

Среда № 13 для *Th. perometabolis nov. sp.* (London, Rittenberg, 1967)

Хлористый аммоний (NH_4Cl)	1,0 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	1,0 г
Хлористый магний $(\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$	0,5 г
Раствор Пфеннига *	20 мл
Дистиллированная вода	1000 мл
pH 6,9 устанавливается добавлением КОН	

К раствору добавляли в различных комбинациях тиосульфат, тетраионат или серу (от 0,5 до 1,0 г), дрожжевой экстракт

* Раствор тяжелых металлов Пфеннига (А+В) (Pfennig, 1964)

А. ЭДТА — 1,5 г

(Дифко) или свободный от витаминов гидролизованный кислотой казеин (0,5—5,0 г) и простые органические соединения (2 г), Органические соединения готовили в виде концентрированных растворов, стерилизовали путем фильтрации и добавляли стерильно, когда требовалось. Агар в количестве 15 г использовали для приготовления твердой среды.

Жидкие культуры выращивали при 30°.

Среда № 14 для *Th. novellus* (Starkey, 1934)

Сернокислый магний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,1 г
Хлористый кальций ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	0,1 г
Сернокислый марганец ($MnSO_4 \cdot 2H_2O$)	0,02 г
Хлорное железо ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)	0,02 г
Сернокислый аммоний [$(NH_4)_2SO_4$]	0,10 г
Тиосульфат натрия ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)	10 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	2,0 г
Вода водопроводная	1000 мл
pH 8—9	

Сульфат аммония и тиосульфат натрия стерилизуют отдельно. С целью забуферивания среды и поддержания pH в пределах от 9,0 до 4,0 используют смесь K_3PO_4 , H_3PO_4 и KH_2PO_4 в количестве 2 г/л в разных соотношениях.

Среда № 15 для *Thiobacillus A2* (Taylor, Hoare, 1969)

Раствор I (основная среда):

натрий фосфорнокислый двузамещенный ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)	7,9 г
калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4)	1,5 г
хлористый аммоний (NH_4Cl)	0,3 г
сернокислый магний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,1 г

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ —200 мг

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ —100 мг

$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ —20 мг

Раствор Хоагганда—6 мл

Вода дистиллированная—1 л

Раствор Хоагганда, pH 7,0; дистиллированная вода—3,6 л

$B \cdot AlCl_3$ —1 г H_3BO_3 —11 г $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ —0,5 г

KI—0,5 г $ZnCl_2$ —1 г $BaCl_2$ —0,5 г

$K_2B_2O_7$ —0,5 г $CuCl_2$ —1 г Na_2MoO_4 —0,5 г

LiCl—0,5 г $NiCl_2$ —1 г $NaVO_3 \cdot H_2O$ —0,1 г

$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ —7 г $CoCl_2$ —5 г Соль цезия—0,5 г

следы металлов (раствор II)	5,0 мл
феноловый красный	2 мг
вода	1000 мл
Раствор II (следы металлов) (Vishniac, Santer, 1957)	
этилендиаминтетрауксусная кислота	50 г
сернокислый цинк ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)	22,0 г
хлористый кальций ($CaCl_2 \cdot 6H_2O$)	5,54 г
хлористый марганец ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)	5,06 г
сернокислое железо ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	4,99 г
молибденовокислый аммоний ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$)	1,10 г
сернокислая медь ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	1,57 г
хлористый кобальт ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$)	1,61 г
вода	1000 мл
pH 6,0 устанавливается добавлением	
КОН	

Раствор II и $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ раствора I стерилизуют отдельно. Для автотрофного роста добавляют тиосульфат натрия ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) в количестве 0,5—1,0% и pH среды доводят до 8,5 добавлением стерильного 10%-ного раствора $NaHCO_3$. Элементарную серу стерилизуют отдельно текучим паром и добавляют на поверхность жидкой среды. Для гетеротрофного роста органические соединения добавляют в количестве от 5 до 100 миллимоль, а концентрацию NH_4Cl увеличивают до 0,6 г/л. В случае необходимости растворы органических веществ стерилизуют путем фильтрования через мембранные фильтры (средний размер пор — 0,45 мк; Millipore Corp., Bedford, Mass.). Твердые среды готовят с добавлением 1,5% агара (Дифко) или агара S.p. (Fisher Scientific Co).

Для анаэробного роста к основной среде добавляют 2 г/л KNO_3 и 2 г/л $NaHCO_3$. Бактерии поддерживают на косяках твердой среды с тиосульфатом натрия (pH 8,5) и пересевают один раз в месяц.

Среда № 16. Среда Кравцова и Сорокина для сульфатредуцирующих бактерий (Кравцов, Сорокин, 1959)

Сернокислый натрий ($Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$)	0,5 г
Фосфорнокислый натрий однозамещенный (NaH_2PO_4)	0,3 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,5 г
Сернокислый аммоний [$(NH_4)_2SO_4$]	0,2 г
Сернокислый магний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,1 г

Молочнокислый натрий	2,0 г
Водопроводная вода	50 мл
Дистиллированная вода	1000 мл
Агар-агар	8 г
Реакция среды доводится до pH 7,2	

Перед посевом в среду вносится стерильный раствор соли Мора $[(\text{NH}_4)\text{SO}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ из расчета 1 г/л и добавляется стерильный раствор Na_2S до слабого потемнения среды. Через две недели после посева в пробирках подсчитываются выросшие колонии.

Среда № 17. Среда Е для сульфатредуцирующих бактерий была рекомендована Постгейтом (Postgate, 1966, 1969)

Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	0,5 г
Хлористый аммоний (NH_4Cl)	1,0 г
Сернокислый натрий (Na_2SO_4)	1,0 г
Хлористый кальций ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	1,0 г
Хлористый магний ($\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	2,0 г
70%-ный лактат натрия	5,0 г
Сернокислое железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,5 г
Дрожжевой экстракт	1,0 г
Аскорбиновая кислота	1,0 г
Тиогликолевая кислота	1,0 г
Агар	15 г
Водопроводная вода	1000 мл
pH доводится до 7,6 раствором NaOH после расплавления агара	

Используется также сходная по составу среда F, которая содержит (г/л): 70%-ный лактат натрия — 10, Na_2SO_4 — 3,0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 2,0 и $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ — 0,2. Остальные соли добавляются в тех же количествах, что и в среде Е. Сравнительный анализ различных сред, проведенный Мара и Вильямсом (Mara, Williams, 1970), показал, что наиболее подходящей средой для количественной оценки роста чистых культур *D. desulfuricans*, *D. vulgaris* и *D. salexigens* является измененный железо-сульфитный агар (г/л): железо-сульфитный агар (Oxoid) — 23; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05; 70%-ный лактат натрия — 5,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 2,0; бидистиллят — 1 л. pH среды доводится до 7,5 стерильным раствором NaOH (4 н.). Соединения, снижающие окислительно-восстановительный потенциал (аскорбиновая кислота — 0,75 г/л и тиогликолят натрия — 0,75 г/л), стерилизуются и добавляются перед употреблением среды.

Среда Е, приведенная выше, пригодна для выделения *D. aficanus* и *D. gigas*. При выделении бактерий из природных объектов следует использовать эти среды с добавкой 0,2% Na_2SO_3 .

·7H₂O. Для учета видов *Desulfotomaculum* подходящая среда до сих пор отсутствует.

Среда № 18. Среда Бромфильда для бактерий, восстанавливающих окисные соединения марганца и железа (Bromfield, 1954)

Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH ₂ PO ₄)	0,5 г
Сернокислый магний MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2 г
Сернокислый аммоний (NH ₄) ₂ SO ₄	1,0 г
Сахароза	10 г
Карбонат кальция CaCO ₃	5 г
Дрожжевой экстракт Дифко (или дрожжевой автолизат)	0,3 г 5 мл
Агар-агар	20 г
Вода дистиллированная	1000 мл
рН 7,0	
Окисленная железо-марганцевая руда, размельченная в ступке	30—50 г/л

Руда стерилизуется отдельно и в небольшом количестве водыносится в расплавленную среду.

Среда № 19. Мясо-пептонный бульон (МПБ) для сапрофитных бактерий (Кузнецов, Романенко, 1963)

Мясной экстракт	3 г
Пептон	5,0 г
Водопроводная вода	1000 мл

Кипятят до тех пор, пока мясной экстракт и пептон растворятся. Доводят реакцию до рН 6,6—7,0, используя в качестве индикатора бромтимолблау.

Среда № 20. Мясо-пептонный агар (МПА) для сапрофитных бактерий (Кузнецов, Романенко, 1963)

Состав питательной среды тот же, что и № 19, но добавляют на 1 л среды 20 г агар-агара.

Среда № 21. Сусло для дрожжей (Кузнецов, Романенко, 1963)

Солод тонко размолотый или солодовый экстракт	250,0 г
Вода водопроводная	1000 мл

Нагревают при 55° 1 час или более и проверяют полноту осахаривания крахмала. Отжимают раствор солода ручным

прессом и через 2—3 часа фильтруют и доводят объем до одного литра. Для получения солодового агара добавляют 1,5% агар-агара. Стерилизуют в аппарате Коха. Иногда к среде добавляют мел для нейтрализации кислот, образующихся при разложении сахара микробами.

Среда № 22. Среда Чапека для плесневых грибов (Кузнецов, Романенко, 1963)

Азотнокислый натрий (NaNO_3)	2,00 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	1,00 г
Хлористый калий (KCl)	0,50 г
Сернокислый магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,50 г
Сернокислое железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,01 г
Сахароза	30,00 г
Дистиллированная вода	1000 мл

Для приготовления твердой среды добавляют 15 г агар-агара на 100 мл раствора. Реакцию среды можно не устанавливать. Среда № 23. Картофельный агар для актиномицетов (Кузнецов, Романенко, 1963)

Картофель 200 г

Клубни картофеля моют, чистят, режут мелкими дольками, помещают в холодную воду и варят 30 мин. Жидкость фильтруют через вату с марлей, добавляют агар-агар и нагревают до тех пор пока агар растворится, pH раствора доводят до 7,0. Стерилизуют 1 час при 120°.

Среда № 24. Крахмало-аммиачный агар для актиномицетов (Кузнецов, Романенко, 1963)

Растворимый крахмал	10,0 г
Сернокислый аммоний $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$	1,0 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	1,0 г
Сернокислый магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1,0 г
Хлористый натрий (NaCl)	1,0 г
Агар-агар	15,0 г
Углекислый кальций (CaCO_3)	3,0 г
Вода водопроводная	1000 мл

Разбалтывают растворимый крахмал в небольшом количестве воды и вливают в кипящую воду прежде, чем добавлять соли.

Среда № 25. Среда Эшби для азотобактера (Кузнецов, Романенко, 1963)

Маннит	20,0 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,2 г
Сернокислый магний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,2 г
Хлористый натрий ($NaCl$)	0,2 г
Сернокислый калий (K_2SO_4)	0,1 г
Углекислый кальций ($CaCO_3$)	5,0 г
Дистиллированная вода	1000 мл

При замене маннита сахарозой рост идет значительно лучше, хотя среда менее элективна. Кислотность среды до добавления углекислого кальция устанавливается приблизительно рН 7,0—7,5. Для получения твердой среды добавляют 1,5% агар-агара.

Среда № 26. Жидкая среда Виноградского для *Nitrosomonas* (Виноградский, 1952)

Сернокислый аммоний [$(NH_4)_2SO_4$]	1,0 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	1,0 г 2,0 г
Хлористый натрий ($NaCl$)	0,5 г
Сернокислый магний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	Следы
Сернокислое железо ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	Следы
Углекислый магний ($MgCO_3$) или углекис- лый кальций ($CaCO_3$)	Избыток
Дистиллированная вода	1000 мл

Чтобы предохранить потерю аммонийных солей, рекомендуется углекислые соли стерилизовать отдельно. После остывания среды углекислый магний или углекислый кальций добавляется отдельно в каждую колбу.

Среда № 27. Среда с аммонийно-магнезиальным фосфатом для *Nitrosomonas* (Кузнецов, Романенко, 1963)

Аммонийно - магнезиальный фосфат (NH_4MgPO_4)	1,0 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,5 г
Сернокислое железо ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	Следы
Водопроводная вода	1000 мл

На этой среде *Nitrosomonas* развивается очень хорошо.

Среда № 28. Среда для Nitrobacter (Виноградский, 1952)

Азотистокислый натрий (NaNO_2)	1,0 г
Углекислый натрий (Na_2CO_3)	1,0 г
Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	0,5 г
Хлористый натрий (NaCl)	0,5 г
Сернокислый магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,3 г
Сернокислое железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	Следы
Дистиллированная вода	1000 мл

Среда № 29. Среда Гильтая для денитрифицирующих бактерий

а) Азотнокислый калий (KNO_3)	1,0 г
Аспарагин ($\text{C}_4\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	1,0 г
Дистиллированная вода	250 мл
б) Лимонная кислота	5,0 г
или лимоннокислый кальций	8,5 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный (KH_2PO_4)	1,0 г
Сернокислый магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1,0 г
Хлористый кальций ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,2 г
Хлористое железо ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	Следы
Дистиллированная вода	250 мл

В случае употребления лимонной кислоты ее нейтрализуют 10%-ным раствором КОН в присутствии фенолфталеина как индикатора. Оба раствора «а» и «б» смешивают и общий объем доводят до 1000 мл.

Наличие процесса денитрификации устанавливают по положительной реакции с реактивом Гриса и по выделению пузырьков газа (Омелянский, 1923). Для получения твердой среды добавляют 1,5% агар-агара. Среду можно употреблять и без аспарагина. Как отмечает Гильтай (Giltay, Aberson, 1892), аспарагин служит для более отчетливого определения косвенной денитрификации, когда восстановление нитратов идет только до нитрита. В присутствии аспарагина в этих условиях возможно выделение свободного азота за счет химического взаимодействия аминного азота аспарагина с азотистой кислотой. Для количественного учета денитрифицирующих бактерий следует брать среду Гильтая без аспарагина, добавлять к ней 1,5% агар-агара и нейтрализовать до рН 7,0—7,2. О развитии бактерий судят по образованию в столбиках агара пузырьков газа, приводящих к разрыву твердой среды.

Среда Р W № 30 для бактерий, выщелачивающих золото
(Паре, 1968)

Раствор Виноградского *	50 мл
Пептон	2,5 г
Дистиллированная вода	950 мл

Среда Р O I № Ш 5 (Паре, 1968)

Раствор Виноградского *	50 мл
Пептон	2,5 г
Оксалат натрия	1,0 г
Дистиллированная вода	950 мл

* Раствор Виноградского (Pochon, 1954)

Фосфорнокислый калий двузамещенный (K_2HPO_4)	5,0 г
Сернокислый магний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	2,5 г
Хлористый натрий (NaCl)	2,5 г
Сульфат окиси железа [$Fe_2(SO_4)_3$]	0,05 г
Сернокислый марганец ($MnSO_4$)	0,05 г
Водопроводная вода	1000 мл

pH 7,2 устанавливается щелочью $1/10$ н.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ
И ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗЫ ВОД И РУД

Методы физико-химических анализов

Определение активной реакции среды (рН)

Растворы. Развитие большинства микроорганизмов происходит в определенных интервалах кислотности среды. Поэтому понятно, насколько важно при оценке роли микроорганизмов в окислении сульфидов в месторождениях учитывать рН окружающей среды.

Методы анализа рН в водах достаточно полно изложены в руководствах Резникова и др. (1963), Кузнецова и Романенко (1963). При исследовании рудничных вод или растворов после выщелачивания меди из отвалов или рудных тел рН определяется электрометрически с помощью стеклянного электрода. В лабораторных условиях удобным является потенциометр ЛПУ-01 (г. Гомель). Определение рН следует проводить сразу или вскорости после отбора проб. В полевых условиях удобным является переносный рН-метр — милливольтметр ППМ-03М1 (г. Гомель). В этом случае используется стеклянный комбинированный электрод. Ввиду того, что рудничные воды окрашены, применение колориметрических методов определения рН невозможно.

Породы и руды. В породах и рудах рН определяется электрометрически в водных болтушках. Для этого берется определенное количество породы или руды, дробится и помещается в стаканчик, в который наливается дистиллированная вода до получения болтушки (Т:Ж=1:1). Определение рН производится через 5—10 мин.

Зачастую, несмотря на наличие окислительных процессов в руде, рН в валовой пробе не снижается. Связано это либо с наличием нейтрализующих веществ, либо незначительным содержанием сульфидов.

В этом случае важно определять рН в микрizonaх (Каравайко, 1961).

Сущность микрометода для определения активной кислотности в рудах заключается в том, что кусочки руды или шлифы из них раскладывают на влажной индикаторной бумаге и оставляют там до высыхания последней. Для этой цели может быть использована стандартная индикаторная бумага (рижская или чешская). Можно ее приготовить и самим. Для этого кусочки фильтровальной бумаги промывают в водопроводной воде до нейтральной реакции и помещают на 5 мин. в чашку Петри в раствор с соответствующими индикаторами. Для выявления зон подкисления могут быть использованы тимолблау с переходом окраски от красной к желтой при рН 1,2—2,8. Метилрот с переходом окраски от красной к желтой при рН 4,4—6,0 и бромфенолсиний с переходом окраски от желтой к синей при рН 3,0—4,6. При наличии микрозон подкисления на стандартной бумаге и на бумаге, смоченной тимолблау и метилрот, появляются красные пятна.

Определение окислительно-восстановительного потенциала

Учет растворенного в воде кислорода еще не может полностью характеризовать окислительно-восстановительных условий окружающей среды. Как известно, всякий окислительный процесс сводится к потере электрона окисляющимся атомом вещества, независимо от того, участвует ли в этой реакции молекулярный кислород. Кроме того, необходимо учитывать не только количество окислителя, в частности, общее количество растворенного кислорода, но и напряжение, с которым в данной среде могут протекать реакции окисления или восстановления. Величина окислительно-восстановительного потенциала и является показателем напряжения окислительных процессов.

Как известно, различные виды микроорганизмов могут активно развиваться только в определенных границах окислительно-восстановительного потенциала. Поэтому определение его показывает ту реальную экологическую обстановку, в которой происходит жизнедеятельность микроорганизмов и позволяет оценить насколько могут быть активны микроорганизмы в изучаемых объектах.

Окислительно-восстановительный потенциал может быть выражен в вольтах и представлять разность потенциалов между нормальным водородным электродом и потенциалом, который принимает пластинка из индифферентного металла в равновесии с окружающей средой. Другой формой выражения окислительно-восстановительного потенциала является индекс pH_2 , представляющий собой отрицательный логарифм концентрации молекулярного водорода, при которой могут создаваться данные окислительно-восстановительные условия.

Зависимость между этими величинами при 18° выражается следующим образом.

$$E_h = 0,029 (r_{H_2} - 2pH); \quad r_{H_2} = \frac{E_h}{0,029 (b)} + 2pH.$$

Как видно из формулы, величина E_h , представляющая разность потенциалов между индифферентным электродом и нормальным водородным, зависит как от концентрации молекулярного водорода, так и от концентрации его ионов.

Вследствие этого E_h сам по себе еще не характеризует окислительно-восстановительные условия среды. Для получения сравнительных величин всегда необходимо вести определения при какой-то неизменной величине pH . В противоположность этому величину r_{H_2} мы можем всегда получить, определяя одновременно E_h и pH .

Значительные сдвиги в r_{H_2} знаменуют переход к другой степени аэробности, а зачастую и к другому типу обмена веществ. Колебания эти могут быть особенно значительными около нейтральной реакции, где небольшие абсолютные изменения концентрации водородных ионов сильно сказываются на величине pH и еще более на величине r_{H_2} (Работнова, 1957).

Определение окислительно-восстановительного потенциала лучше всего вести с помощью лампового потенциометра. Из советских моделей полевых потенциометров на батарейках можно указать модель ППМ-03М1 (г. Гомель).

В качестве электродов сравнения используются каломельный или хлор-серебряный электроды, выпускаемые заводом измерительных приборов (г. Гомель).

Потенциалы электродов сравнения каломельного и хлор-серебряного относительно нормального водородного электрода приведены ниже (Резников и др., 1970).

	10°	20°	25°	30°	35°	40°
E_h хлор-серебряного электрода (насыщенного), мв	+206	+200	+197	+194	+191	+191
То же каломельного, мв	—	+250	+246	—	+239	—

Комбинированные электроды к потенциометру ППМ-03М1 включают хлор-серебряный электрод сравнения и тонкослойный платиновый электрод — индикаторный.

Для получения значения E_h по отношению к нормальному водородному электроду, потенциал которого принят за нуль, к значению потенциала электрода сравнения для данной температуры (см. выше) прибавляют или вычитают замеренную величину в зависимости от того, к положительному (прибавляют) или отрицательному (вычитают) полюсам прибора был присоединен платиновый электрод.

Потенциал комбинированного датчика (Ен) проверяется в растворе
$$\left[\frac{K_4 [\text{Fe}(\text{CN})_6]}{K_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]} \cdot \frac{3,8}{13,5} \right] \text{ з/л}$$
 при $25+1^\circ\text{C}$ и должен быть равен $272 \pm 10 \text{ мв}$ по отношению к хлор-серебряному электроду.

Если для определения Ен используются платиновые электроды, то они готовятся из платиновой проволоки диаметром 0,5 мм, впаиваются в стеклянную трубочку так, чтобы свободный конец был длиной в 1 см. Платинировать электроды не следует, так как это вызывает ошибку анализа. Электроды очищаются последовательной обработкой крепким раствором едкого натрия и горячей азотной кислотой и тщательно промываются дистиллированной водой. Перед употреблением электроды калибруют. С этой целью используется раствор смеси желтой и красной кровяной соли, приведенный выше. Электроды должны показать правильный окислительно-восстановительный потенциал. Если показания отличаются, то электроды подвергаются повторной очистке.

Следует тщательно проверить, чтобы не было трещин в месте впаивания платиновой проволоки в стеклянную трубочку.

При определении окислительно-восстановительного потенциала в воде следует тщательно следить, чтобы испытуемые образцы воды не соприкасались с воздухом. С этой целью для определения окислительно-восстановительного потенциала в воде можно рекомендовать следующую форму сосуда.

В стеклянную широкогорлую банку вставляют резиновую пробку с четырьмя отверстиями, в два отверстия вставляют стеклянные трубочки так, чтобы одна из них была вровень с резиновой пробкой.

Через первую трубку пропускается исследуемая вода, так, чтобы в сосудике не оставалось пузырьков воздуха.

В другие два отверстия в резиновой пробке вставляются платиновые электроды и палочковидный каломельный электрод. В случае переносного потенциометра ППМ-ОЗМ1 вставляется только комбинированный датчик.

Определять окислительно-восстановительный потенциал в воде следует на протоке, либо в изолированной пробе в сосуде, но на месте отбора пробы. В сильно влажной породе окислительно-восстановительный потенциал определяется погружением электродов в породу.

Определение температуры

Определение температуры природных вод производят термометром с делениями на $0,1^\circ$, для точных работ с делениями на $0,05^\circ$. Измерение температуры глубоких слоев воды может быть выполнено при помощи термометра, вставленного внутрь батометра.

При этом необходимо выдержать батометр на заданной глубине 5—10 мин. и быстро производить отсчет температуры по извлечении батометра на поверхность.

Для определения температуры растворов в скважинах в случае, когда температура раствора выше температуры воздуха на поверхности и в других местах скважины, пользуются глубоководным максимальным термометром, который опускается на заданную глубину на капроновом тросе. В случае, когда температура раствора в скважине ниже температуры воздуха на поверхности, для замера температуры применяют минимальный термометр или термокаппафон.

Определение расхода растворов

Дебит растворов, протекающих в лотках, небольших каналах — канавах, руслах — измеряют поплавковым методом. В качестве поплавка используются небольшие куски досок, щепок и проч. Для измерения скоростей течения выбирают прямолинейный участок, длина которого должна быть в 5—7 раз больше ширины потока и с одинаковой по возможности шириной и глубиной, без препятствий по берегам и дну водоема.

Скорость движения поплавка определяется по формуле:

$$V = \frac{L}{t} \text{ м/сек,}$$

где L — длина пути в метрах; t — продолжительность хода поплавка в секундах. Объем раствора в единицу времени проходящего через сечение лотка, вычисляется по формуле:

$$Q = V \cdot S \text{ м}^3/\text{сек,}$$

где S — площадь сечения потока (м^2), замеряемого линейкой; V — прохождение поплавка в м/сек , замеряется линейкой. Данная формула применима при замере объемов растворов небольших потоков.

При небольших расходах воды употребляется водослив Томсона, который представляет перегородку с треугольным вырезом под углом 90° .

Расход по этому водосливу (Q) определяется по формуле:

$$Q = 1,4H^2 \sqrt{H} \text{ м}^3/\text{сек,}$$

где H — напор над нижней точкой выреза водослива в метрах.

Для ориентировки указываем значение расходов воды при различных напорах:

Напор H , см	2	5	10	20	30
Расход воды, л/сек	0,079	0,78	4,42	25,08	69,01

При незначительных расходах растворов (капежи, тонкие струи и т. п.) для замера количества воды используется мерная посуда.

Химический анализ рудничных вод

Анализ рудничных вод представляет большие трудности по ряду причин: 1) эти воды, как правило, содержат большие концентрации растворимых солей; 2) большей частью окрашены в различные тона от содержания железа, меди и других металлов; 3) содержат такие восстановители, как сернокислородное закисное железо и некоторые др.

таблица 22.

Перечень химических методов, используемых для анализов рудничных вод

Анализируемый элемент	Используемый метод	Автор
Fe^{2+} и Fe^{3+}	Комплексометрический с трилоном Б	<i>Резников и др., 1963</i>
Cu^{2+}	Колориметрическое определение с диэтилдитиокарбаматом натрия. Методика I и II	<i>Сендел, 1964</i>
Zn^{2+}	Дитизионовый или оксихинолиновый с объемным окончанием	<i>Сендел, 1964; ин-т «Уни-промедь»</i>
Ni^{2+}	Колориметрическое определение при помощи диметилглиоксима и окислителя. Метод А и «Другой метод»	<i>Сендел, 1964</i>
As	Гипофосфитный	<i>Ин-т стали и сплавов</i>
Co	Колориметрическое определение при помощи 2-нитрозо-1-нафтола	<i>Сендел, 1964</i>
S/SO_4	Улучшенный метод прямого титрования сульфатов	<i>Заваров, 1957</i>
S/SO_4	С применением ионитов	<i>Крюков, Проценко, 1955</i>
O_2	Модифицированный метод Винклера	<i>Голомзик, и др., 19676</i>
CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-}	Объемное определение после отгонки в титрованный раствор КОН	<i>Кузнецов, Романенко, 1963</i>
NH_4^+	Микродиффузный метод Конвея; метод дистилляции; с реактивом Несслера (для неокрашенных вод)	<i>Аринюшкина, 1962</i> <i>Резников и др., 1970</i>
NO_3^-	Экспрессное колориметрическое определение; объемное определение; метод дистилляции	<i>Те же</i>
NO_2^-	С реактивом Гриса (для неокрашенных вод)	<i>Те же</i>

В связи с этим методы химических анализов, которые разработаны для пресных вод, обычно неприменимы для рудничных вод. В табл. 22 мы приводим перечень методов химических анализов, которые в какой-то мере могут быть приспособлены для анализов рудничных вод при осуществлении ряда приемов.

К таким приемам относятся: 1) разбавление проб рудничной воды в 50—100 раз. Этим путем можно избежать ошибок от больших концентраций солей и цветности; 2) использование соединений, которые образуют комплексы с ионами, мешающими определению того или иного компонента, 3) использование ионно-обменных смол для удаления некоторых компонентов, например, катионов при определении анионов сильных кислот (Крюков, Проценко, 1955). Эти методы не требуют дорогостоящего и сложного оборудования и могут быть применены в любой лаборатории.

Отбор проб руды и воды

Перед взятием пробы, пользуясь результатами геологоразведочных работ, нужно определить основные технологические типы руд. Общими признаками, которые служат основанием для выделения особых типовых проб, являются:

1) химический состав, в том числе содержание основных или сопутствующих ценных компонентов;

2) минералогический и, в особенности, рациональный или фазовый состав;

3) вмещающие породы;

4) физическая характеристика проб, в частности, по крупности;

5) текстура, т. е. пространственная связь рудных минералов и их агрегатов в рудной массе, а также структура руд в тех случаях, когда она определяет крупность включений минералов.

Проба, отобранная для исследований выщелачивания металлов из руды, должна быть представительной, т. е. качественно и количественно отражать состав руды данного типа.

Представительность проб определяется в основном числом точек взятия проб.

Нельзя брать пробу руды в одной выработке, если по данному типу руд число выработок больше одной. Пробы должны быть взяты по всей поверхности обнажения рудного тела, доступной для отбора проб. Одним из способов отбора проб является луночный, или бороздовый. При луночном способе опробуемая поверхность выработки покрывается как бы сеткой, узлы которой являются точками взятия проб. Сетка должна охватить и ту часть пустой породы или непромышленной (забалансовой руды), ко-

торая при принятой системе горных работ попадет в руду. При малой площади обнажения рудного тела нужно пользоваться бороздовым способом взятия пробы. Если проба, отбираемая из выработки, невелика весом, то она берется задишкой по поверхности обнажения рудного тела. В случае, если месторождение разведывают с помощью дробового или алмазного бурения, материалом для исследований могут служить керны. Отбор проб из отвалов осуществляется методом поверхностного вычерпывания. Если отвал состоит из тонкоизмельченного материала, то взятие проб производят на всю глубину отвала щупом в узлах сетки, нанесенной на поверхность.

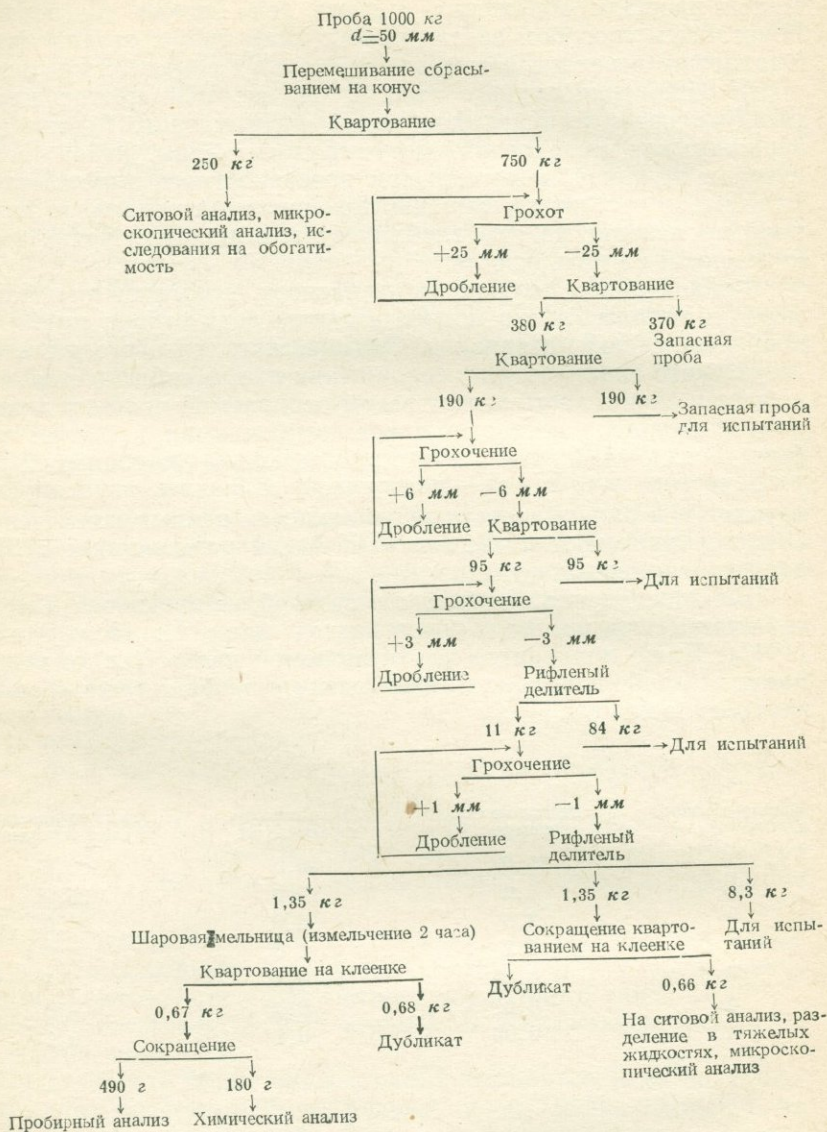
Каждая проба должна иметь паспорт, в котором отмечается место и методы взятия пробы, а также дату отбора пробы. Из пробы выделяют материал для химического, ситового и минералогического анализов. При сокращении пробы соблюдается определенная зависимость между весом отбираемой пробы и диаметром наибольших частиц в пробе, выражаемая в общем виде формулой: $q = k \cdot d^a$, где q — вес пробы, кг; d — наибольший диаметр частиц, мм; k и a — постоянные величины, зависящие от крупности и равномерности вкрапленности ценных компонентов. Обычно принимают $a = 2$, а $k = 0,06$ — для равномерных и $0,2$ — для неравномерных руд.

Для определения надежного веса проб, не производя для этого вычислений, можно пользоваться данными Пожарицкого (1947). Ниже приводится вес отбираемой пробы (кг) в зависимости от наибольшего диаметра частиц в пробе и равномерности вкрапленности руд.

Диаметр частицы, мм	Вкрапленность равномерная	Вкрапленность неравномерная	Весьма неравномерная крупная вкрапленность
20	15,0	40,0	160,0
10	4,0	10,0	35,0
8	2,5	6,0	20,0
5	1,2	2,5	7,0
3	0,45	0,9	2,5
2	0,2	0,4	0,9
1	0,06	0,1	0,13

Исходную пробу без дробления последовательно сокращают до веса, который соответствует диаметру частиц в пробе. Дальнейшее сокращение осуществляется после дробления. Приготовленный материал используется при исследованиях. Примерная схема сокращения пробы следующая (Митрофанов, 1950).

схема 5



Отбор проб растворов

Отбор проб исследуемых растворов должен производиться таким образом, чтобы взятый образец отвечал составу всей массы исследуемого раствора или воды. Для этого при наличии течения следует брать пробу на быстринах, перепадах, водосбросах и водоспусках. Как правило, необходимо брать отдельно пробы для химического и микробиологического анализов. Средняя проба должна быть составлена из равных количеств жидкости, взятой через одинаковые промежутки времени. Такую пробу можно получить с помощью автоматического пробоотборника, установленного в месте перепада потока растворов.

При опробовании шахтных растворов, поступающих через скважины от рудного тела, а также капелей, достаточно отобрать разовую пробу растворов.

При отборе пробы раствора для химического анализа необходимо посуду, в которую отбирается раствор, тщательно ополоснуть (2—3 раза) исследуемым раствором, а затем набрать свежий раствор. Раствор нужно наливать до пробки, чтобы в сосуде не оставалось пузырьков воздуха.

Методы отбора образцов для микробиологического анализа и сроки хранения

При изучении распространения отдельных видов бактерий в породах или водах образцы породы следует отбирать в стерильные мешочки из хлорвинила или в стерильные стеклянные пробирки под резиновой пробкой, а воду в стерильную посуду. Для отбора твердых образцов мы использовали скальпель или нож, которые предварительно протирали ватой, смоченной спиртом, и обжигали. Из плотных образцов руды для посева следует брать из центральной части образца, чтобы избежать случайного попадания микроорганизмов с его поверхности. Посевы из образцов следует делать в тот же день или в возможно короткие сроки. При удлинении времени хранения образцов численность бактерий может сильно измениться. Таким образом, при изучении распределения микроорганизмов в природе или в установке по выщелачиванию меди из руд посеvy следует делать в полевых условиях или в заводских лабораториях на рудниках.

ЛИТЕРАТУРА

- Авакян А. А., Каравайко Г. И., 1970. Субмикроскопическая организация *Thiobacillus ferrooxidans*.— Микробиология, 39, вып. 5, 855.
- Агафонова Г. С., Классен В. И., Мартянов Ю. А. 1970. Способ интенсификации бактериального выщелачивания меди.— Цветные металлы, 5, 89.
- Аринюшкина Е. В. 1962. Руководство по химическому анализу почв. Изд-во МГУ.
- Бадалов С. Т., Баситова С. М., Годунова Л. И., Шодиев Ф. Ш. 1966. К геохимии рения и молибдена в эндогенных сульфидных месторождениях Средней Азии.— Геохимия, № 1, 99.
- Барaboшкин С. Н. 1941. Гидрометаллургия меди. М., «Металлургиздат».
- Богданов Ю. В., Голубчина М. Н. 1969. Изотопный состав серы как показатель жизнедеятельности бактерий в среднем докембрии.— Докл. АН СССР, геол., 189, № 3, 592.
- Богоров В. Г., Максимов В. Н., Федоров В. Д. 1965. Выбор оптимального состава среды для фотосинтезирующих зеленых серобактерий *Chlorobium thiosulphatophilum* при помощи математического планирования эксперимента.— Докл. АН СССР, 165, № 3, 686.
- Бокий Г. Б., Загальская Ю. Г., Победимская Е. А. 1964. Кристаллические структуры арсенидов, сульфидов, арсеносульфидов и их аналогов. Тематический сборник. Изд-во СО АН СССР. Новосибирск.
- Большой практикум по микробиологии. 1962. Под ред. Г. Л. Селибер. М., «Высшая школа».
- Ванчи Г. А., Бодиу А. П., Синко И. И. 1968. Исследования по извлечению меди из руды и концентратов биологическими способами. Докл. на VIII Международ. конф. по обогащению полезных ископаемых.
- Векулова Ф. И. 1966. Геохимия кобальта. Баку.
- Вернадский В. И. 1954. Избранные сочинения, 1. М., Изд-во АН СССР.
- Виноградский С. Н. 1952. Микробиология почвы. М., Изд-во АН СССР.
- Виноградов В. И. 1967. Распределение изотопов серы в минералах рудных месторождений.— В сб. «Изотопы серы и вопросы рудообразования». М., «Наука».
- Виноградов А. П., Гриненко В. А. 1964. Причина значительной дисперсии изотопного состава осадочных сульфидов.— Химия земной коры, т. II, 581.
- Виноградов В. И., Кизельштейн Л. Я. 1969. Об изотопном составе сульфидной серы в углях Донецкого бассейна.— Литология и полезные ископаемые, № 5, 149.
- Габе Д. Р. 1967. Упрощенный капиллярный микроселектор МС-6.— Микробиология, 36, вып. 2, 361.
- Габе Д. Р., Трошанов Э. П., Шерман Э. Э. 1964. Образование железо-марганцевых прослоек в иле как биогенный процесс.— В кн. «Роль микроорганизмов в образовании железо-марганцевых озерных руд». «Наука».
- Германов А. И. 1961. Роль органического вещества в образовании гидротермальных сульфидных месторождений.— Изв. высш. учебн. завед., серия геология и разведка, № 80, 60.
- Гидрометаллургия меди на зарубежных предприятиях, 1964. Реферат. сб. БТИ ин-та «Гинцветмет».

- Гинзбург И. И., Ольшанский Я. И., Беляцкий В. В. 1961. Исследования по экспериментальной и технической петрографии и минералогии.— Труды ИГЕМ, 59.
- Голева Г. А., Воробьева И. Н. 1967. Некоторые особенности миграции германия в подземных водах рудных месторождений.— Геохимия, № 8, 986.
- Голева Г. А., Кривенков В. А., Груздь З. Г. 1970. Геохимические закономерности распространения и формы миграции золота в природных водах.— Геохимия, № 6, 744.
- Голомзик А. И. 1963. Результаты термодинамической оценки и экспериментальной проверки процесса селективной сульфатизации медно-цинковых промпродуктов, полученных в процессе доводки фабричных концентратов.— Цветные металлы, № 3, 10.
- Голомзик А. И., Абакумов В. В., Крючков В. А., Бердышева Т. В., Дорфман И. Н. 1972. Применение метода факторного планирования экспериментов при оптимизации бактериального выщелачивания руд.— В сб. «Физико-техн. проблемы переработки полезных ископаемых», т. I.
- Голомзик А. И., Иванов В. И. 1965. Адаптация *Thiobacillus ferrooxidans* к повышенным концентрациям ионов водорода и железа.— Микробиология, 34, вып. 3, 465.
- Голомзик А. И., Каравайко Г. И., Филипенко В. С., Нагирняк Ф. И. 1965а. Технология регенерации сульфата окиси железа в промышленных условиях.— Цветная металлургия, № 16, 20.
- Голомзик А. И., Каравайко Г. И., Филипенко В. С. 1965б. Роль режима орошения в технологии бактериального выщелачивания меди из рудного тела.— Цветная металлургия, № 13, 19.
- Голомзик А. И., Нагирняк Ф. И. 1965. Бактериальный способ интенсификации подземного выщелачивания сульфидных руд.— Обогащение, № 1, 26.
- Голомзик А. И., Каравайко Г. И., Филипенко В. С. 1967а. Бактериальный способ выщелачивания меди из медно-колчеданных руд Дегтярского месторождения.— Цветная металлургия, № 8, 28.
- Голомзик А. И., Коваленко К. П., Брянцев Я. В. 1967б. Модификация методики Винклера для определения содержания растворенного кислорода в кислых растворах.— Микробиология, 36, вып. 2, 355.
- Гольбрайт А. И., Илялетдинов А. Н. 1970. Бактериальное выщелачивание меди и цинка из некоторых полиметаллических руд Казахстана.— Изв. АН Каз. ССР, № 1, 40.
- Горленко В. М., Кузнецова В. А. 1966. Бактериальное восстановление сульфатов во время комбинированного культивирования *Desulfovibrio desulfuricans* и углеводородокисляющих бактерий на минеральной среде с нефтью.— Прикладная биохим. и микроб., 2, № 3, 264.
- Гриненко Л. Н. 1966. Изотопный состав серы сульфидов Талнахского медно-никелевого месторождения в связи с вопросами его генезиса.— Геология рудных месторождений, 8, № 4, 15.
- Гриненко В. А., Газизов М. С. 1966. О природе сульфидов в Прибалтийском сланцевом бассейне по данным изотопного состава серы.— Геохимия, № 12, 1421.
- Гриненко Л. Н., Гриненко В. А. 1967. Закономерности распределения изотопов серы и их использование в геохимических исследованиях.— Геохимия, № 5.
- Гриненко Л. Н., Гриненко В. А., Ляхницкая И. В. 1967. Изотопный состав серы сульфидов медно-никелевых месторождений Кольского полуострова.— Геология рудных месторождений, № 4, 3.
- Дуров С. А., Дробашева Т. Н., Фролова Г. Н. 1960. Окисление в водных растворах гелей сульфидов железа, меди и кобальта при действии различных факторов.— Труды Новочеркасского политехнического ин-та, 98.
- Евсеева Л. С., Перельман А. И. 1962. Геохимия урана в зоне гипергенеза. М., Госатомиздат.
- Заварзин Г. А. 1965. Хемоавтотрофные микроорганизмы. Докт. дисс., М.
- Заварзин Г. А. 1966. Железобактерии на вулканах острова Кунашир.— Труды Моск. об-ва испыт. природы, 24, 217.

- Заварзин Г. А., Жилина Т. Н.* 1964. Тионовые бактерии из термальных источников.— *Микробиология*, **33**, вып. 5, 844.
- Заваров Г. В.* 1957. Улучшенный метод прямого титрования сульфатов.— *Заводская лаборатория*, № 5.
- Заславский А. С.* 1928. О тионовокислых бактериях лиманов.— *Дневник Всес. съезда ботаников в Ленинграде*.
- Заславский А. С.* 1952. О солелюбивых тионовокислых бактериях соляных водоемов.— *Микробиология*, **21**, вып. 1, 31.
- Звягинцев О. Е.* 1941. Геохимия золота. М., Изд-во АН СССР.
- Ивакин В. В.* 1947. О фильтрации при нагнетании в ненасыщенный водой грунт.— *Изв. АН СССР, отд. техн. наук*, № 6, 669.
- Иванов В. В.* 1966. Геохимия рассеянных элементов в гидротермальных месторождениях. М., «Недра».
- Иванов В. В., Поплавко Е. М., Горохова В. И.* 1967. К геохимии рения в рудных месторождениях.— *Геохимия*, № 12, 1430.
- Иванов В. И.* 1962. Влияние некоторых факторов на окисление железа культурами *Thiobacillus ferrooxidans*.— *Микробиология*, **31**, вып. 5, 795.
- Иванов В. И., Ляликowa Н. Н.* 1962. О систематике железоокисляющих тионовых бактерий.— *Микробиология*, **31**, вып. 3, 468.
- Иванов В. И., Нагирняк Ф. И., Степанов Б. А.* 1961. Бактериальное окисление сульфидных руд. Роль *Thiobacillus ferrooxidans* в окислении халькопирита и сфалерита.— *Микробиология*, **30**, вып. 4, 688.
- Иванов В. И., Степанов Б. А.* 1960. Применение микробиологических методов в обогащении и гидрометаллургии. «ЦИИИцветмет».
- Иванов М. В.* 1964. Роль микробиологических процессов в генезисе месторождений самородной серы. М., «Наука».
- Иванов М. В., Рыжова В. Н.* 1961. Микробиологические исследования Прикарпатских серных месторождений. Сообщение IV.— *Микробиология*, **30**, вып. 2, 280.
- Исаченко Б. Л., Салимовская А. Г.* 1928. К морфологии и физиологии тионовокислых бактерий. Изд. Гидролог. ин-та, вып. 21.
- Калабин А. И.* 1969. Добыча полезных ископаемых подземным выщелачиванием. М., «Атомиздат».
- Камалов М. Р.* 1968. Бактериальное выщелачивание меди из отходов Балхашской обогатительной фабрики.— В сб. «Применение бактериальных методов выщелачивания цветных металлов из забалансовых руд». М., Цветметинформация.
- Каравайко Г. И.* 1961. О микроразнообразии распространении окислительных процессов в серной руде Роздольского месторождения.— *Микробиология*, **30**, вып. 2, 286.
- Каравайко Г. И.* 1966. Роль тионовых бактерий в окислении сульфидных руд Кафанского месторождения.— *Микробиология*, **35**, вып. 6, 1004.
- Каравайко Г. И.* 1968. Бактериальный способ выщелачивания меди из руд (отечественный и зарубежный опыты). В сб. «Применение бактериального метода выщелачивания цветных металлов из забалансовых руд». М., «Цветметинформация».
- Каравайко Г. И.* 1970. Роль микроорганизмов в выщелачивании цветных и редких металлов из руд.— *Успехи микробиологии*, № 6, 174.
- Каравайко Г. И., Авакян А. А.* 1971. Субмикроскопическая организация *Thiobacillus thiooxidans*.— *Микробиология*, **40**, вып. 2, 322.
- Каравайко Г. И., Голомзик А. И., Филипенко В. С.* 1966. Исследования условий бактериальной регенерации сернокислого окисного железа и выщелачивания меди из руды.— *Микробиология*, **35**, вып. 3, 509.
- Каравайко Г. И., Голомзик А. И., Филипенко В. С.* 1967. Изучение микробиологических окислительных процессов на Дегтярском медно-колчеданном месторождении.— *Изв. АН СССР, серия биол.*, № 3, 386.
- Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Таужнянская Э. А., Мошнякова С. А.* 1970. Применение микроорганизмов для выщелачивания цветных и редких металлов из руд.— *Материалы Всес. конф. по физико-химическим методам*

- разработки месторождений полезных ископаемых. М., Гос. ин-т горно-хим. сырья.
- Каравайко Г. И., Мошнякова С. А.* 1972. Роль тионовых бактерий в окислении сульфидных руд медно-никелевых месторождений Кольского полуострова.— Изв. АН СССР, серия биол., № 2.
- Каравайко Г. И., Мубаракова К. Ю.* 1969. Эффективность применения бактериального выщелачивания для извлечения меди из бедных забалансовых руд Кальмакырского месторождения.— Цветная металлургия, № 7, 17.
- Касаткин А. Г.* 1948. Основные процессы и аппараты химической технологии. Госхимиздат.
- Ковальский В. В., Ермаков В. В., Летунова С. В.* 1968. Геохимическая экология микроорганизмов в условиях различного содержания селена в почвах.— Микробиология, 137, 61, 122.
- Комарова Л. И.* 1949. Пипетка для выделения культур из одной клетки.— Микробиология, 18, вып. 4, 370.
- Корсакова М. П.* 1941. Восстановление нитратов до аммиака некоторыми факультативными и облигатными анаэробами.— Микробиология, 10 (3), 299.
- Косиков К. В.* 1952. Новый метод выделения отдельных клеток микроорганизмов.— Микробиология, 21, вып. 4, 449.
- Крауцов П. В., Сорокин Ю. И.* 1959. Образование сероводорода за счет восстановления сульфатов в Куйбышевском водохранилище.— Труды Ин-та биол. водохран., вып. 2, № 5, 191.
- Крайнов С. Р.* 1967. Геохимия германия в углекислых термальных водах (на примере Памира и Большого Кавказа).— Геохимия, № 3, 356.
- Крамаренко Л. Е.* 1962. Бактериальные биоценозы в подземных водах месторождений некоторых полезных ископаемых и их геологическое значение.— Микробиология, 31, вып. 4, 694.
- Крамаренко Л. Е., Призренова И. И.* 1961. Денитрифицирующие — окисляющие серу бактерии в сульфидных месторождениях и метод их выявления при поисковых работах.— В сб.: «Материалы по региональной и поисковой гидрогеологии». Л., ВСЕГЕИ.
- Крамаренко Л. Е., Тебенёва Р. И., Призренова И. И.* 1961. Тионовые бактерии в подземных водах редкометальных месторождений Джунгаро-Балхашской металлогенической провинции и их поисковое значение. Материалы по региональной и поисковой гидрогеологии. Л., ВСЕГЕИ, новая серия, вып. 46.
- Крестовников А. Н.* 1929. Сравнение рентабельности щелочного и серноокислотно-способов по извлечению меди из медистых песчаников.— Минеральное сырье, № 3.
- Крюков П. А., Проценко Г. П.* 1955. Применение ионитов для определения общей минерализации вод. I. Определение суммы анионов сильных кислот с применением катионитов. Современные методы хим. анализа природной воды. М., Изд-во АН СССР.
- Крючков В. А., Голомзик А. И., Лаптева А. М.* 1970. Оптимизация бактериальных окислительных процессов с применением математического планирования эксперимента.— Изв. ВУЗов, № 6.
- Кузнецов В.* 1963. Кучное выщелачивание урановых руд. Экспресс-информация.— Цветная металлургия, № 13.
- Кузнецов С. И.* 1949. Основные итоги и очередные задачи микробиологических исследований иловых озерных отложений.— Труды Всес. гидробиол. об-ва, 1.
- Кузнецов С. И.* 1952. Замечания к статье *Е. Рукиной* и *В. Бирюзовой* «Методы получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток».— Микробиология, 21, вып. 4, 477.
- Кузнецов С. И.* 1961. Основные направления исследований геологической деятельности микроорганизмов.— Труды Ин-та микробиологии, вып. 9, 5.
- Кузнецов С. И.* 1968. Итоги совещания по применению микробиологического метода выщелачивания цветных металлов из забалансовых руд и задачи дальнейших исследований. В сб. «Применение бактериального метода вы-

- щелачивания цветных металлов из забалансовых руд». «Цветметинформация».
- Кузнецов С. И. 1970. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. М., Наука».
- Кузнецов С. И., Иванов М. В., Ляликова Н. Н. 1962. Введение в геологическую микробиологию. М., Изд-во АН СССР.
- Кузнецов С. И., Карзинкин Г. С. 1930. Метод количественного учета бактерий в воде.— Русск. гидробиол. журнал, 9, вып. 1—3, 85.
- Кузнецов С. И., Романенко В. И. 1963. Микробиологическое изучение внутренних водоемов (лабораторное руководство) М., Изд-во АН СССР.
- Кузнецова Э. Г. 1970. Зарубежный опыт применения микробиологических методов для извлечения урана из бедных руд.— Успехи микробиологии, № 6, 153.
- Кузнецова В. А., Горленко В. М. 1965. Влияние температуры на развитие микроорганизмов из заводняемых пластов Ромашкинского нефтяного месторождения.— Микробиология, 34, вып. 2, 330.
- Куликова М. Ф. 1966а. К геохимии галлия и индия в зоне окисления свинцово-цинковых месторождений Средней Азии.— Геохимия, № 10, 1233.
- Куликова М. Ф. 1966б. К геохимии кадмия в зоне окисления некоторых свинцово-цинковых месторождений Средней Азии.— Геохимия, № 3, 323.
- Курихара Кадзуо. 1968. Обогащение руды при помощи микроорганизмов.— Кагаку ту сэйбуцу, Kagaku to scibutsu», 6, № 10, 588.
- Латева А. М., Крючков В. А., Голомзик А. И. 1971. Применение гелевых пластинок, пропитанных средой 9К, для количественного учета и выделения *Thiobacillus ferrooxidans*. Микробиология, 40, вып. 3, 572.
- Лисенкова Л. А. 1967. Сравнительное количественное изучение цитохромов хемоавтотрофных и гетеротрофных микроорганизмов. Автореф. канд. дисс., М.
- Листова Л. П. 1966. Экспериментальные данные о растворимости сульфида свинца в окислительных условиях.— Геохимия, № 1, 60.
- Листова Л. П., Бондаренко Г. П. Растворение сульфидов свинца, цинка и меди в окислительных условиях. М., «Наука».
- Листова Л. П., Вайнштейн А. З., Рябина А. А. 1966. О растворении золота в средах, возникающих при окислении некоторых сульфидов.— В сб. «Металлогения осадочных и осадочно-метаморфических пород». М., «Наука».
- Ляликова Н. Н. 1959. Физиология и экология *Thiobacillus ferrooxidans* в связи с его ролью в окислении сульфидных руд. Канд. дисс., М.
- Ляликова Н. Н. 1966. Окисление сульфидов культурой *Thiobacillus ferrooxidans*.— Труды Моск. общ-ва испыт. природы, 24, 211.
- Ляликова Н. Н. 1967. Окисление антимонита новой культурой тионовых бактерий.— Докл. АН СССР, микробиол., 176, № 6, 1432.
- Ляликова Н. Н. 1968. Особенности физиологии микроорганизмов, окисляющих сульфиды металлов.— В сб. «Применение бактериального метода выщелачивания цветных металлов из забалансовых руд». «Цветметинформация».
- Ляликова Н. Н. 1970. Роль микроорганизмов в образовании и разрушении сульфидов в рудных месторождениях.— Геология рудных месторождений, № 1, 63.
- Ляликова Н. Н., Дерюгина З. П. 1966. Микробиологическое обследование некоторых сульфидных месторождений Северного Кавказа.— Микробиология, 35, вып. 6, 1012.
- Ляликова Н. Н., Куликова М. Ф. 1965. Роль бактерий в выщелачивании редких элементов из сульфидных руд.— Докл. АН СССР, 164, № 3, 674.
- Ляликова Н. Н., Куликова М. Ф. 1969. Окисление германийсодержащих сульфидов бактериями.— Докл. АН СССР, минералогия, 184, № 5, 1194.
- Ляликова Н. Н., Мокеичева Л. Я. 1969. Роль бактерий в миграции золота на месторождениях.— Микробиология, 38, вып. 5, 805.
- Ляликова Н. Н., Соколова Г. А. 1965. Микробиологическая характеристика некоторых рудных месторождений центрального Казахстана.— Микробиология, 34, вып. 2, 335.

- Максимов В. Н., Федоров В. Д. 1966. О математическом планировании биологических экспериментов.—Изв. АН СССР, серия биол., № 6, 864.
- Максимов В. Н., Федоров В. Д., Богоров В. Г. 1966. Некоторые замечания о применении методов математического планирования эксперимента при описании и оптимизации экологических процессов.—Докл. АН СССР, 167, № 8, 675.
- Малахова П. Т., Коваленко Э. В. 1969. Микробиологическая характеристика свинцово-цинкового месторождения Кургашинок.—Узб. биол. ж., № 3, 16.
- Манаков В. Я., Степанов Б. А. 1967. Эндогенные пожары на Северо-Уральских бокситовых рудниках.—Бюлл. цвет. мет., № 2, 11.
- Мейнелл Дж., Мейнелл Э. 1967. Экспериментальная микробиология (теория и практика). М., «Мир».
- Мехтиева В. Л., Кондратьев Р. М., Чурмантева М. Н. 1964. Фракционирование стабильных изотопов серы в процессе бактериальных окислительно-восстановительных реакций.—Химия земной коры, т. II, 601.
- Митрофанов С. И. 1950. Исследование руд на обогатимость. Гос. научно-техн. изд.-во лит-ры по черной и цветной металлургии.
- Митрофанов С. И., Новин Р. Б., Курочкина А. В., Мещанинова В. И., Скепнер Е. Б., Щербаков В. А., Розин Е. Е., Майоров А. Д., Щербакова М. С., Дятлов П. В. 1970. Комбинированные методы переработки окисленных и смешанных медных руд (теория и практика). М., «Недра».
- Михайлов А. С. 1962. Образование молибденосодержащих гидроокислов железа.—Геохимия, № 10, 925.
- Михайлов А. С. 1964. Геохимия молибдена в окислительной зоне.—Геохимия, № 11, 1171.
- Мубаракова К. Ю., Каравайко Г. И., Еремин В. А. 1968. Микробиологические исследования на Кальмакырском медно-молибденовом месторождении.—В сб. «Применение бактериального метода выщелачивания цветных металлов из забалансовых руд». «Цветметинформация».
- Новожилова М. И. 1959. Определение вероятной ошибки при учете бактерий в водоемах методом прямого счета.—Труды VI совещ. по проблемам биологии внутренних вод. М.—Л., Изд.-во АН СССР.
- Огиевский В. М. 1954. Подземные пожары на колчеданных рудниках. М., ГОНТИ.
- Омелянский В. Л. 1940. Практическое руководство по микробиологии. Изд. 2-е. Л., Изд.-во АН СССР.
- Панин И. М. 1968. Применение ядерных взрывчатых веществ при разработке рудных месторождений. Экспресс-информация.—Горнорудная промышленность, № 10.
- Паре И. 1968. Бактериальное выщелачивание золота. Биологическое исследование этого явления. Проблема практического применения.—Докл. на VIII Междунар. конф. по обогащению полезных ископаемых.
- Перельман А. И. 1968. Геохимия эпигенетических процессов (зона гипергенеза). М., «Недра».
- Перфильев В. В., Габе Д. Р. 1961. Капиллярные методы изучения микроорганизмов. М.—Л., Изд.-во АН СССР.
- Плаксин И. Н., Барский Л. А., Рубинштейн Ю. Б. 1967. Выбор и анализ параметров оптимизации процессов обогащения полезных ископаемых.—Изв. ВУЗов, горный журнал, № 3.
- Плаксин И. Н., Сулова В. В., Тяпкина М. Д. 1931. Гидрометаллургические методы обработки медистых песчаников Урала. Гос. научн.-техн. изд.-во.
- Плаксин И. Н., Юхтанов Д. М. 1949. Гидрометаллургия. М., Металлургиздат.
- Плаксина Л. Д., Хан Г. А., Рубинштейн Ю. Б., Адлер Ю. П. 1966. Применение планирования эксперимента при постановке флотационных опытов.—Изв. ВУЗов, горный журнал, № 3, 152.
- Победимская К. А., Белов Н. В. 1966. Кристаллохимические особенности сульфидов и халькогенидов.—Геохимия, № 2, 152.
- Пожарицкий К. Л. 1947. Опробование месторождений цветных металлов и золота. М., Металлургиздат.

- Полькин С. И., Каравайко Г. И., Таужнянская З. А., Панин В. А. 1969. Применение бактерий при выщелачивании мышьяка и меди из оловосодержащих руд и продуктов.— Цветная металлургия, № 6, 35.
- Полькин С. И., Каравайко Г. И., Таужнянская З. А., Панин В. А. 1970. Бактериальное селективное выщелачивание мышьяка и меди из сульфидно-окисленных оловянных концентратов, механизм выщелачивания. Труды Междунар. конф. по обогащению полезных ископаемых в Чехословакии.
- Померанц Л. Б. 1966. Факультативно-автотрофные тионовые бактерии, выделенные из подземных вод нефтяных и серных месторождений.— Микробиология, 35, вып. 2, 350.
- Работнова И. Л. 1957. Роль физико-химических условий (рН и gH_2) в жизнедеятельности микроорганизмов. М., Изд-во АН СССР.
- Разенкова Н. И., Галактионова Т. Ф. 1963. Экспериментально-методические исследования в области минералогии и геохимии редких элементов. М., Изд-во АН СССР.
- Разумов А. С. 1947. Методы микробиологических исследований воды. Изд-во Мин-ва строит. предприятий тяжелой промышленности. «ВОДГЕО».
- Разумов А. С. 1952. Замечания к статье Е. Рукиной и В. Бирюзовой «Методы получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток».— Микробиология, 21, вып. 4, 478.
- Разумов А. С., Корш Л. Е. 1960. Методы санитарно-микробиологических исследований.— В сб. «Приемы санитарного изучения водоемов», часть 5, 241.
- Резников А. Л., Муликовская Е. П. 1954. Методы анализа природных вод. М., Госгеолтехиздат.
- Резников А. А., Муликовская Е. П., Соколов И. Ю. 1970. Методы анализа природных вод. М., Госгеолтехиздат.
- Резников А. А., Суворова Е. Г. 1960. Полевое определение нитрат-иона. Методические материалы для лабор. геол. управл.— Бюлл., № 2, Всес. ин-та минер. сырья.
- Родина А. Г. 1965. Методы водной микробиологии. М.— Л., «Наука».
- Рожкова Е. В., Кузнецова Э. Г., Васильева Э. Г. 1965. Влияние бактериального процесса на образование эпигенетических сульфидных и других минералов в осадочных толщах.— Литология и полезные ископаемые, № 4, 6.
- Романенко В. И. 1964. Потенциальная способность микрофлоры иловых отложений к гетеротрофной ассимиляции углекислоты и к хемосинтезу.— Микробиология, 33, вып. 1, 134.
- Рубан Е. Л. 1961. Физиология и биохимия нитрифицирующих микроорганизмов. М., Изд-во АН СССР.
- Рукина Е. А., Бирюзова В. И., 1952. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток.— Микробиология, 21, вып. 1, 60.
- Сауков А. А. 1966. Геохимия. М., «Наука».
- Свешников Г. Б. 1967. Электрохимические процессы на сульфидных месторождениях. Изд-во ЛГУ.
- Свешников Г. Б., Добычин С. Л. 1956. Гальваническое растворение сульфидов и ореол рассеяния тяжелых металлов.— Геохимия, № 4, 70.
- Сендел Е. 1964. Колориметрические методы определения следов металлов. М., «Мир».
- Скрипченко Н. С. 1969. Фоссилизированные сульфатредуцирующие микроорганизмы в колчеданных рудах.— Литология и полезные ископаемые, № 5, 40.
- Скрипченко Н. С., Веселовский Н. В., Алексеев А. П. 1963. Изотопный состав серы в пиритах медноколчеданных месторождений Северного Кавказа.— Изв. АН СССР, серия геол., № 5, 89.
- Смирнов С. С. 1955. Зоны окисления сульфидных месторождений. М., Изд-во АН СССР.
- Собиев Б. М., Ходов Л. В. 1963. Подземное выщелачивание — крупный резерв медной промышленности.— Горный журнал, № 9, 3.
- Соколова-Дубинина Г. А., Дерюгина З. П. 1966. Участие микроорганизмов в

- образовании окисленных руд Чиатурского месторождения марганца.— Микробиология, **35**, вып. 2, 344.
- Соколова-Дубинина Г. А., Дерюгина З. П. 1967а. Роль микроорганизмов в образовании родохозита в озере Пуннус-Ярви.— Микробиология, **36**, вып. 3, 535.
- Соколова-Дубинина Г. А., Дерюгина З. П. 1967б. Изучение процесса образования железо-марганцевых конкреций в озере Пуннус-Ярви.— Микробиология, **36**, вып. 6, 1066.
- Соколова Г. А., Каравайко Г. И. 1964. Физиология и геохимическая деятельность тионовых бактерий. М., «Наука».
- Сорокин Ю. И. 1956. К теории хемоавтотрофии.— Микробиология, **25**, 3, 363.
- Сорокин Ю. И. 1962а. Экспериментальное исследование бактериальной редукции сульфатов в Черном море при помощи S³⁵.— Микробиология, **31**, вып. 3, 402.
- Сорокин Ю. И. 1962б. Микрофлора грунтов Черного моря.— Микробиология, **31**, вып. 5, 899.
- Сорокин Ю. И. 1966. Источники энергии и углерода для биосинтеза у сульфат-редуцирующих бактерий.— Микробиология, **35**, вып. 5, 761.
- Страхов Н. М. 1962. Основы теории литогенеза, т. III. Закономерности состава и размещения аридных отложений. Изд-во АН СССР.
- Тausон В. О., Алешина В. И. 1932. О восстановлении сульфатов бактериями в присутствии углеводоов.— Микробиология, **1**, вып. 3, 229.
- Трошанов Э. П. 1964. Бактерии, восстанавливающие марганец и железо в донных осадках.— В сб. «Роль микроорганизмов в образовании железо-марганцевых озерных руд». М.— Л., «Наука».
- Тюльпанова-Мосевич М. В. 1930. Денитрификация на неорганической среде.— Арх. биол. наук, **30**, вып. 2, 203.
- Тюрин Н. Г., Каковский И. А. 1960. О поведении золота и серебра в зоне окисления сульфидных месторождений.— Изв. ВУЗов, серия цветная металлургия, № 2, 6.
- Тюрин Н. Г., Каковский И. А. 1962. Об особенностях миграции некоторых металлов в земной коре.— Изв. ВУЗов, серия цветная металлургия, № 1, 7.
- Федоров В. Д., Богоров В. Г., Максимов В. Н. 1966. Стратегия планирования экстремальных биологических экспериментов на примере задачи оптимизации питательных сред для микроорганизмов.— Докл. АН СССР, серия биол., **170**, № 3, 701.
- Ферсман А. Е. 1937. Геохимия, 3. Л., ОНТИ.
- Чеботарев Г. М., Виноградов В. И. 1967. Об изотопном составе серы свинцово-цинковых месторождений Учкулачского рудного поля (Средняя Азия).— В сб. «Изотопы серы и вопросы рудообразования». М., «Наука».
- Шоу Д. М. 1959. Геохимия таллия. Геохимия редких элементов. М., Изд-во АН СССР.
- Щербаков А. В. 1956. В сб. «Советская геология», № 56, 72.
- Юдыцкий А. Н. 1958. Опыт подземного выщелачивания меди.— Цветная металлургия, № 1, 102.
- Юнг Р. С. 1959. Геохимия кобальта. Геохимия редких элементов. М., Изд-во АН СССР.
- Яковлева М. Н. 1959. О геохимии Al, Ti, Fe, Si в условиях сернокислого выветривания (в связи с вопросом о происхождении бокситов).— В сб. «Бокситы, их минералогия и генезис». М., Изд. отд. геолого-геогр. наук АН СССР.
- Яскевич С. М., Тихонов С. А. 1957. О методике измерения потенциалов на минералах.— Цветные металлы, № 6, 21.
- Allen M. 1966. Energy-linked reduction of pyridin-nucleotides in *Th. novellus*.— J. Bacteriol., **91**, № 2, 729.
- Allman M. B., Harris J. A. 1969. An experiment in heap leaching.— Mining Congr. J., **55**, № 7, 28.
- Andersen J. E., Herwig G. L., Moffitt R. B. 1966. Heap leaching at Rum Jungle.— Austral. Mining., **58**, № 4, 35.

- Argall C. O. 1963. How leaching recovers copper from waste and leach dumps in Southwest. Part I.—Mining World., 25, № 11, 22; Part II, № 12, 20.
- Aubert G., Milhaud G., Moncel Ch., Millet J. 1958. Existence isolement et propriétés physicochimique d'un cytochrome C de *Th. denitrificans*.—C. r. Adad. Sci., 246, № 10, 1616.
- Baalsrud K., Baalsrud K. S. 1954. Studies on *Thiobacillus denitrificans*.—Arch. f. Mikrobiol., 20, 34.
- Baas-Becking L. G., More D. 1961. Biogenic sulfides.—Econ. Geol., 56, 259.
- Beck J. V. 1960. A ferrous-oxidising bacterium. I. Isolation and some general physiological characteristics.—J. Bacteriol., 79, № 4, 502.
- Beck J. V. 1967. The role of Bacteria in copper Mining Operation.—Biotechnol. a. Bioengineering, 9, 487.
- Beck J. V., Brown D. G. 1968. Direct sulfide solubilization of sulfide ores by *Thiobacillus ferrooxidans*.—J. Bacteriol., 96, № 4, 1433.
- Beijerinck M. W. 1895. La *Spirillum desulfuricans*, agent de la reduction des sulfates.—Arch. neerl. sci. exactes et natur, 2.
- Beijerinck M. W. 1896. Über *Spirillum desulfuricans* als Ursache von sulfatredution.—Zbl. Bakteriol., Abt. 2, Bd. 1.
- Beijerinck M. W. 1904. Über die Bacterien, welche sich im Dunkeln mit Kohlen-saure als Kohlenstoffquelle ernähren können.—Zbl. Bakteriol., Abt. II, Bd. 11, 593.
- Beijerinck M. W. 1920. Chemosynthesis at denitrification with sulfur as source of energy.—Proc. Acad. Sci., Amsterdam, b. 22, № 9 and 10.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1957. 7-th ed. Baltimore.
- Bhappu R. A., Reynolds D. H., Roman R. I. 1965. Molybdenum recovery from sulfide and oxide ores.—J. Metals, 17, № 11, 1199.
- Blaylock B., Nason A. 1963. Electron transport systems of the chemoautotroph *Ferrobacillus ferrooxidans*.—I. Cytochrome C-containing iron oxidase.—J. Biol. Chem., 238, № 10, 3453.
- Booth G. H., Mercer S. I. 1963. Resistance to copper of some oxidizing and reducing bacteria.—Nature, 199, № 4893.
- Box G. E. P., Wilson K. W. 1951. On the experimental attainemen of optimum condition.—Journal of the royal statistical Society, ser. B, 13, № 1, 1.
- Brocard R. 1963. Extraction de metaux par des bacteries.—L'usine nouvelle, № 33, 60.
- Bromfield S. M. 1954. Reduction of ferric compaunds by soil bacteria.—J. Gen. Microbiol., 11 (1).
- Bryner L. C., Anderson R. 1957. Microorganisms in leaching sulfide minerals.—Industr. and Engng. Chem., 49, 1721.
- Bryner L., Beck J., Davis D., Wilson D. 1954. Microorganisms in leaching sulfide minerals.—Industr. and Engng. Chem., 46, № 12, 2587.
- Bryner L., Jamerson A. 1958. Microorganisms in leaching sulfide minerals.—Appl. Microbiol., 6, № 4, 281.
- Butlin K. R., Adams M. E. 1947. Autotrophic growth of sulfatereducing bacteria.—Nature, 160, № 4057, 154.
- Butlin K. R., Adams M. E., Thomas M. 1949. The isolation and cultivation of sulphate-reducing bacteria.—J. Gen. Microbiol., 3, 46.
- Cholodny N. 1929. [Холодный Н. Г.]. Zur Methodik der quantitativen Erforschung des bakteriellen Planktons.—Zbl. f. Bakt. Abt. II, 77, 8—14.
- Colmer A. R., Hinkle M. E. 1947. The role of microorganisms in acid mine drainage. A preliminary report.—Science, 106, 253.
- Colmer A. R., Temple K. L., Hinkle M. E. 1949. An iron-oxidizing bacterium from drainage of some bituminous coal mines.—J. Bacteriol., 59, 317.
- Cook T. M. 1964. Growth of *Thiobacillus thiooxidans* in shaken cultures.—J. Bacteriol., 88, 620.
- Corrick I. D., Sutton I. A. 1961. Three chemosynthetic autotrophic bacteria important to leaching operations at Arizona copper mines.—US Bur. Mines Rep. Invest., 57, 18.

- Dugan P. R., Lundgren D. G. 1965. Energy supply for the chemoautotroph *Ferrobacillus ferrooxidans*.— *J. Bacteriol.*, **89**, N 3, 825.
- Duncan D. W. 1967. Microbial leaching of sulphide Minerals.— *Austral. Mining*, **15**, November.
- Duncan D. W., Trussell P. C. 1964. Advances in the microbiological leaching of sulphide ores.— *Canad. Metallurg. Quarterly*, **3**, № 1, 43.
- Duncan D. W., Walden C. C., Trussell P. C. 1966. Biological leaching of mill.— *Products. Transactions*, **69**, 329.
- Duncan D. W., Walden C. C., Trussell P. C., Lowe E. A. 1967. Recent advances in the microbiological leaching of sulfides.— *Transactions of SME*, June, **238**, 1.
- Ehrlich H. L. 1964. Bacterial oxidation of arsenopyrite and enargite.— *Econ. Geol.*, **59**, 7, 1306.
- Ehrlich H. L., Fox S. I. 1967. Environmental effects on bacterial copper extraction from low-grade copper sulfide ores.— *Biotechnol. and Bioengineering*, **9**, 471.
- Emoto Y., 1929. Über drei neue Arten der schwefeloxidierenden Bakterien.— *Proc. Imp. Acad., Tokio*, **5**, 148.
- Engg Mining Journal. 1966, vol. 167, № 9, 173.
- Fisher I. R. 1966. Bacterial leaching of Elliot lake uranium ore.— *Canad. Mining and Metallurg. Bull.*, **59**, 649, 588.
- Fitch F. H., Davies C. I. V. 1965. Planning of underground copper leaching.— *Sulphur*, № 61, 19.
- Freise F. W. 1931. The transportation of gold by organic underground solutions.— *Econ. Geol.*, **26**, № 4.
- Giltay E., Abersen G. 1892. Recherches sur un mode de denitrification.— *Arch. neerl. scand. nat.*, **25**, 341.
- Mc Goran C. I. M., Duncan D. W., Walden C. C. 1969. Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* on various Substrates.— *Canad. J. Microbiol.*, **15**, № 1, 135.
- Mc Greedy H. H., Harrison V. F., Gow W. A. 1969. A proposed method using bacteria, for the continuous leaching of a uranium ore.— *Canad. Mining and Metallurg. Bull.*, **62**, № 682, 135.
- Mc Gregor R. A. 1966. Recovery of U_3O_8 by underground leaching.— *Canad. Mining and Metallurg. Bull.*, **59**, № 649, 583.
- Mc Gregor R. A. 1968. Bacterial leaching of Uranium. *Trans.— Amer. Nucl. Soc.*, **11**, № 1, 123.
- Mc Gregor R. A. 1969a. The bacterial leaching of uranium.— *Nucl. Applic.*, **6**, № 1, 68.
- Mc Gregor R. A. 1969b. Uranium dividends from bacterial leaching.— *Mining. Eng.*, **21**, № 3, 54.
- Grossman J. P., Postgate J. R. 1953. Cultivation of sulphate-reducing bacteria.— *Nature*, **171**, 600.
- Gundersen K. 1968. The formation and utilization of reducing power in aerobic chemoautotrophic bacteria.— *Z. Allg. Mikrobiol.*, **8**, N 5.
- Halvorson H. O., Starkey R. L. 1927. Studies on the transformation of iron in nature. Part II. Concerning the importance of microorganisms in the Solution.— *Anal. reduction of iron. Soil Sci.*, **24**.
- Happold F. C., Key A. 1937. The bacterial purification of gasworks liquors. II. The biological oxidation of ammonium thiocyanate.— *Biochem. J.*, **31**, № 8, 1323.
- Hazen I. B. 1965. The Anaconda company waste treatment plant for the Butte Mines and Anaconda Reduction works. *Proc. 12-th Pecif. Northmest Industr. waste Cond., seattle, wash. seattle, wach, Univ. wash. Deptcivil, Engng.*
- Hiroshi J., Hiroshi O., Naosuke S. 1969. A new sulfate reducing bacterium isolated from Antarctica.— *J. Gen. and Appl. Microbiol.*, **15**, № 1, 11.
- Houot R. 1967. Traitement des mineraïs de cuivre.— *Ann. mines*, № 5, 291.
- Hovanec G. 1969. Tehnološko — tehničke Karakteristike kiselinog luženja bakronosnih jedinjenja iz niskoprocenatnih sirovina. Bor, Rudarsho — metalurški fakultet i institut za bakar u Boru.

- Hutchinson M., Johnstone K. I., White D.* 1969. Taxonomy of the Genus *Thiobacillus*: the outcome of numerical taxonomy applied to the group as a whole.— *J. Gen. Microbiol.*, **57**, 3, 397.
- Imai K., Tano T., Noro H.* 1970. Bacterial leaching extracts manganese values from manganese oxide ore. U. S. 3433629 E. M. I. march, 254. Patent.
- Jones G. E., Benson A. A.* 1965. Phosphatidylglycerol in *Thiobacillus thiooxidans*. — *J. Bacteriol.*, **89**, № 1, 260.
- Jones G. E., Starkey R. L.* 1957. Fractionation of stable isotopes of sulphur by microorganisms and their role in deposition of native sulphur.— *Appl. Microbiol.*, **5**, № 2.
- Jones G., Starkey R. J.* 1961. Surface active substances produced by *Thiobacillus thiooxidans*.— *J. Bacteriol.*, **82**, № 5, 788.
- Kaplan I. R., Rittenberg S. C.* 1962. Fractionation of isotopes in relation to the problem of elemental sulphur transport by microorganisms.— *Nature*, **194**, № 4833, 1098.
- Knaysi G.* 1943. A cytological and microchemical study of *Th. thiooxidans*.— *J. Bacteriol.*, **46**, 451.
- de Kruijff C. B., Walt I. P., Schwartz H.* 1957. The utilization of thiocyanate and nitrate by *Thiobacillus*. *Antonie van Leeuwenhoek*.— *J. Microbiol. a. serol.*, **23**, 305.
- Lacey D. T., Lawson F.* 1970. Kinetics of the liquid-phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*.— *Biotechnol. a. Bioengineering*, **12**, № 1, 29.
- Landesman I., Duncan D., Walden C.* 1966. Oxidation of inorganic sulfur compounds by washed cell suspensions of *Thiobacillus ferrooxidans*.— *Canad. J. Microbiol.*, **12**, 957.
- Leathen W. W., Braley S. A.* 1955. Interpretation of reactions in acid thiosulfate media.— *J. Bacteriol.*, **69**, 481.
- Leathen W. W., McIntyre S. A., Braley S. A.* 1951. A medium for the study of the bacterial oxidation of ferrous iron.— *Science*, **114**, 280.
- Lees H.* 1954. The biochemistry of nitrifying bacteria. In «Autotrophic Microorganisms». Fry B. und Peel. I. Eds. Cambridge.
- Lieske R.* 1912. Untersuchungen über die Physiologie denitrifizieren der Schwefelbakterien.— *Ber. Dtsch. bot. Ges.*, **30**, № 12, 11.
- Lipman C. B., Mc Lees E.* 1940. A new sulfuroxidizing bacterium from a coprolite.— *Soil Sci.*, **50**, 429.
- Lipman C. B., Waksman S. A.* 1923. The oxidation of selenic by a new group of autotrophic microorganisms.— *Science*, N. S., **57**, 58.
- London J.* 1963. *Thiobacillus intermedius* nov. sp. A novel type of facultative autotroph.— *Arch. Mikrobiol.*, **46**, 329.
- London J., Rittenberg S. C.* 1967. *Thiobacillus perometabolis* nov. sp., a Non-autotrophic *Thiobacillus*.— *Arch. Mikrobiol.*, **59**, 218.
- Mahoney R. P., Edwards M. R.* 1966. Fine structure of *Th. thiooxidans*.— *J. Bacteriol.*, **92**, № 2, 487.
- Malouf E., Prater I.* 1961. Role of Bacteria in the alteration of sulfide minerals.— *J. Metals*, **13**, 353.
- Mara D. D., Williams D. I. A.* 1970. The evaluation of media used to enumerate sulphate-reducing bacteria.— *J. Appl. Bacteriol.*, **33**, № 3, 543.
- Marchlewitz R., Hasche D., Schwartz W.* 1961. Untersuchungen über das Verhalten von Thiobakterien gegenüber Schwermetallen.— *Z. Allg. Mikrobiol.*, **7**, 3, 179.
- Masami I.* 1960. Sur la dissolution des minerais sulfures en divers milieux. II. Dissolution de la pyrite et de la chalcopryrite.— *Bull. chem. Soc. Japan*, **33**, № 8, 1052.
- Merrit R. C., Pings W. B.* 1969. Processing of uranium ores. Part II. *Colo Sch. Mines, Miner.*— *Ind. Bull.*, **12**, № 6, 20.
- Miller L. P.* 1950. Formation of metal sulfides through the activities of sulfate-reducing bacteria.— *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, **16**, 3, 85.
- Miller R. P., Napier E., Wells R. A. I., Audsley A., Daborn G. R.* 1963. Natural leaching of Uranium ores.— *Bull. Inst. Mining a. Metallurgy*, № 674, 217.

- Mining Engng.*, 1970, v. 22, № 6, 18.
- Mining Journal.* 1958. Microbes treat ores and coal, 250, № 6391, 190.
- Mining Journal.* 1967. Copper leaching, Kennecotts improved system. July 14, 269, № 6882, 24.
- Mining Magazine.* 1965. Leach Plant at Mangula. 113, № 5, 405.
- Mizoguchi T., Izaki K., Takahashi H., Okabe T. 1970. Bacterial pre-treatment of ores in Bismuth leaching.—*Koguo Kogaku Zasshi*, 73, N 8, 1811.
- Moss F. J., Andersen J. E. 1968. The effects of environment on bacterial leaching rates.—*Proc. Austral. Inst. Met.*, № 225, March, 15.
- Mouret R., Pottier P. 1961. Capillary leaching of uranium ores.—*Energie Nucl.* 3, 251.
- Murata T. 1966. Patent, French, 1 454 727.
- Murata T. 1967. Patent, British, 1068308.
- Nishihara G. S. 1914. The rate of reduction of acidity of descending waters by certain ore and gangue minerals and its bearing upon secondary sulphide enrichment.—*Econ. Geol.*, 9, 743.
- Ottow I. C. 1968. Evaluation of iron-reducing bacteria in soil and the physiological mechanism of iron-reducing in *Aerobacter aerogenes*.—*Z. Allg. Mikrobiol.*, 8, 45, 441.
- Ottow I. C. G. 1970. Selection, characterization and iron-reducing capacity of nitrate reductaseless (nit⁻) mutants of iron-reducing bacteria.—*Z. Allg. Mikrobiol.*, 10, № 1, 55.
- Pares I. 1964a. Action d'Agrobacterium tumefaciens dans la mise en solution de l'or.—*Ann. Inst. Pasteur*, 107, № 1, 141.
- Pares I. 1964b. Action de quelques bacteries heterotrophes banales dans le cycle de l'or.—*Ann. Inst. Pasteur*, 107, № 4, 573.
- Pares I., Cuper I. 1964. Essai d'epuisement des laterites auriferes par voie bacterienne.—*Ann. Inst. Pasteur*, 107, № 4, 568.
- Pares I., Giraud I. 1964. Action des bacteries autotrophes dans le cycle de l'or.—*Ann. Inst. Pasteur*, 107, № 4, 576.
- Pares I., Martinet R. 1965. Perfectionnements apportis aux procedes pour extraire l'or des mineraux auriferes. (Bureau de Recherches Geologiques et Mineres). Patent N 1401355.
- Parker C. D. 1945. The isolation of a species of bacterium associated with the corrosion of concrete exposed to atmospheres containing Hydrogen sulfide.—*Austral. J. Exptl Biol. and Med. sci.*, 23, 2.
- Parker C. D. 1947. Species of sulfur bacteria associated with the corrosion of concrete.—*Nature*, 159, 439.
- Parker C. D., Prisk T. 1953. The oxidation of inorganic sulfur compounds by various sulfur bacteria.—*J. Gen. Microbiol.*, 8, № 13, 344.
- Peck H. D. 1962. Comparative metabolism sulfur compounds in microorganisms.—*Bacteriol. Rev.*, 26, № 1, 67.
- Perkins E. C., Novielli F. 1958. Bacterial leaching of manganese ores.—*Mining Congress Journal*, 44, № 8, 72.
- Pjennning N. 1964. Anreicherungskulturen für rote und grüne Schwefelbakterien. Anreicherungskultur und Mutantenauslese symposium Stuttgart (Leit. H. G. Schlegel).
- Pluskota B., Zmudziński K. 1969. Lugowanie bakteryjne ubogich rud miedzi.—*Rudy i metale niezel.*, 14, № 1, 34.
- Pochon I. 1954. Manuel Technique d'analyse microbiologique du Sol, Paris.
- Postgate J. 1959. Sulphate reduction by bacteria.—*Ann. Rev. Microbiol.*, 13, 505.
- Postgate J. R. 1966. Media for sulphur Bacteria.—*Labor. practice*, 15, № 11, 1239.
- Postgate J. R. 1969. Media for sulphur bacteria. Some amendments.—*Lab. pract.*, 18, 286.
- Postgate J. R., Campbell L. L. 1966. Classification of Desulfovibrio species the nonsporulating sulfate-reducing bacteria.—*Bacteriol. Rev.*, 30, № 4, 732.
- Power R. L. 1964. Copper dump leaching at Asarco's Silver Bell Unit. Arizona. Unit processes in hydrometallurgy. New York — London, 806.
- Precipitation of copper from dilute solutions.—*Mining Engng.*, 1966, 18, № 6, 70.

- Razzell W. E., Trussell P. C. 1963a. Isolation and Properties of an iron-oxidizing Thiobacillus.—*J. Bacteriol.*, **85**, № 3, 595.
- Razzell W. E., Trussell P. C. 1963b. Microbiological leaching of metallic sulfides.—*Appl. Microbiol.*, **11**, № 2, 105.
- Remsen C., Lundgren D. G. 1966. Electron Microscopy of the cell envelope of *Ferrobacillus ferrooxidans* prepared by freeze-etching and chemical fixation techniques.—*J. Bacteriol.*, **92**, № 6, 1765.
- Rickard D. T. 1969. The microbiological formation of iron sulphides.—*Stockholms contrihs Geol.*, **20**, 49.
- Roberts I. L. 1947. Reduction of ferric hydroxide by strains of *Bacillus polymyxa*.—*Soil Sci.*, **63**.
- Santer M., Boyer L., Santer U. 1959. *Thiobacillus novellus*. I. Growth on organic and inorganic media.—*J. Bacteriol.*, **78**, 197.
- Sato M. 1960. Oxidation of sulfide ore bodies. II. Oxidation mechanisms of sulfur.—*J. Bacteriol.*, **85**, № 1, 137.
- Seck H. R. 1967. New servo-systems bolster Kannecott output. *Engng and Mining J.*, August, p. 75—77.
- Shaeffer W., Umbreit W. I. 1963. Phosphotidylinositol as a wetting agent in sulfur oxidation by *Thiobacillus thiooxidans*.—*J. Bacteriol.*, **85**, № 2, 492.
- Shaeffer W., Holbert F., Umbreit W. L. 1963. Attachment of *Th. thiooxidans* to sulfur.—*J. Bacteriol.*, **85**, № 1, 137.
- Shively J. M., Benson A. A. 1967. Phospholipids of *Thiobacillus thiooxidans*.—*J. Bacteriol.*, **94**, № 5, 1679.
- Shnaitman C., Lundgren D. C. 1965. Organic compounds in the spent medium of *Ferrobacillus ferrooxidans*.—*Canad. J. Microbiol.*, **VII**, № 1, 23.
- Shoemaker R. S., Dorrah R. M. 1968. The economics of heap, leaching.—*Mining Engng*, **20**, № 12, 68.
- Silver M. 1970. Oxidation of elemental sulfur and sulfur compounds and CO₂ fixation by *Ferrobacillus ferrooxidans* (*Thiobacillus ferrooxidans*).—*Canad. J. Microbiol.*, **16**, № 9, 845.
- Silverman M. P., Lundgren D. C. 1959a. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *F. ferrooxidans*. I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields.—*J. Bacteriol.*, **77**, 642.
- Silverman M. P., Lundgren D. G. 1959b. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. II. Manometric studies.—*J. Bacteriol.*, **78**, 326.
- Silverman H., Rogoff M. 1961. Morphological variation in *Ferrobacillus ferrooxidans* related to iron oxidation.—*Nature*, **191**, 1221.
- Starkey R. 1934. Cultivation of organisms concerned in the Oxidation of thiosulfate.—*J. Bacteriol.*, **28**, 387.
- Starkey R. 1935. Isolation of some bacteria with oxidize thiosulfate.—*Soil Sci.*, **39**, № 3, 197.
- Starkey R. L., Wight K. M. 1943. Correlations between oxidation-reduction potentials and the development of sulfate-reducing bacteria.—*J. Bacteriol.*, **45**, 39.
- Sutton J. A., Corrick J. B. 1964. Leaching copper sulphide minerals with selected autotrophic bacteria.—US Bureau of Miner. Report of Investig., N 9, 6423.
- Suzuki I. 1965a. Oxidation of elemental sulfur by an enzyme-system of *Thiobacillus thiooxidans*.—*Biochim. et biophys. acta*, **104**, № 2, 359.
- Suzuki I. 1965b. Incorporation of atmospheric oxygen-18 into thiosulfate by the sulfur-oxidizing enzyme of *Thiobacillus thiooxidans*.—*Biochim. et biophys. acta*, **110**, № 1, 97.
- Suzuki I., Werkman C. H. 1959. Glutathion and sulfur oxidation by *Thiobacillus thiooxidans*.—*Proc. Nat. Acad. Sci.*, **45**, № 2, 239.
- Szolnoki I., Bognar L. 1964. Experiments on the biogenic oxidation of some sulphide ores.—*Acta Geologica*, **8**, 179.
- Taylor B. F., Hoare D. S. 1969. New facultative *Thiobacillus* and reevaluation of the heterotrophic potential of *Thiobacillus novellus*.—*J. Bacteriol.*, **100**, № 1, 487.

- Taylor J. H., Whelan P. E. 1943. The leaching of cupreous pyrites and the precipitation of copper at Rio-Tinto, Spain.—*Trans. Inst. Mining Metals*, 52, 36.
- Temple K., Delchamps E. 1953. Autotrophic bacteria and the formation of acid in bituminous acoal mines.—*Appl. Microbiol.*, 1, H. 5, 255.
- Thode H. G., Kleerkoper H., Mc Elcheran D. 1951. Isotope fractionation in the bacterial reduction of sulfate.—*Research*, 4, 581.
- Thomas R. W. 1938. Leaching copper from worked-out areas of the Ray Mines, Arizona.—*Mining Metallurgy*, 19, 481.
- Torma A. E., Walden C. C., Branion R. M. R. 1970. Microbiological leaching of a zinc sulfide concentrate.—*Biotechnol. and Bioengineering*, 12, № 4, 501.
- Trautwein K. 1921. Beitrag zur Physiologie und Morphologie der Thionsäurebakterien (Omelanski).—*Zbl. Bakteriol., Abt. 2*, 53, 513.
- Trautwein K. 1924. Physiologie und Morphologie der fakultativ autotrophen Thionsäurebakterien unter heterotrophen Ernährungsbedingungen.—*Zbl. Bacteriol., Abt. 2*, 61, 1.
- Trudinger P. A. 1967. The metabolism of Inorganic Sulphur Compounds by Thiobacilli.—*Rev. Pure and Appl. Chem.*, 17, 1.
- Trussell P. C. 1965. The Microbiological Leaching of Metalsulfide Доклад, прочитанный в ин-те микробиологии АН СССР.
- Trussell P. C., Duncan D. W., Walden C. C. 1964. Biological mining.—*Canad. Mining J.*, 85, № 3, 46.
- Tuttle J. H., Dugan P. R., Randles Ch. U. 1969a. Microbial sulfate reduction and its potential utility as an acid mine water pollution abatement procedure.—*Appl. Microbiol.*, 17, № 2, 297.
- Tuttle J. H., Dugan P. R., Macmillan C. B., Randles Ch. J. 1969b. Microbial dissimilatory sulfur cycle in acid mine water.—*J. Bacteriol.*, 97, № 2, 594.
- Umbreit W. J. 1951. Significance of autotrophy for comparative physiology. In «Bacterial. physiology». *Werkman C. H. a. Wilson P. (Eds.)*. New York, Acad. Press.
- Umbreit W. J., Andersen F. F. 1942. A study in Thiobacillus thiooxidans with the electron microscope.—*J. Bacteriol.*, 44, 317.
- Unz R. F., Lundgren D. G. 1961. A comparative nutritional study of three chemoautotrophic bacteria: *Ferrobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*.—*Soil Sci.*, 92, 302.
- Vavra J. P., Frederick L. R. 1952. The effect of sulfur oxidation on the availability of manganese.—*Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 16, 141.
- Vernon I., Mangum I., Beck I., Shafia F. 1960. Studies on a ferrous ion oxidizing bacterium. II. Cytochrome composition.—*Arch. Biochem. and Biophys.*, 88, 227.
- Vishniac W., Santer M. 1957. The Thiobacilli.—*Bacteriol. Revs.*, 21, N 3, 195.
- Waksman S. A. 1932. Principles of soil microbiology. 2. ed. Baltimore.
- Waksman S. A., Joffe I. S. 1922. Microorganisms concerned with the oxidation of sulfur in soil. II. Th. thiooxidans, a new sulfur oxidizing organism isolated from the soil.—*J. Bacteriol.*, 7, № 2, 239.
- Weed P. C. 1956. Cananean program for leaching in place.—*Mining Engng.*, № 7, 721.
- Wells R. C. 1910. The fractional precipitation of sulfides.—*Econ. Geol.*, 5, 1.
- Wells R. C. 1914. Electric activity in ore deposits.—*USA Geol. Surv. Bull.*, 548.
- Youatt J. B. 1954. Studies on the metabolism of *Thiobacillus thiocyanoxidans* — *J. Gen. Microbiol.*, 11, B. 2, 139.
- Zajic J. E. 1966. Extraction of metal values using denitrifying microorganisms. USA, Patent № 3272621.
- Zajic J. E. 1969. Microbiol biogeochemistry. Acad. Press. N. Y. a. London.
- Zimmerley S., Wilson D., Prater J. 1958. Cyclic leaching process employing iron oxidizing bacteria. USA, Patent № 28229964.
- Zimmerley S. R., Malouf E. E., Prater I. D., Schellinger A. K. 1964. pH adjusted, controlled, iron content, cyclic leaching processes for copperbearing rock materials. USA, Patent № 3330650.
- Zmudzinski K., Pluskota B. 1969. Lugowanie bakteryjne ubogich rud miedzi.—*Rudy i metall niez.*, 14, № 2, 80.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
Глава 1	
ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ПОЛЕЗНЫХ ИСКОПАЕМЫХ	
Микроорганизмы, восстанавливающие сульфаты	8
Микроорганизмы, участвующие в окислении восстановленных соединений серы	12
Микроорганизмы, участвующие в восстановлении железа и марганца	25
Глава 2	
ГЕОХИМИЧЕСКАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В МЕСТОРОЖДЕНИЯХ СУЛЬФИДНЫХ РУД	
Геохимическая характеристика месторождений сульфидных руд	28
Геохимическая деятельность тионовых бактерий в месторождениях сульфидных руд и основные закономерности их распространения	34
Роль микроорганизмов в осаждении металлов и образовании сульфидов в рудных месторождениях	38
Роль микроорганизмов в геохимии урана	46
Глава 3	
ЗАДАЧИ И МЕТОДЫ ПОЛЕВЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ПОЛЕЗНЫХ ИСКОПАЕМЫХ	
Стандартизация методов анализа	49
Глава 4	
ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ ЦВЕТНЫХ, РЕДКИХ И БЛАГОРОДНЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ	
Бактериальное окисление закисного железа	58
Бактериальное окисление пирита	60
Бактериальное окисление сульфидных минералов меди	62
Бактериальное окисление сульфидных минералов цинка, никеля, сурьмы, свинца, олова, молибдена и мышьяка	65

Выщелачивание цветных металлов из отходов обогатительных фабрик и концентратов	70
Роль тионовых бактерий в выщелачивании редких металлов	71
Роль микроорганизмов в гидрометаллургии золота	76
Роль микроорганизмов в выщелачивании марганца из руд	81
Механизм бактериального окисления сульфидных минералов, серы и закисного железа	85

Глава 5

ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ПРОЦЕССЫ ХИМИЧЕСКОГО И БАКТЕРИАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ СУЛЬФИДНЫХ МИНЕРАЛОВ И ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД	
Энергия кристаллической решетки	95
Потенциал сульфидов	96
Состав руд	100
Размеры частиц сульфидов	101
Активная кислотность	102
Температура	102
Влияние аэрации и перемешивания	103
Влияние соотношения твердого к жидкому (т:ж) на скорость бактериального окисления сульфидных минералов	104
Действие поверхностно-активных веществ (ПАВ)	107
Влияние минеральных солей	108
Действие магнитного поля	108
Селекция бактерий	109
Выделение новых видов бактерий, способных использовать энергию окисления отдельных минералов	110

Глава 6

ЗАДАЧИ И МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И УКРУПНЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ТЕХНОЛОГИИ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ ЦВЕТНЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ РУД С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ИСХОДНЫХ ДАННЫХ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ УСТАНОВОК	
Выщелачивание цветных и редких металлов из малых навесок сульфидов или руды	114
Выщелачивание цветных металлов из различных типов руды в перколяторах	115
Исследования в укрупненных перколяторах	118
Полупромышленные испытания в колонках	120
Применение методов математического планирования для выяснения условий бактериального выщелачивания цветных металлов из руд	124
Разработка бактериального способа выщелачивания цветных металлов в чанах	133
Каков должен быть режим регенерационной установки?	136
	247

Глава 7

ОБСЛЕДОВАНИЕ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ДЛЯ ОБОСНОВАНИЯ КУЧНОГО И ПОДЗЕМНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ

Основные вопросы, подлежащие изучению при обследовании месторождения	137
Составление технико-экономического обоснования выщелачивания	138

Глава 8

ОРГАНИЗАЦИЯ КУЧНОГО И ПОДЗЕМНОГО ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕДИ ИЗ РУД (ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ И ЗАРУБЕЖНЫЙ ОПЫТЫ)

Подготовка объекта к кучному выщелачиванию	150
Подготовка объекта к подземному выщелачиванию	155
Технология выщелачивания меди из руд	158
Кучное и подземное выщелачивание урана	180
Микробиологический и химический контроль при выщелачивании	182
Некоторые примеры очистки сточных вод гидрометаллургических установок	186

Глава 9

МЕТОДЫ УЧЕТА И ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР

Подсчет микроорганизмов методом серийных разведений	191
Методы количественного учета основных физиологических групп бактерий	192
Микроскопический подсчет бактерий	200
Выделение чистых культур основных микроорганизмов	202
Рецептура питательных сред	208

Глава 10

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ И ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗЫ ВОД И РУД

Методы физико-химических анализов	222
Определение температуры	225
Определение расхода растворов	226
Химический анализ рудничных вод	227
Отбор проб руды и воды	228

ИСПРАВЛЕНИЯ И ОПЕЧАТКИ

Страница	Строка	Напечатано	Должно быть
73	15 сн.	руд	из руд
85	15 сн.	восстановительных	восстановленных
209	19—20 св.	остальные соли	остальных солей
210	15 сн.	0,02 г	0,2 г
214	3 сн.	КВ ₂	КВг
218	17 св.	на 100 мл	на 1 л

Каравайко и др.

1216

12-27-22

