

ЛЕКЦИЯ 12

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ МЕТАЛЛОВ

- 1. Биогeотeхнология металлов**
- 2. Биосорбция металлов**

БИОГЕОТЕХНОЛОГИЯ МЕТАЛЛОВ (БИОГИДРОМЕТАЛЛУРГИЯ)

Добыча полезных ископаемых лежит в основе существования человеческой цивилизации.

Особое место занимает проблема *экологической безопасности освоения полезных ископаемых*:

- кислые рудничные воды рудников, отвалов и угольных шахт, образование которых связано с бактериально-химическим окислением сульфидных минералов, загрязняют окружающую среду ионами металлов;
- загрязнение водной среды и почв ионами металлов или выбросы токсичных газов в атмосферу вызывают истощение и деградацию естественных экосистем, представляют угрозу здоровью человека.

Микробные процессы и **биогидрометаллургические технологии** направлены на решение не только рациональной и комплексной переработки сложных богатых и забалансовых руд, но и экологических проблем в горнодобывающей промышленности.

БИОГЕОТЕХНОЛОГИЯ МЕТАЛЛОВ (БИОГИДРОМЕТАЛЛУРГИЯ)

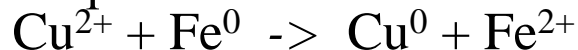
наука об извлечении металлов из руд, концентратов, горных пород и растворов под действием микроорганизмов или их метаболитов при атмосферном давлении и температуре 5-90°C

Выщелачивание — перевод в раствор, обычно водный, одного или нескольких компонентов твёрдого материала.

Наиболее ранние сведения о выщелачивании металлов – записи об античных горных производствах.

160 г. до н.э. – К.Гален – выщелачивание меди в медных рудниках о. Кипр

1497 г. – в Венгрии получали медь из растворов руды методом цементации на железном скрапе, в 1566 г. – осуществили полный цикл выщелачивание с использованием системы орошения



1725 г. – применение принудительного кучного выщелачивания медных руд в Испании

Кучное выщелачивание (heap leaching) — способ переработки химическим или бактериальным выщелачиванием попутно добытых забалансовых и бедных балансовых крупнокусковатых руд, заскладированных в отвалах, извлечение из которых полезных компонентов обычными обогатительными или гидрометаллургическими методами (выщелачивание в пачуках, автоклавах и других аппаратах) нерентабельно.

БИОГЕОТЕХНОЛОГИЯ МЕТАЛЛОВ (БИОГИДРОМЕТАЛЛУРГИЯ)

XVI в. – применение кучного выщелачивания в Германии

XIX в. – кучное выщелачивание в Азербайджане (Кедабек)

20 гг. XX в. – начало кучного выщелачивания руд в США (Аризона, Нью-Мексико)

40-50 гг. XX в. – извлечение меди из растворов, поступающих из колчеданных месторождений, практиковали на Урале:

- в 1949 г. было добыто 5730 т меди из сточных вод;
- в отдельных случаях осуществляли орошение руды либо водой, либо рудничными растворами.

Позже **кучное выщелачивание меди** было начато рядом компаний в юго-западной части США, в Перу, Африке, Австралии, Югославии, Болгарии и других странах. Этот способ в промышленных масштабах применяют для извлечения меди, золота и урана.

В 60-е годы в Канаде начали промышленное подземное выщелачивание урана. Несколько позже выщелачивание урана стали практиковать и в других странах, например в Португалии, США, ЮАР и Франции.

В настоящее время разработкой и освоением биогидрометаллургических технологий занимается более **100 организаций** в 25 странах мира.

ОТКРЫТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В БИОГЕОТЕХНОЛОГИИ

1887 г. – С.Н. Виноградский открыл явление **литотрофии** (способности бактерий к окислению неорганических соединений) и показал, что аэробные бактерии (водородные, нитрифицирующие, тионовые и др.) окисляют H_2 , CO , NH_4^+ , NO_2^- , соединения серы; анаэробные – восстанавливают соединения серы, CO_2 .

Исследования С.Н. Виноградского стимулировали изучение роли микроорганизмов в круговороте серы и других элементов в природе.

1902 г. – М.Бейеринк выделил новый автотрофный микроорганизм *Thiobacillus thioparus*, окисляющий серу и ряд её восстановленных соединений при высоких значениях рН среды

1921-1922 гг. – В.Рудольф и А.Хельброннер показали, что некоторые сероокисляющие микроорганизмы могут окислять пирит и сульфиды цинка

1920-е гг. – С. Ваксман и Дж. Джоффи выделили автотрофный ацидофильный микроорганизм *Thiobacillus thiooxidans* (*Acidithiobacillus thiooxidans*), окисляющий серу и ряд её восстановленных соединений до серной кислоты

1933 г. – Л.Карпентор и Дж.Харндон – гипотеза о возможной роли микроорганизмов в образовании серной кислоты в шахтных водах угольных месторождений

1947 г. – А. Колмер и М. Хинкль выделили чистую культуру бактерий *Thiobacillus thiooxidans* (*Acidithiobacillus thiooxidans*), предоставили доказательства биологического окисления закисного железа при низких значениях рН

Микроорганизмы, используемые в биогидрометаллургии

Микроорганизм	Источник энергии	Оптимальные условия
Грамотрицательные бактерии <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> , <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> , <i>Acidithiobacillus caldus</i> , <i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	сульфидные металлы, S^0 (S^{2-}), Fe^{2+} S^0 (S^{2-}) S^0 (S^{2-}) Fe^{2+} , FeS_2	pH 1,7-2,0, 30-35° C, O_2 pH 2,0-2,5, 45° C, O_2 pH 2,0-2,5, 30° C, O_2 pH 2,0-2,5, 30-45° C, O_2
Грамположительные бактерии <i>Sulfolobus thermosulfidoxidans</i> , <i>Sulfolobus acidophilus</i>	Fe^{2+} , S^0 (S^{2-}), сульфидные минералы в присутствии органических веществ или без них в сообществе с хемолитотрофными бактериями	pH 1,7-2,4, 48-50° C, O_2
Археи <i>Acidianus brierleyi</i> <i>Metallosphaera sedula</i> <i>Ferroplasma acidiphilum</i> , <i>Sulfolobus metallicum</i>	Fe^{2+} , S^0 (S^{2-}), сульфидные минералы в присутствии дрожжевого катализатора Fe^{2+} , FeS_2 Fe^{2+} , S^0 (S^{2-}), сульфидные минералы	pH 1,5-2,0, 70° C, O_2 pH 1,0-4,5, 75° C, O_2 pH 1,7-1,8, 35° C, O_2 pH 1,0-4,5, 50-75° C, O_2

Микроорганизмы, используемые в биогидрометаллургии

В практике добычи металлов особое внимание уделяется бактериям *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *A. thiooxidans*, *A. caldus* и *Leptospirillum ferrooxidans*, которые окисляют Fe^{2+} , S^{2-} , S° и сульфидные минералы.

В рудах и концентратах присутствуют умеренно- и облигатно-термофильные микроорганизмы *Acidianus brierleyi*, *Metallosphaera sedula*, *Sulfolobus metallicum*, которые существуют в области температур от 20 до 80 °С.

Представляют интерес ацидофильные гетеротрофные бактерии *Acidiphilium cryptum*, *Ac. angustum*, *Ac. rubrum* и *Ac. facilis*, которые способствуют выщелачиванию металлов хемолитотрофными бактериями.

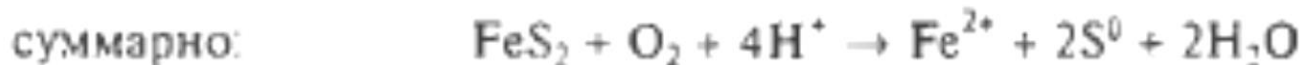
Физико-химические основы выщелачивания металлов из руд

Основными физико-химическими факторами при кучном, подземном и чановом выщелачивании меди, цинка, никеля, урана являются pH, Eh, температура, наличие кислорода, ионов сернокислого оксидного железа (Fe^{3+}) и т.д.

Данные факторы в определенной степени определяются типом руды, степенью ее окисления и проницаемостью, а следовательно, и характером складирования, габаритами отвалов, способом подготовки руды или рудного тела к выщелачиванию на месте залегания и т.д.

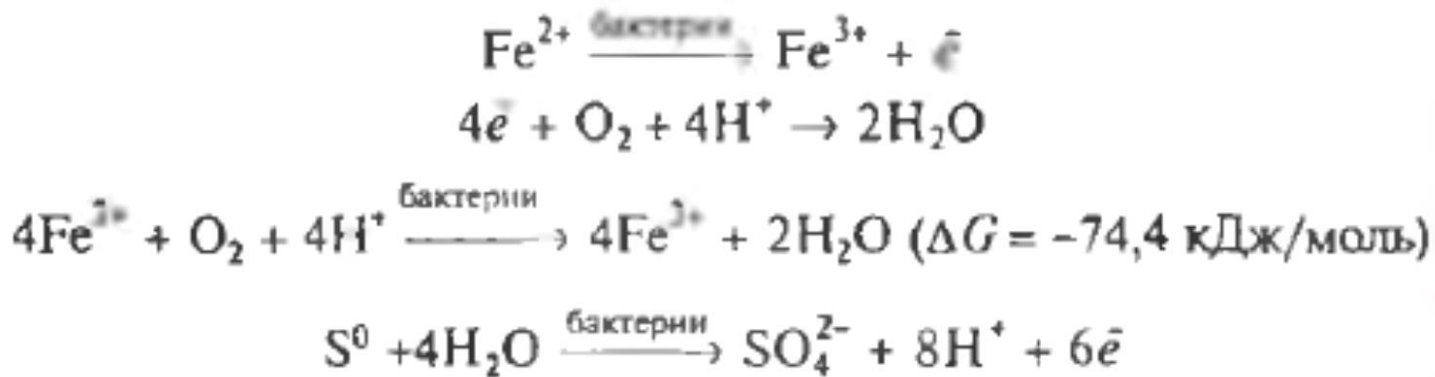
От совокупности благоприятных факторов (pH 1,2 — 2,0; Eh 700 мВ, и др.) зависит активность сообщества бактерий, окисляющих сернокислое закисное железо (Fe^{2+}), серу (S^0 , S^{+}) и сульфидные минералы.

Пример: Химические реакции, которые происходят в процессе бактериального окисления пирита:



Физико-химические основы выщелачивания металлов из руд

Бактерии воздействуют на минерал, будучи в контакте с ним и экзометаболитами, создавая его электродный потенциал, заряд, и тем самым ускоряя биоэлектрохимическое окисление минерала. Пирит в этой паре занимает позицию катода, а халькопирит — анода, имея более низкий окислительно-восстановительный потенциал. Образующиеся продукты этой реакции (Fe^{2+} , S^0 и др.) окисляются бактериями до конечных продуктов:



Механизм бактериального окисления Fe^{2+} S^{2-}/S^0 и сульфидных минералов

Стадии бактериального окисления субстратов:

- 1) Взаимодействие поверхностных структур бактерий с окисляемым субстратом (сорбция, адгезия)
- 2) Изменение физико-химических свойств окисляемых субстратов, их транспорт в клетку
- 3) Окисление субстратов в поверхностных структурах клеток
- 4) Транспорт электронов и протонов, создание мембранного потенциала
- 5) Синтез АТФ и образование воды на внутренней поверхности ЦПМ

Бактерии, благодаря сорбции клеток и действию экзометаболитов на минералы, изменяют их электродный потенциал, заряд, повышают электропроводность среды, создают высокий окислительно-восстановительный потенциал среды, создают разность потенциалов.

Бактерии, будучи в контакте с субстратом, изменяют его физико-химические свойства. Например, элементарная сера растворяется в веществах липидной природы до коллоидного состояния и поступает в периплазматическое пространство, где окисляется. Ведущую роль в процессах взаимодействия играет не строение клеточной стенки, а её биохимические особенности.

Железоокисляющая система *Acidithiobacillus ferrooxidans*

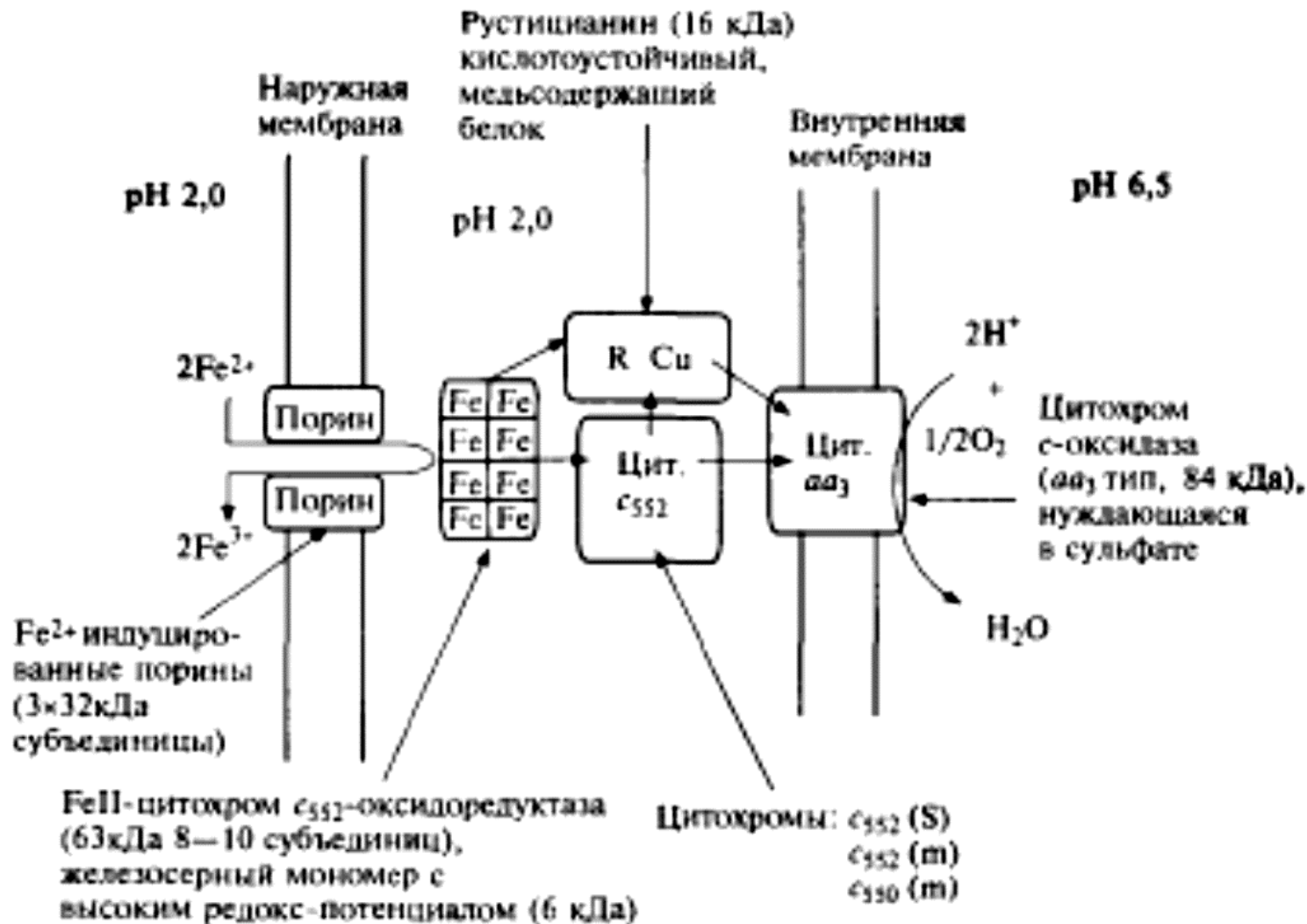
Окисление Fe^{2+} бактериями *Acidithiobacillus ferrooxidans* связано с его транспортом в периплазматическое пространство клетки, вероятнее всего, в комплексе с липополисахаридами, и функционированием электронтранспортной системы.

1. Порин наружной мембраны (92 кДа)
2. Fe^{2+} - оксидаза, связанная с цитохромом c_{552} , расположенным в периплазматическом пространстве (6 кДа)
3. Малый медьсодержащий белок (16 кДа) – рустицианин
4. Терминальная цитохром с-оксидаза (aa₃-тип, 84 кДа)

У лептоспирилл отсутствует рустицианин, но есть растворимый красный цитохром.

Сведения об электронтранспортной системе *Leptospirillum ferrooxidans* немногочисленны.

Железоокисляющая система *Acidithiobacillus ferrooxidans*



Окисление серы и сульфидных металлов

У *Acidithiobacillus ferrooxidans* открыты ферменты серо-(сульфид)- Fe^{3+} -оксидоредуктаза ($\text{S}^0 + 4\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_3 + 4\text{Fe}^{2+} + 4\text{H}^+$) и сульфит- Fe^{2+} -оксидоредуктаза ($\text{H}_2\text{SO}_3 + 2\text{Fe}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4 + 2\text{Fe}^{2+} + 2\text{H}^+$).

При выращивании на среде, содержащей серу, у данных микроорганизмов обнаружена сульфит-цитохром *c*-оксидоредуктаза. У *Acidithiobacillus thiooxidans*, окисляющего только соединения серы, найдена мембрансвязанная сульфитоксидаза (400 кДа), сходная с сульфит- Fe^{3+} -оксидоредуктазой *Acidithiobacillus ferrooxidans* (650 кДа). Цитохромы *b* и *aa3* являются частью сероокисляющей системы *Acidithiobacillus ferrooxidans*, в окислении серы данной бактерией принимают участие терминальные оксидазы (ингибирование процесса CN^-).

У *Leptospirillum ferrooxidans* и грамположительных умеренно термофильных бактерий обнаружена серо-(сульфид)- Fe^{3+} -оксидоредуктаза. Однако активность данного фермента низкая, а Fe^{2+} -окисляющая активность намного чувствительнее к ингибированию сульфитом, чем у *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Клетки *Acidithiobacillus ferrooxidans* при росте на сере содержали S^0 -диоксигеназу, тиосульфатдегидрогеназу, роданазу, аденозин-5'-фосфосульфат (АФС)-редуктазу и сульфитоксигеназу. У сульфобацилл при росте на сере обнаружены аналогичные ферменты.

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ

Размеры частиц и плотность пульпы.

Размеры частиц руды определяют площадь их поверхности, от которой зависит адгезия бактерий и скорость окислительных процессов. Наибольшая скорость окисления сульфидов в пульпе *Acidithiobacillus ferrooxidans* при чановом выщелачивании наблюдается при размерах частиц 2-3 до 40 мкм, однако в промышленных условиях обычно используются частицы флотационного концентрата размером 74 мкм. Изменение размера частиц от 150 до 29,5 мкм ускоряло окисление FeS_2 *Sulfolobus metallicum* от 0,05 до 0,098 кг \times м⁻³ \times ч⁻¹. Частицы менее 0,2 мкм повреждали структуру клетки, и сульфид не окислялся.

Микроорганизмы как биосорбенты металлов

Микроорганизм	Процесс осаждения металлов
Микроскопические грибы, дрожжи, бактерии, водоросли	Биосорбция: радиоактивные U, Ra, и другие элементы - Al, Mo, Ag, Cu, Cd, Cr, Mn, Co, Ni, Zn, Hg, Pb, Au, Pt, Pd
Хитин и хитозан	Сорбция Zr, Hf, Ru из воды, циркулирующей в системе охлаждения ядерного реактора
Сульфатвосстанавливающие бактерии	Осаждение металлов из растворов: $C_{org} + SO_4^{2-} \rightarrow S^{2-} + CO_2$ $S^{2-} + Me \rightarrow MeS$
Хромвосстанавливающие бактерии	Восстановление металлов $Cr^{6+} \rightarrow Cr^{3+}$

Многие микроорганизмы способны либо сорбировать металлы, либо их осаждать.

Метод осаждения металлов сульфатредуцирующими бактериями заключается в образовании ими H_2S , который осаждает металлы из растворов практически полностью (из растворов, содержащих 8,6 г/л Cu, извлечение металла составляет 98,5%). В промышленном масштабе данный процесс испытан с положительным эффектом на одном из рудников бывшего СССР.

Микроорганизмы как биосорбенты металлов

Метод биосорбции металлов из растворов известен давно.

С помощью микроорганизмов извлекается из разбавленных растворов до 100% Pb, Hg, Zn, Cu, Ni, Co, Mn, Cr, U.

Микроскопические грибы позволяют извлечь из растворов аффинажа золота и серебра до 96-98% Au и Ag, до 84% Pt и 92% Pd. С помощью бактерий (смешанная культура) из стоков в анаэробных условиях было удалено 81% U и 93% Se.

Для биосорбции металлов из растворов также эффективны водоросли, а для очистки растворов от радиоактивных элементов Cu и Cd – бактериальные полисахариды.

При сорбции металлов из растворов они накапливаются в биомассе (Ag – 30%, U – 15% от сухой биомассы).

Механизм сорбции металлов связан с клеточной стенкой (для микроскопических грибов особую роль играют хитин и хитозан).

Процесс адсорбции металла на поверхности микроорганизмов включает связывание его с клеточной стенкой, цитоплазматической мембраной, а также веществами капсул и внеклеточных веществ. Взаимодействие связано, главным образом, с отрицательным зарядом этих поверхностных структур. Участками связывания металла в клеточной стенке могут быть молекулы белков (ртуть у дрожжей), карбоксильные группы пептидогликанов (двухвалентные катионы у бацилл), фосфатные группы (уран у дрожжей). Аналогичные группы взаимодействуют с металлами и в составе цитоплазматической мембраны.

Микроорганизмы как биосорбенты металлов

Распределение аккумулированных тяжелых металлов зависит от вида микроорганизма и самого металла.

Ртуть, кадмий, серебро, уран сорбируются в основном бактериями и грибами на поверхности клеток, лишь частично проникая внутрь.

Ионы меди, цинка, никеля, кобальта, марганца чаще транспортируются в клетку.

Водоросли накапливают кадмий, уран и свинец в основном внутри клеток.

Ртуть аккумулируется как на поверхности, так и внутри клеток.

Свинец, в виде фосфата адсорбируется у *Citrobacter* sp. на поверхности клеток.

Процесс аккумуляции тяжелых металлов во времени может протекать по-разному. В одних случаях его скорость составляет секунды с момента контакта клеток с тяжелым металлом, в других протекает до нескольких часов. Время связывания зависит, главным образом, от механизма этого процесса. Быстрая аккумуляция характерна для адсорбционных процессов, длительная - зависит от активного транспорта внутрь клеток.

Установлено, что клетки разных микроорганизмов могут аккумулировать тяжелые металлы в количествах превышающих их потребности в клетках как компонентах питательной среды. Накапливаются и металлы, которые не используются в метаболизме.