_____ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ____ СТАТЬИ

БИООКИСЛЕНИЕ ПИРРОТИНА УМЕРЕННО-ТЕРМОФИЛЬНЫМИ АЦИДОФИЛЬНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

© 2020 г. А. Г. Булаев*

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, 119071 Россия
*e-mail: bulaev.inmi@yandex.ru
Поступила в редакцию 06.04.2020 г.
После доработки 02.05.2020 г.
Принята к публикации 29.05.2020 г.

Целью данной работы было исследовать окисление сульфилного минерала пирротина представителями доминирующих в биогидрометаллургических процессах групп микроорганизмов (миксотрофным железо- и сероокисляющим бактериальным штаммом Sulfobacillus thermosulfidooxidans BKMB1269^T, автотрофным сероокисляющим бактериальным штаммом Acidithiobacillus caldus MBC-1 и гетеротрофным железо- и сероокисляющим штаммом архей Acidiplasma sp. MBA-1), чтобы оценить влияние роль микроорганизмов с разными физиологическими свойствами в выщелачивании данного минерала. Было показано, что наиболее активно пирротин вышелачивался сероокисляющим штаммом Acidithiobacillus caldus MBC-1, а также смешанными культурами, в которых присутствовал данный штамм: S. thermosulfidooxidans BKMB1269 $^{\rm T}$ + A. caldus MBC-1 и Acidiplasma sp. MBA-1 + A. caldus MBC-1. В экспериментах с данными культурами за 30 сут эксперимента было выщелочено 70, 43 и 60% пирротина, соответственно. В экспериментах с чистыми культурами S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T. Acidiplasma sp. MBA-1 и смешанной культурой S, thermosulfidooxidans BKMB1269^T + Acidiplasma sp. МВА-1 степень выщелачивания пирротина была значительно ниже: 29, 37 и 30%, соответственно. Эксперимент по биоокислению серы чистыми культурами исследуемых микроорганизмов показал, что штамм A. caldus MBC-1 являлся наиболее активным окислителем серы. Таким образом, было показано, что наиболее важная роль в биовышелачивании пирротина принадлежит сероокисляющим микроорганизмам и зависит от активности биоокисления серы. Активное биоокисление ионов Fe²⁺ железоокисляющими микроорганизмами не позволяло добиться более активного окисления пирротина, а напротив, приводило к ингибированию выщелачивания пирротина. Таким образом, активное биоокисление серы, которая образуется в ходе выщелачивания пирротина, являлось фактором, определяющим скорость выщелачивания данного сульфидного минерала.

Ключевые слова: биогидрометаллургия, пирротин, ацидофильные микроорганизмы, биоокисление серы и железа. *Sulfobacillus. Acidiplasma*. *Acidithiobacillus*

DOI: 10.31857/S0026365620050055

Механизмы биоокисления различных сульфидных минералов ацидофильными железо- и сероокисляющими микроорганизмами активно изучаются на протяжении последних десятилетий, так как процессы биоокисления сульфидных минералов являются основой для биогидрометаллургических технологий (Johnson, 2014; Mahmoud et al., 2017). Было показано, что различия в структуре сульфидных минералов приводят к различиям в механизмах их биоокисления. Пирит (самый распространенный сульфидный минерал). молибденит, тунгстенит подвергаются выщелачиванию посредством тиосульфатного механизма, где тиосульфат является главным интермедиатом, окисляющимся до сульфата, а сера – побочным продуктом (Schippers et al., 1996; Sand et al., 2001). Большая часть сульфидных минералов, в т.ч. пирротин, галенит, сфалерит, халькопирит выщелачиваются посредством полисульфидного механизма с образованием полисульфида в качестве основного промежуточного продукта. Образующиеся полисульфиды при низких рН окисляются до элементной серы, которая далее может подвергаться биоокислению микроорганизмами, а также накапливаться на поверхности окисляемого минерала (Sand et al., 2001; Belzile et al., 2004).

Необходимо отметить, что биогидрометаллургические процессы в промышленности всегда осуществляются микробными сообществами, которые формируются при проведении длительных процессов биовыщелачивания под воздействием различных факторов, включая температуру, рН, состав окисляемого минерального сырья, соленость (Кондратьева и др., 2015; Mahmoud et al., 2017). Температура оказывает значительное влия-

ние на состав микробных сообществ в реакторах биовыщелачивания. Биовыщелачивание сульфидных минералов, которые содержатся в рудах, сопровождается выделением тепла, поэтому биогидрометаллургические процессы в промышленном масштабе обычно осуществляются при повышенной температуре из-за разогрева реакторов. На данный момент промышленные процессы реакторного биовыщелачивания осуществляются, главным образом, при температурах 40–45°C, которые приходится поддерживать с помощью систем охлаждения (van Aswegen et al., 2007; Mahmoud et al., 2017). Поэтому в микробных сообществах, которые формируются при проведении процессов биовыщелачивания в промышленных масштабах, а также в лабораторных испытаниях, которые проводятся в условиях, соответствующих условиям в промышленных установок, доминируют термотолерантные и умеренно-термофильные микроорганизмы. Состав микробных сообществ, которые сформировались в различных условиях в реакторах биоокисления, представлен в табл. 1. Показано, что в таких процессах зачастую доминируют штаммы бактерий р. Leptospirillum, умеренно-термофильные бактерии р. Sulfobacillus и штаммы умеренно-термофильной бактерии Acidithiobacillus caldus, а также археи сем. Ferroplasmaceae (pp. Acidiplasma и Ferroplasma) (табл. 1).

Несмотря на достаточно большой объем информации, который накоплен при изучении различных закономерностей, влияющих на эффективность биогидрометаллургических процессов, на данный момент являются актуальными исследования, которые могут позволить разработать подходы для оптимизации существующих технологий переработки минерального сырья. Например, важным направлением таких исследований может являться изучение вклада отдельных групп микроорганизмов, доминирующих популяциях, осуществляющих процессы биовыщелачивания, в окисление разных сульфидных минералов. Данный аспект до сих пор является малоизученным, при этом его детальное изучение может позволить оптимизировать условия проведения процессов биовыщелачивания в соответствии с особенностями окисления разных минералов.

В работе (Булаев, 2020) было исследовано окисление пирита (FeS₂) представителями доминирующих в биогидрометаллургических процессах групп микроорганизмов: штаммами бактерий Sulfobacillus thermosulfidooxidans, Acidithiobacillus caldus и архей р. Acidiplasma. Было показано, что наибольшую роль в процессе окисления пирита играл штамм миксотрофной железо- и сероокисляющей бактерии Sulfobacillus thermosulfidooxidans, но его активность в значительной степени зависела от доступности органического источника углерода в среде, который мог быть представлен или дрожжевым экстрактом, или экзометабо-

литами автотрофной сероокисляющей бактерии *Acidithiobacillus caldus*. При этом сероокисляющий автотроф в чистой культуре не был способен окислять пирит, но благодаря межвидовым взаимодействиям повышал активность миксотрофных железоокислителей.

Пирит является самым распространенным сульфидным минералом, который практически всегда встречается в упорных золотосодержащих концентратах (van Aswegen et al., 2007). Помимо пирита, в сульфидных концентратах содержатся и другие сульфидные минералы железа, например пирротин ($Fe_{1-x}S$, где значение х варьирует от 0 до 0.125) (Belzile et al., 2004). Пирротин является компонентом некоторых упорных золотосодержащих концентратов (Belyi et al., 2018), а также никелевых руд и концентратов (Ke, Li, 2006; Riekkola-Vanhanen, 2007; Peek et al., 2011; Mudd, Jowitt, 2014; Garg et al., 2017; Rezaei et al., 2017), которые могут подвергаться биовыщелачиванию. Таким образом, исследование процесса биовыщелачивания пирротина является важным с точки зрения оптимизации процессов окисления таких типов минерального сырья. Так как механизм биовыщелачивания пирротина отличается от механизма биовыщелачивания пирита (Sand et al., 2001; Belzile et al., 2004), процессы переработки минерального сырья, содержащего пирротин, имеют свои особенности. При химическом и биологическом окислении руд и концентратов, содержащих значительные количества пирротина, в продуктах биовыщелачивания может происходить накопление элементной серы, которая является одним из интермедиатов его окисления (Bhatti et al., 1993; Janzen et al., 2000; Santos et al., 2006; van Aswegen et al., 2007; Кондратьева и др., 2013; Schumann et al., 2015; Wieszczycка, 2018). Накопление элементной серы в остатках биоокисления золотосодержащих концентратов приводит к технологическим проблемам при извлечении из них золота цианированием, так как цианид реагирует с элементной серой с образованием роданида (van Aswegen et al., 2007; Кондратьева и др., 2013). Кроме того, образующаяся на поверхности минеральных частиц элементная сера может пассивировать их и замедлять дальнейшее выщелачивание (Ni et al., 2014; Gu et al., 2015). Поэтому, несмотря на то, что пирротин подвергается биоокислению достаточно легко по сравнению с пиритом из-за особенностей механизма его выщелачивания, переработка сырья с высоким содержанием пирротина с помощью выщелачивания может представлять собой определенную проблему (Кондратьева и др., 2015). Поэтому важной задачей является исследование особенностей процесса биовыщелачивания пирротина, в частности, выявление групп микроорганизмов, которые играют наиболее важную роль в его окислении.

Целью данной работы было исследовать окисление пирротина представителями доминирую-

Таблица 1. Состав микробных популяций, которые сформировались в технологических процессах биоокисления различного минерального сырья

Источник выделения	T, °C	Видовой состав сообщества	Reference	
Реакторы биоокисления концентратов,	40	Acidithiobacilluss caldus,	Rawlings et al., 1999a;	
содержащих пирит и арсенопирит		Leptospirillum ferriphilum	Coram, Rawlings, 2000	
Реакторы биоокисления концентрата,	45	A. caldus, L. ferriphilum,	Okibe et al., 2003	
содержащего пирротин, халькопирит, сфалерит		Sulfobacillus sp., Ferroplasma sp.		
Реакторы биоокисления концентрата, содержащего пирит, арсенопирит,	45	A. caldus, Sulfobacillus thermosulfidooxidans,	Dopson, Lindstrom, 2004	
халькопирит		"Sulfobacillus montserratensis"		
Реакторы биоокисления пиритного	42	A. caldus, L. ferriphilum,	Morin, d'Hugues, 2007	
концентрата		F. acidiphilum, S. benefaciens		
Реакторы биоокисления	42	A. caldus, L. ferriphilum,	Spolaore et al., 2009	
халькопиритного концентрата		S. thermosulfidooxidans, S. benefaciens		
Реакторы биоокисления	42	A. caldus, L. ferriphilum,	Spolaore et al., 2010	
халькопиритного концентрата		S. thermosulfidooxidans,		
Реакторы биоокисления	45	A. caldus, L. ferriphilum,	Wang et al., 2012	
халькопиритного концентрата		Sulfobacillus sp. TPY, F. thermophilum		
Реакторы биоокисления концентрата,	40-50	A. caldus, L. ferriphilum,	van Hille, 2013	
содержащего пирит и арсенопирит		Sulfobacillus sp., Ferroplasma sp., Acidiplasma sp.		
Реакторы биоокисления концентрата, содержащего пирит, пирротин и арсенопирротин	35	A. caldus, A. ferrooxidans, L. ferriphilum, S. thermosulfidooxidans, F. acidiphilum	Кондратьева и др., 2013	
Реакторы биоокисления концентрата, содержащего пирит и арсенопирит	45	A. caldus, Sulfobacillus sp., Acidiplasma sp.	Muravyov, Bulaev, 2013	
Реакторы биоокисления халькопиритного концентрата	45	A. caldus, S. acidophilus, F. thermophilum,	Wang et al., 2014	
Реакторы биоокисления халькопиритного концентрата	42	A. caldus, L. ferriphilum, S. thermosulfidooxidans, S. benefaciens	Hedrich et al., 2016	
Реакторы биоокисления концентрата, содержащего пирит, пирротин и арсенопирротин	39–42	A. thiooxidans, Acidiphilium multivorum, Acidiferrobacter thiooxidans, L. ferriphilum, F. acidiphilum	Bulaev et al., 2017	
Реакторы биоокисления концентрата, содержащего пирит, халькопирит, теннантит, сфалерит	40	A. caldus, S. benefaciens, F. acidiphilum, Cuniculiplasma divulgatum	Bulaev et al., 2020	

щих в биогидрометаллургических процессах групп микроорганизмов (бактерий р. *Sulfobacillus*, *A. caldus*, и архей р. *Acidiplasma*), чтобы оценить влияние физиологических свойств микроорганизмов на окисление данного минерала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были штаммы Acidithiobacillus caldus MBC-1, Sulfobacillus thermosulfidooxidans BKMB1269^T и Acidiplasma sp. MBA-1, выделенные ранее из образцов руд и пульпы реакторов биоокисления (Головачева, Каравайко, 1978;

Muravyov, Bulaev, 2014). Свойства штаммов представлены в табл. 2.

В работе использовали сульфидный минерал пирротин (FeS), измельченный до крупности не более 75 мкм. Образец минерала (месторождение Таежное, республика Саха, Россия) был предоставлен Геологическим музеем ГУП "Сахагеоинформ" Госкомгеологии Республики Саха (Якутия) (Россия).

Для проведения экспериментов была использована жидкая питательная среда, содержащая минеральные соли (г/л): $(NH_4)_2SO_4 - 3.0$, KCl -0.2, MgSO $_4 \cdot 7H_2O - 0.5$, K $_2HPO_4 - 0.5$, дистилли-

Штамм	Донор электронов	Углеродное питание	Температура, °С (оптимум/верхний предел)	Ссылка
Acidithiobacillus caldus MBC-1	S^0	Автотроф	45/53	Muravyov, Bulaev, 2013
Sulfobacillus thermosulfidooxidans BKMB 1269 ^T	Fe^{2+} , S^0	Миксотроф	45-48/60	Головачева, Каравайко, 1978
Acidinlasma sp. MRA-1	E ₂ 2+ C ₀	Гетеротроф	50-55/63	Murayyoy Bulaey 2013

Таблица 2. Физиологические свойства штаммов, использованных при проведении экспериментов по биоокислению пирротина

рованная вода — 1.0 л. Начальный рН 1.5 устанавливали, добавляя в среду 1.5 мл/л концентрированной серной кислоты. В среду добавляли 0.02% (м./об.) дрожжевого экстракта (ДЭ). Микроорганизмы культивировали в колбах объемом 250 мл с 100 мл питательной среды и 2 г пирротина на ротационной качалке (200 об./мин) в течение 30 сут. Эксперименты проводили при температуре 45°С, при которой активны все исследуемые штаммы. Для определения активности биоокисления элементной серы чистыми культурами микроорганизмов эксперименты проводили в тех же условиях, но вместо пирротина на 100 мл среды вносили 2 г элементной серы.

В экспериментах использовали следующие сочетания штаммов микроорганизмов: (1) чистая культура S. thermosulfidooxidans BKMB 1269^T; (2) чистая культура A.cidiplasma sp. MBA-1; (3) чистая культура A. caldus MBC-1; (4) смешанная культура S. thermosulfidooxidans BKMB 1269^T и A.caldus MBC-1; (5) смешанная культура A.cidiplasma sp. MBA-1 и A.caldus MBC-1; (6) смешанная культура S. thermosulfidooxidans BKMB 1269^T и A.cidiplasma sp. MBA-1. Микроорганизмы во всех экспериментах инокулировали таким образом, чтобы начальная численность клеток каждого штамма составляла примерно 1×10^7 кл/мл.

Для анализа активности процесса биовыщелачивания отбирали пробы жидкой фазы культуры каждые 5 сут в течение 30 сут эксперимента. В отобранных пробах измеряли рН и окислительно-восстановительный потенциал (Eh) с помощью pH метра рН-150МИ ("Измерительная техника". Россия). а также концентрацию ионов двух- и трехвалентного железа с помощью спектрофотометрического анализа с роданидом калия (Резников и др., 1970). Степень выщелачивания пирротина оценивали по концентрации ионов железа в среде, рассчитывая долю железа, содержавшегося в пирротине, которая перешла в жидкую фазу в процессе биовыщелачивания. В эксперименте по биоокислению элементной серы определяли концентрацию сульфат-ионов в среде с помощью турбидимитрического метода (Kolmert et al., 2000).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты, полученные в экспериментах по биоокислению пирротина, суммированы на рис. 1 и 2. На рис. 1 представлены графики изменений параметров жидкой фазы, отражающие процессы биоокисления пирротина чистыми культурами микроорганизмов, а также смешанными культурами $S.\ thermosulfidooxidans\ BKMB1269^T + A.\ caldus\ MBC-1, Acidiplasma\ sp.\ MBA-1 + A.\ caldus\ MBC-1$ и $S.\ thermosulfidooxidans\ BKMB1269^T + Acidiplasma\ sp.\ MBA-1.$

Изменения рН представлены на рис. 1а. Во всех вариантах эксперимента сначала возрастал до 2.83-2.85 вероятно из-за растворения пирротина в кислой среде. Затем значения рН снижались из-за окисления пирротина микроорганизмами (рис. 1a, кривые 2-7). Наиболее быстро рН снижался в вариантах со штаммом A. caldus: с чистой культурой A. caldus MBC-1 (рис. 1a, кривая 4), а также со смешанными культурами S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T + A. caldus MBC-1 и Acidiplasma sp. MBA-1 + A. caldus MBC-1 (рис. 1a, кривые 5 и 6, соответственно). В данных вариантах рН снижался к концу эксперимента до 0.99, 1.04 и 1.11, соответственно. В вариантах с чистой культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269 $^{\mathrm{T}}$ (рис. 1a, кривая 2) и S. thermosulfidooxidans BKMB1269 T + Acidiplasma sp. MBA-1 (puc. 1a, кривая 7) значения рН различались мало и составляли к концу эксперимента 1.53 и 1.56 соответственно. Наиболее высоким рН был в конце эксперимента был в варианте с чистой культурой Acidiplasma sp. MBA-1 (рис. 1a, кривая 3).

Ећ среды во всех вариантах эксперимента сначала снижался до 420-428 мВ, а потом начинал повышаться (рис. 16). При этом значения Ећ колебались во всех вариантах эксперимента, так как определяются, главным образом, соотношением концентрации ионов Fe^{3+} и Fe^{2+} , которые изменялись в процессе биовыщелачивания из-за биоокисления двухвалентного железа и растворения пирротина (рис. 1b-1д). В вариантах эксперимента с чистой культурой *S. thermosulfidooxidans* ВКМВ 1269^{T} и смешанной культурой *Acidiplasma* sp.

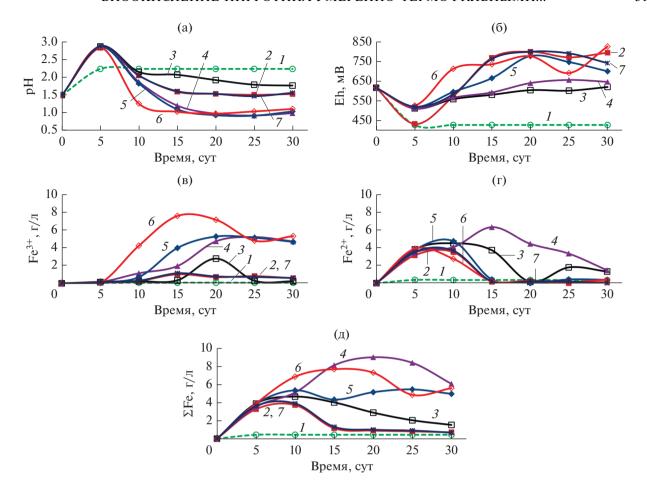


Рис. 1. Изменения параметров среды в процессе биовыщелачивания пирротина: a-pH среды; b-Eh с

МВА-1 + A. caldus MBC-1 значения рН были наиболее высокими к концу эксперимента и составили 800 и 829 мВ (рис. 16, кривые 2 и 6). В вариантах со смешанными культурами S. thermosulfidooxidans BKMB $1269^{\rm T} + A$. caldus MBC-1 и S. thermosulfidooxidans BKMB $1269^{\rm T} + A$ cidiplasma sp. MBA-1 значения Eh среды были ниже и концу эксперимента составили 703 и 744 мВ (рис. 16, кривые 5 и 7 соответственно). В вариантах биоокисления пирротина с чистыми культурами Acidiplasma sp. MBA-1 и A. caldus MBC-1 значения Eh были ниже, чем в других вариантах эксперимента и составили в конце эксперимента 623 и 650 мВ (рис. 16, кривые 3 и 4 соответственно).

На рис. 1в—1д представлены кривые, которые отражают изменения концентраций ионов железа Fe³⁺ и Fe²⁺ в среде в процессе биовыщелачивания пирротина. Во всех вариантах в начале эксперимента (5 сут) происходило накопление ионов же-

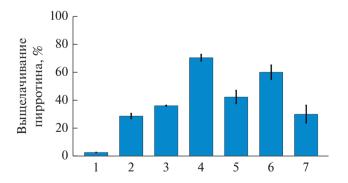


Рис. 2. Степень вышелачивания пирротина микроорганизмами (%): 1- стерильный контроль; 2- чистая культура S. thermosulfidooxidans BKMB 1269^{T} ; 3- чистая культура A.cidiplasma sp. MBA-1, 4- чистая культура A. caldus MBC-1, 5- смешанная культура S. thermosulfidooxidans BKMB $1269^{\mathrm{T}}+A$. caldus MBC-1; 6- смешанная культура A.cidiplasma sp. MBA-1 A.caldus MBC-1; A.caldu

леза в среде, однако затем в некоторых вариантах концентрации ионов железа могли снижаться.

В эксперименте с чистой культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T (рис. 1в-1д, кривая 2) суммарная концентрация ионов железа (рис. 1д, кривая 2) до 10 сут постепенно росла, но железо было представлено в основном ионами Fe^{2+} (рис. 1г. кривая 2). На 10 сут эксперимента концентрации ионов Fe^{3+} и Fe^{2+} составляли 0.28 и 3.43 г/л, соответственно (рис. 1в и 1г, кривая 2). После 10 сут эксперимента концентрация ионов Fe²⁺ снижалась, вероятно за счет биоокисления, и составляла после 15 сут 0.15-0.20 г/л (рис. 1г, кривая 2). Концентрация ионов Fe³⁺ при этом значительно увеличилась на 15 сут и составила 1.0 г/л, а потом начала снижаться и к концу эксперимента составила 0.57 г/л (рис. 1г, кривая 3). Таким образом, общая концентрация ионов железа в эксперименте достигала максимума на 10 сут (3.72 г/л), а после 10 сут накопления ионов железа в среде не происходило, а их концентрация постепенно снижалась (на 30 сут составляя 0.70 г/л) (рис. 1д, кривая *2*).

В эксперименте с чистой культурой Acidiplasma sp. MBA-1 (рис. 1B-1д, кривая 3) суммарная концентрация ионов железа (рис. 1д, кривая 3) также росла до 10 сут. При этом аналогично эксперименту с S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T до 10 сут железо было представлено в основном ионами Fe²⁺ (рис. 1 Γ , кривая 3), концентрация которых на $10 \, \text{сут}$ составила 4.4 г/л. Далее концентрация ионов Fe²⁺ постепенно снижалась и на 20 сут достигала минимума — $0.15 \, \text{г/л}$ (рис. 1г, кривая 3). Концентрация ионов Fe³⁺ постепенно увеличивалась и на 20 сут достигала максимума — 2.7 г/л, а потом начала снижаться и к концу эксперимента составила 0.57 г/л (рис. 1г, кривая 3). Такое изменение концентрации ионов железа показывает, что с 10 по 20 сутки в данном варианте эксперимента происходило активное биоокисление железа. После 20 сут концентрация ионов Fe³⁺ снижалась и достигала 0.23 г/л на 30 сут биовыщелачивания, тогда как концентрация ионов Fe²⁺ после 20 сут увеличилась и на 30 сут составила 1.30 г/л (рис. 1г, кривая 3). Таким образом, общая концентрация ионов железа в данном варианте эксперимента достигала максимума также на 10 сут (4.65 г/л), а после 10 сут суммарная концентрация ионов железа постепенно снижалась, но не становилась настолько же низкой как в эксперименте с чистой культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269 T , coставляя на 30 сут биовыщелачивания 1.52 г/л (рис. 1д, кривая *3*).

В эксперименте с чистой культурой сероокисляющего штамма A. caldus MBC-1 (рис. 1в—1д, кривая 4) суммарная концентрация ионов железа (рис. 1д, кривая 4) также возрастала до 20 сут. В

отличие от экспериментов с железоокисляющими штаммами S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T и Acidiplasma sp. MBA-1, на протяжении всего эксперимента с чистой культурой A. caldus MBC-1 концентрация ионов Fe²⁺ была лостаточно высокой (рис. 1г, кривая 4), снижаясь до минимума на $30 \, \text{сут} \, (1.57 \, \text{г/л})$. Стоит отметить, что в данном варианте эксперимента суммарная концентрация ионов железа была максимальной (9 г/л на 20 сут), а после 20 сут снижалась до 6.10 г/л на $30 \, \text{сут}$ (рис. 1д, кривая 4). Нужно отметить, что концентрация ионов Fe³⁺ в эксперименте со штаммом A. caldus MBC-1 постепенно возрастала, хотя данный штамм не обладает железоокисляющей активностью (табл. 2). Вероятно, постепенное накопление Fe³⁺ в данном варианте обусловлены абиотиотическим окислением двухвалентного железа кислородом при длительной инкубации при 45°C. Это может подтверждаться тем фактом, что скорость снижения концентрации ионов Fe²⁺ в данном варианте эксперимента. которая была обусловлена окислением до Fe³⁺, была намного ниже, чем в вариантах эксперимента с железоокисляющими штаммами (рис. 1г).

В экспериментах со смешанными культурами, включающими штамм A. caldus MBC-1 (рис. 1в-1д, кривые 5 и 6), концентрации ионов железа были выше, чем в экспериментах с чистыми культурами S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T и Acidiplasma sp. MBA-1 (рис. 1в-1д, кривые 2 и 3).

В варианте эксперимента со смешанной культурой *S. thermosulfidooxidans* BKMB1269^T + *A. caldus* MBC-1 концентрация ионов Fe^{2+} достигала максимума на 10 сут (4.65 г/л), а затем снижалась и изменялась в диапазоне 0.1-0.4 г/л (рис. 1г, кривая *5*). Концентрация ионов Fe^{3+} постепенно возрастала, и на 20-25 сут была максимальной (5.10 г/л) (рис. 1в, кривая *5*). Суммарная концентрация ионов железа была максимальной на 25 сут (5.44 г/л) (рис. 1д кривая *5*). На 30 сут ионов Fe^{3+} и суммарная концентрация ионов железа снижалась до 4.57 и 4.95 г/л, соответственно (рис. 1в и 1г, кривая *5*).

В варианте эксперимента со смешанной культурой *Acidiplasma* sp. MBA-1 + *A. caldus* MBC-1 концентрация ионов Fe^{2+} была максимальной на 5 сут биовыщелачивания (3.80 г/л), а затем снижалась и после 15 сут изменялась в диапазоне 0.14—0.37 г/л (рис. 1г, кривая *6*). Концентрация ионов Fe^{3+} постепенно возрастала и была максимальной на 15 сут (7.43 г/л) (рис. 1в, кривая *6*), а затем постепенно снижалась к концу эксперимента до 5.20 г/л. Суммарная концентрация ионов железа, которые были представлены, главным образом, ионами Fe^{3+} , была максимальной на 15 сут (7.68 г/л) (рис. 1д, кривая *6*).

В варианте эксперимента со смешанной культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269 T + Acidiplas*ma* sp. MBA-1 изменения концентраций ионов железа, как и других параметров среды (pH и Eh) (рис. 1а-1д, кривые 7), были практически идентичны соответствующим изменениям в варианте эксперимента с чистой культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T. Суммарная концентрация ионов железа (рис. 1д, кривая 7) до 10 сут постепенно увеличивалась, достигая максимального значения 3.89 г/л. До 10 сут ионы железа в среде были, главным образом, представлены ионами Fe^{2+} (рис. 1г, кривая 7). После 10 сут эксперимента концентрация ионов Fe²⁺ снижалась, вероятно за счет биоокисления, и составляла после 15 сут 0.07-0.20 г/л (рис. 1г, кривая 2). Концентрация ионов Fe^{3+} в среде была максимальной (1.11 г/л) (рис. 1г, кривая 7). Таким образом, после 10 сут накопления ионов железа в среде не происходило, а их концентрация постепенно снижалась (на 30 сут составляя $0.67 \, \Gamma/\pi$) (рис. 1д, кривая 7).

На рис. 2 показана степень выщелачивания пирротина, рассчитанная по максимальной концентрации ионов железа в среде. Степень выщелачивания пирротина в разных вариантах эксперимента значительно различалась. Из данных, представленных на рис. 2, следует, что степень выщелачивания в эксперименте с чистой культурой A. caldus MBC-1 была самой высокой (70%) (рис. 2, столбец 4), кроме того, относительно высокой она была в вариантах со смешанными культурами S. thermosulfidooxidans BKMB1269 T + A. caldus MBC-1 и Acidiplasma sp. MBA-1 + A. caldus MBC-1 (43 и 60%, соответственно) (рис. 2, столбцы 5 и 6). Ниже была степень выщелачивания в эксперименте с чистой культурой Acidiplasma sp. MBA-1 (37%) (рис. 2, столбец 3), а самой низкой — в вариантах с чистой культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T (29%) (рис. 2, столбец 3) и смешанной культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269 T + + Acidiplasma sp. MBA-1 (30%) (рис. 2, столбец 7).

Таким образом, было показано, что наиболее высокой степень выщелачивания была в вариантах, где биоокисление осуществлялось культурами, в состав которых входил штамм A. caldus MBC-1. Данный штамм отличался от штаммов S. thermosulfidooxidans BKMB1269 $^{\rm T}$ и Acidiplasma sp. MBA-1 тем, что не способен окислять двухвалентное железо, а окисляет только соединения серы, а также является автотрофом.

На рис. 3 представлены результаты эксперимента, поставленному для того, чтобы сравнить активность окисления элементной серы исследуемыми штаммами. Из представленных данных следует, что *A. caldus* MBC-1 окислял элементную серы намного активнее в условиях, аналогичных условиям экспериментов с пирротином. Окисление элементной серы штаммом *A. caldus* MBC-1

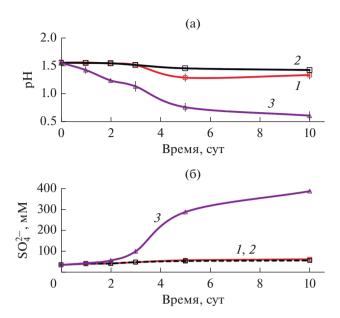


Рис. 3. Изменение рН среды (а) и концентрации сульфат-ионов (б) в среде при окислении элементной серы штаммами микроорганизмов: 1 — чистая культура S. thermosulfidooxidans BKMB 1269^{T} ; 2 — чистая культура A cidiplasma S MBA-S MBA-S 1; S — чистая культура S MBC-S 1.

сопровождалось намного более быстрым снижением рН и повышением концентрации сульфатиона (рис. За и 36, кривая 3), чем окислении серы штаммами *S. thermosulfidooxidans* BKMB1269^T и *Acidiplasma* sp. MBA-1 (рис. За и 36, кривые I и I и I и I и I и I устануванием I и I и I устануванием I устануванием I и I устануванием I устануванием I устануванием I устануванием I и I устануванием I

Результаты работы показывают, что биовыщелачивание пирротина наиболее активно проходило в вариантах эксперимента со штаммом *A. caldus* MBC-1, который являлся наиболее активным окислителем серы среди исследуемых штаммов. Выполненные исследования показали, что микроорганизмы — представители групп, доминирующих в промышленных процессах биоокисления, проявляли различную активность при биовыщелачивании пирротина. Различия были, вероятно, обусловлены особенностями физиологических свойств изучаемых микроорганизмов, а именно активностью окисления элементной серы, а также особенностями механизма выщелачивания пирротина.

Показано, что пирротин и другие минералы, которые подвергаются выщелачиванию по полисульфидному механизму, могут частично выщелачиваться при взаимодействии с кислой средой:

$$MS + 2H^{+} \rightarrow M^{2+} + H_{2}S.$$
 (1)

Образовавшийся сероводород затем окисляется с образованием полисульфида и элементной серы, которая затем подвергаются биоокислению. При этом важным для выщелачивания фактором является присутствие в среде ионов Fe^{3+} ,

которые вступают в реакцию с сульфидами металлов и ускоряют процесс вышелачивания:

$$MS + Fe^{3+} + 2H^{+} \rightarrow M^{2+} + H_2S + Fe^{2+},$$
 (2)

$$0.5H_2S + Fe^{3+} \rightarrow 0.125S_8 + Fe^{2+} + H^+,$$
 (3)

$$0.125S_8 + 1.5O_2 + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + 2H^+.$$
 (4)

Исходя из уравнений (1)-(4), процесс выщелачивания пирротина зависит как от присутствия в среде окислителя, иона трехвалентного железа, так и от концентрации протонов в среде (Schippers, Sand, 1999). Реакция растворения сульфидных минералов, выщелачивающихся по полисульфидному механизму, при взаимодействии с Н+сопровождается повышением рН из-за потребления протонов (уравнения (1) и (2)). При этом реакция окисления элементной серы, которая приводит к образованию серной кислоты и снижению рН среды, является при окислении сульфидных минералов по полисульфидному механизму лимитирующей стадией. Кроме того, окисление элементной серы осуществляется, главным образом, микроорганизмами, и поэтому зависит в основном от их активности, тогда как реакции (1)—(3) могут осуществляться абиотически.

Показано, что при биоокислении пирротина большое влияние на процесс его выщелачивания играет образование на его поверхности осадков различного состава, которые пассивируют поверхность и ингибируют процесс биовыщелачивания (Bhatti et al., 1993a; Bhatti et al., 19936; Belzile et al., 2004; Veglio et al., 2009; Gu et al., 2009; Ni et al., 2014). Эти осадки могут состоять как из элементной серы, так и из гидроксидов железа (III), например ярозита, которые образуются в растворах сульфата трехвалентного железа, образующихся при биокислении сульфидных минералов (Das et al., 1996):

$$3Fe_{2}(SO_{4})_{3} + 12H_{2}O + M_{2}SO_{4} \rightarrow \rightarrow 2MeFe_{3}(SO_{4})_{2}(OH)_{6} \downarrow + 6H_{2}SO_{4},$$
 (5)

где $Me - это ионы K^+, Na^+, NH_4^+, H_3O^+$.

В работах (Bhatti et al., 1993a; Ni et al., 2014; Gu et al., 2015) было показано, что в процессе биовыщелачивания пирротина накопление осадков на его поверхности приводило к постепенному ингибированию его окисления. При этом различие физиологических свойств микроорганизмов и состав среды, в которой происходило биовыщелачивания, влияло на интенсивность биовыщелачивания. В работе (Ni et al., 2014) было исследовано биовыщелачивание пирротина бактерией *S. thermosulfidooxidans*. Было показано, что внесение в среду дополнительных количеств окислителя, ионов Fe³⁺, влияло на процесс биовыщелачивания. При этом

добавление 1 г/л Fe³⁺ ускоряло выщелачивание минерала, тогда как более высокая концентрация окислителя (2 г/л) приводила к ингибированию процесса, что объяснялось интенсификацией образования осадка (ярозита) и пассивации поверхности пирротина (Ni et al., 2014). В работе (Gu et al., 2015) исследовали процесс биовышелачивания пирротина железоокисляющей бактерией L. ferriphilum в чистой культуре и в смешанной культуре с сероокисляющей бактерией A. caldus. Было показано, что выщелачивание чистой культурой железоокисляющей бактерии L. ferriphilum проходило фактически с той же скоростью, что и в стерильном контроле, тогда как смешанная культура L. ferriphilum и A. caldus выщелачивала пирротин в несколько раз быстрее по сравнению с чистой культурой железоокислителя. При этом было установлено, что твердые остатки биовыщелачивания в варианте эксперимента с чистой культурой L. ferriphilum содержали большее количество элементной серы, чем остатки биовыщелачивания в варианте эксперимента со смешанной культурой L. ferriphilum и A. caldus. При этом твердые остатки, полученные при биовыщелачивании со смешанной культурой L. ferriphilum и A. caldus после продолжительного биоокисления содержали относительно большое количество ярозита, что, очевидно, и обуславливало снижение скорости выщелачивания эксперимента. Результаты работы показали, что сероокисляющая бактерия играла важную роль в окислении пирротина, тогда как активность железоокисляющей бактерии L. ferriphilum, которая играет важную роль в биоокислении пирита, не позволяла выщелачивать пирротин с высокой скоростью (Rawlings et al., 1999b; Gu et al., 2015).

Результаты данной работы могут быть интерпретированы на основании данных, имеющихся в литературе. Во всех вариантах эксперимента в начала процесса выщелачивания возрастал рН среды, значительно снижался Еh, и возрастала концентрация ионов Fe²⁺. Очевидно, что такие изменения параметров среды были в большей степени обусловлены абиотическим растворением пирротина согласно уравнению (1). Далее в тех вариантах эксперимента, где в культуре присутствовали железоокисляющие микроорганизмы, началось активное биоокисление железа, что привело осаждению железа в виде ярозита. Очевидно, что данное явление приводило к ингибированию дальнейшего выщелачивания пирротина, поэтому в тех вариантах эксперимента, где в культуре присутствовали только S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T и Acidiplasma sp. MBA-1, степень выщелачивания пирротина была относительно низкой. В тех же вариантах, в которых в культуре присутствовал наиболее активный среди исследованных штаммов сероокислитель $A.\ caldus$ МВС-1 (рис. 3), степень выщелачивания пирротина была выше, чем в соответствующих экспериментах с чистыми культурами S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T и Acidiplasma sp. MBA-1, а также со смешанной культурой S. thermosulfidooxidans BKMB1269^T + Acidiplasma sp. MBA-1. Вероятно. это было обусловлено тем, что A. caldus MBC-1 был способен окислять элементную серу, образующуюся на поверхности минерала при биоокислении (уравнения (2)-(4)) и нивелировать ингибирующий эффект образования осадков элементной серы. Интересно отметить, что наиболее высокая степень выщелачивания пирротина была достигнута в варианте с чистой культурой A. caldus МВС-1, несмотря на то, что данный штамм не способен окислять двухвалентное железо. Вероятно, отсутствие активного биоокисления двухвалентного железа в ланном варианте позволило избежать образования большого количества осадков ярозита (уравнение (5)), тогда как активное биоокисление элементной серы позволило избежать пассивации поверхности минерала элементной серы.

Таким образом, было показано, что наиболее важная роль в биовыщелачивании пирротина принадлежит сероокисляющим микроорганизмам и зависит от активности биоокисления серы. Несмотря на то, что ионы Fe^{3+} , которые генерируются в процессе биоокисления ионов Fe²⁺ микроорганизмами (уравнения (2) и (3)), играют роль в выщелачивании минералов, окисляющихся по полисульфидному механизму, в проведенных экспериментах биоокисление железа не сыграло значимой роли в процессе выщелачивания пирротина. Напротив, активное окисление ионов Fe²⁺ приводило к ингибированию выщелачивания пирротина. Необходимо отметить, что при исследовании биовыщелачивания пирита с теми же штаммами было показано, что A. caldus MBC-1 не играл значительной роли в выщелачивании пирита, а основная роль принадлежала штамму S. thermosulfidooxidans BKMB1269 $^{\rm T}$ (Булаев, 2020). Поэтому, результаты работы показывают, что при биоокислении сульфидных минералов железа (пирита и пирротина) основную роль играли разные факторы и микроорганизмы, отличающиеся физиологическими свойствами.

В данной работе получены данные, которые могут указывать на определяющую роль активных сероокисляющих микроорганизмов в биовыщелачивании пирротина. Выполненные исследования показывают, что механизмы окисления минералов обуславливают то, какие группы микроорганизмов наиболее важны для их биовыщелачивания. Полученные результаты могут быть использованы для планирования биотехнологических исследований по оптимизации процессов выщелачивания минерального сырья различного состава.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование было выполнено в рамках Государственного задания при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Булаев А.Г. Влияние органического источника углерода на биоокисление пирита умеренно-термофильными ацидофильными микроорганизмами // Микробиология. 2020. Т. 89. № 3. С. 315–323.

Bulaev A.G. Effect of organic carbon source on pyrite biooxidation by moderately thermophilic acidophilic microorganisms // Microbiology. 2020. V. 89. Is. 3. P. 301–308.

Головачева Р.С., Каравайко Г.И. Sulfobacillus — новый род термофильных спорообразующих бактерий // Микробиология. 1978. Т. 47. Вып. 5. С. 815—822.

Golovacheva R.S., Karavaiko G.I. A new genus of thermophilic spore-forming bacteria, Sulfobacillus // Микробиология. 1978. T. 47. Is. 5. P. 815–822.

Кондратьева Т.Ф., Пивоварова Т.А., Булаев А.Г., Мощанецкий П.В., Цаплина И.А., Григорьева Н.В., Журавлёва А.Е., Меламуд В.С., Белый А.В. Селекция сообщества ацидохемолитотрофных микроорганизмов с высокой скоростью биоокисления флотоконцентрата пирротинсодержащей сульфидной руды // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. Т. 49. № 5. С. 491—498.

Kondrat'eva T.F., Pivovarova T.A., Bulaev A.G., Mosh-chanetskii P.V., Tsaplina I.A., Grigor'eva N.V., Zhuravleva A.E., Melamud V.S., Belyi A.V. Selection of a community of acidochemolithotrophic microorganisms with a high oxidation rate of pyrrhotite-containing sulphide ore flotation concentrate // Applied Biochemistry and Microbiology. 2013. T. 49. № 5. C. 495–501.

Кондратьева Т.Ф., Булаев А.Г., Муравьев М.И. Микроорганизмы в биогеотехнологиях переработки сульфидных руд. М.: Наука, 2015. 212 с.

Kondrat'eva T.F., Bulaev A.G., Muravyov M.I. Microorganisms in biotechnologies of sulfide ores processing. M.: Nauka, 2015. 212 p.

Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод. М.: Недра, 1970. 140 с.

Reznikov A.A., Mulikovskaya E.P., Sokolov I.Yu., Metody analiza prirodnykh vod (Methods for Analysis of Natural Waters), M.: Nedra, 1970. 140 p.

Belyi A.V., Chernov D.V., Solopova N.V. Development of BIONORD® technology on Olimpiada deposit refractory arsenic-gold ores treatment in conditions of Extreme North // Hydrometallurgy. 2018. V. 179. P. 188–191

- *Belzile N., Chen Y-W., Cai M-F., Li Y.* A review on pyrrhotite oxidation // Journal of Geochemical Exploration. 2004. V. 84. P. 65–76.
- Bhatti T.M., Bigham J.M., Carlson L., Tuovinen O.H. Mineral products of pyrrhotite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* // Appl. Environ. Microbiol. 1993. V. 59. P. 1984—1990
- Bhatti T.M., Bigham J.M., Vuorinen A., Tuovinen O.H. Alteration of mica and feldspar associated with the microbiological oxidation of pyrrhotite and pyrite // Environmental Geochemistry of Sulfide Oxidation ACS Symposium Series / Eds. Alpers C.N., Blowes D.W. Washington: ACS, 1993. V. 550. P. 90–105.
- Bulaev A., Belyi A., Panyushkina A., Solopova N., Pivovarova T. Microbial Population of Industrial Biooxidation Reactors // Solid State Phenomena Submitted. 2017. V. 262. P. 48–52.
- Coram N.J., Rawlings D.E. Molecular relationship between two groups of the genus Leptospirillum and the finding that Leptospirillum ferriphilum sp. nov. dominates South African commercial biooxidation tanks that operate at 40°C // Appl. Environ. Microbiol. 2002. V. 68. № 2. P. 838–845.
- *Das G.K.*, *Acharya S.*, *Anand S.*, *Das R.P.* Jarosites: A Review, Mineral Processing and Extractive // Metallurgy Review. 1996. V. 16. Is. 3. P. 185–210.
- *Dopson M., Lindstrom E.B.* Analysis of community composition during moderately thermophilic bioleaching of pyrite, arsenical pyrite, and chalcopyrite // Micr. Ecol. 2004. V. 48. P. 19–28.
- Garg S., Judd K., Mahadevan R., Edwards E., Papangelakis V.G. Leaching characteristics of nickeliferous pyrrhotite tailings from the Sudbury, Ontario area // Canadian Metallurgical Quarterly. 2017. V. 56. Is. 4. P. 372—381.
- *Gu G., Zhao K., Qiu G., Hu Y., Sun X.* Effects of *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus caldus* on surface properties of pyrrhotite // Hydrometallurgy. 2009. V. 100. Is. 1–2. P. 72–75.
- Gu G., Yang H., Hu K., Wang C., Xiong X., Li S. Formation of passivation film during pyrrhotite bioleached by pure L. ferriphilum and mixed culture of L. ferriphilum and A. caldus // J. Cent. South Univ. 2015. V. 22. P. 880–886.
- Hedrich S., Guézennec A.-G., Charron M., Schippers A., Joulian C. Quantitative monitoring of microbial species during bioleaching of a copper concentrate // Frontiers in Microbiology. 2016. V. 7. Article 2044.
- Janzen M.P., Nicholson R.V., Scharer J.M. Pyrrhotite reaction kinetics: reaction rates for oxidation by oxygen, ferric iron, and for nonoxidative dissolution // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2000. V. 64(9). P. 1511–1522.
- Johnson D.B. Biomining biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials // Curr. Opin. Biotechnol. 2014. V. 30. P. 24—31.
- *Ke J., Li H.* Bacterial leaching of nickel-bearing pyrrhotite // Hydrometallurgy. 2006. V. 82. Is. 3–4. P. 172–175.
- Kolmert A., Wikström P., Hallberg K.B. A fast and simple turbidimetric method for the determination of sulfate in sulfate-reducing bacterial cultures // J. Microbiol. Methods. 2000 V. 41. Is. 3. P. 179–84.
- Mahmoud A., Cezac P., Hoadley A.F.A., Contaminea F., D'Hugues P. A review of sulfide minerals microbially assisted leaching in stirredtank reactors // International Biodeterioration & Biodegradation. 2017. V. 119. P. 118—146.

- *Morin D.H.R.*, *d'Hugues P.* Bioleaching of a cobalt containing pyrite in stirred reactors: a case study from laboratory scale to industrial application // Biomining / Eds. Rawlings D.E., Johnson B.D. Berlin: Springer, 2007. P. 35–55.
- *Mudd G. M., Jowitt S. M.* A Detailed Assessment of Global Nickel Resource Trends and Endowments // Economic Geology. 2014. V. 109(7). P. 1813–1841.
- *Muravyov M.I.*, *Bulaev A.G*. Two-step oxidation of a refractory gold-bearing sulfidic concentrate and the effect of organic nutrients on its biooxidation // Minerals Engineering. 2013. V. 45. P. 108–114.
- Nancucheo I., Johnson D.B. Production of glycolic acid by chemolithotrophic iron- and sulfur-oxidizing bacteria and its role in delineating and sustaining acidophilic sulfide mineral-oxidizing consortia // Appl. Environ. Microbiol. 2010. V. 76. № 2. P. 461–467.
- Ni Z-Y., Gu G-H., Yang H-S., Qiu G-Z. Bioleaching of pyrrhotite by Sulfobacillus thermosulfidooxidans // J. Cent. South Univ. 2014. V. 21. P. 2638—2644.
- *Okibe N., Gericke M., Hallberg K.B., Johnson D.B.* Enumeration and characterization of acidophilic microorganisms isolated from a pilot plant stirred tank bioleaching operation // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69. P. 1936—1943.
- Okibe N., Johnson D.B. Biooxidation of pyrite by defined mixed cultures of moderately thermophilic acidophiles in pH-controlled bioreactors: significance of microbial interactions // Biotechnol. Bioeng. 2004. V. 87. P. 574–583.
- *Peek E., Barnes A., Tuzun A.* Nickeliferous pyrrhotite "Waste or resource?" // Minerals Engineering. 2011. V. 24. Is. 7. P. 625–637.
- Rawlings D.E., Coram N.J., Gardner M.N., Deane S.M. Thiobacillus caldus and Leptospirillum ferrooxidans are widely distributed in continuous flow biooxidation tanks used to treat a variety of metal containing ores and concentrates // Biohydrometallurgy and the environment: toward the mining of the 21st century. Part A / Eds. Amils R., Ballester A. Amsterdam: Elsevier, 1999a. P. 777–786.
- Rawlings D.E., Tributsch H., Hansford G. Reasons why 'Leptospirillum'-like species rather than Thiobacillus ferrooxidans are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores // Microbiology. 1999b. V. 145. P. 5–13.
- Rezaei S., Liu F., Marcuson S., Muinonen M., Lakshmanan V.L., Sridhar R., Barati M. Canadian pyrrhotite treatment: the history, inventory and potential for tailings processing // Canadian Metallurgical Quarterly. 2017. V. 56(4). P. 410–417.
- *Riekkola–Vanhanen M.* Talvivaara black schist bioheap leaching demonstration plant // Advanced Materials Research. 2007. V. 20. P. 30–33.
- Sand W., Gehrke T., Jozsa P.-G., Schippers A. (Bio)chemistry of bacterial leaching—direct vs. indirect bioleaching // Hydrometallurgy. 2001. V. 59. P. 159—175.
- Santos L.R.G., Barbosa A.F., Souza A.D. Bioleaching of a complex nickel-iron concentrate by mesophile bacteria // Minerals Engineering. 2006. V. 19. Is. 12. P. 1251–1258.
- Schippers A., Jozsa P-G., Sand W. Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite // Appl. Environ. Microbiol. 1996. V. 62. P. 3424–3431.
- Schippers A., Sand W. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via

polysulfides and sulfur // Appl. Environ. Microbiol. 1999. V. 65. № 1. P. 319–321.

Schumann R.C., Robertson A., Gerson A., Fan R., Kawashima N., Li J., Smart R. Iron sulfides ain't iron sulfides. A comparison of acidity generated during oxidation of pyrite and pyrrhotite in waste rock and tailing materials // Proceedings of 10 International Conference on Acid Rock Drainage & IMWA Annual Conference / Ed. Brown A. Santiago: Gecamin, 2015. P. 285–295.

Silverman M.P., Lungren D.C. Study on the chemoautotrophic iron bacterium Ferrobacillus ferrooxidans. An improved medium and harvesting procedure for securing high cell yield // J. Bacteriol. 1959. V. 77. № 5. P. 642–647.

Spolaore P., Joulian C., Gouin J., Ibáñez A., Auge T., Morin D., d'Hugues P. Bioleaching of an organic-rich polymetallic concentrate using stirred-tank technology. Hydrometallurgy. 2009. V. 99. Is. 3–4. P. 137–143

Spolaore P., Joulian C., Gouin J., Morin D., d'Hugues P. Relationship between bioleaching performance, bacterial community structure and mineralogy in the bioleaching of a copper concentrate in stirred-tank reactors // Applied Microbiology and Biotechnology. 2010. V. 89(2). P. 441–448. van Aswegen P.C., van Niekerk J., Olivier W. The BIOX process for the treatment of refractory gold concentrate// Biomining / Eds. Rawlings D.E., Johnson B.D. Berlin: Springer, 2007. P. 1–35.

van Hille R.P., van Wyk N., Froneman T., Harrison S.T.L. Dynamic evolution of the microbial community in BIOX leaching tanks // Adv. Mater. Res. 2013. V. 825. P. 331–334.

Veglio F., Beolchini F., Nardini A., Toro L. Kinetic analysis of pyrrhotite ore bioleaching by a sulfooxidans strain: direct and indirect mechanism discrimination // Process Metallurgy. 1999. V. 9. P. 607–616.

Wang Y., Su L., Zhang L., Zeng W., Wu J., Wan L., Qiu G., Chen X., Zhou H. Bioleaching of chalcopyrite by defined mixed moderately thermophilic consortium including a marine acidophilic halotolerant bacterium // Bioresour. Technol. 2012. V. 121. P. 348–354.

Wang Y., Zeng W., Qiu G., Chen X., Zhou H. A moderately thermophilic mixed microbial culture for bioleaching of chalcopyrite concentrate at high pulp density // Appl. Environ. Microbiol. 2014. V. 80(2). P. 741–750.

Wieszczycka K. Wastes generated by mineral extraction industries // Physical Sciences Reviews. 2018. V. 3. Is. 6. 20180026

Zeng W., Qiu G., Zhou H., Peng J., Chen M., Tan S.N., Chao W., Liu X., Zhang Y. Community structure and dynamics of the free and attached microorganisms during moderately thermophilic bioleaching of chalcopyrite concentrate // Bioresour. Technol. 2010 V. 101. Is. 18. P. 7079—7086.

Pyrrhotite Biooxidation by Moderately Thermophilic Acidophilic Microorganisms

A. G. Bulaev*

Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: bulaev.inmi@yandex.ru

Received April 6, 2020; revised May 2, 2020; accepted May 29, 2020

The goal of the present work was to study the oxidation of sulfide mineral pyrrhotite by members of microbial groups predominant in biohydrometallurgical processes (mixotrophic iron- and sulfur-oxidizing bacterium Sulfobacillus thermosulfidooxidans strain VKMV 1269^T, autotrophic sulfur-oxidizing bacterium Acidithiobacillus caldus strain MBC-1, and heterotrophic iron- and sulfur-oxidizing archaeon Acidiplasma sp. strain MBA-1) to evaluate the role of microorganisms with different physiological properties in the leaching of this mineral. It was shown that pyrrhotite was most actively leached by the sulfur-oxidizing strain Acidithiobacillus caldus MBC-1, as well as by mixed cultures in which this strain was present: S. thermosulfidooxidans VKMV 1269^T + A. caldus MBC-1 and Acidiplasma sp. MBA-1 + A. caldus MBC-1. These cultures leached 70, 43, and 60% of pyrrhotite, respectively, after 30 days of the experiment. In experiments with pure cultures S. thermosulfidooxidans VKMV 1269^T, Acidiplasma sp. MBA-1 and a mixed culture S. thermosulfidooxidans VKMV 1269^T + Acidiplasma sp. MBA-1, the rates of pyrrhotite leaching were significantly lower: 29, 37 and 30%, respectively. An experiment on sulfur biooxidation by pure cultures of the studied microorganisms demonstrated that A. caldus strain MBC-1 was the most active sulfur oxidizer. Thus, it was shown that the bioleaching of pyrrhotite was carried out mainly by sulfur-oxidizing microorganisms, with sulfur biooxidation as the most important process. Active biooxidation of the Fe²⁺ ion by iron-oxidizing microorganisms did not increase activity of pyrrhotite oxidation, but, on the contrary, led to inhibition of pyrrhotite leaching. Thus, active biooxidation of sulfur, which is formed during the leaching of pyrrhotite, was a factor determining the leaching rate for this sulfide mineral.

Keywords: biohydrometallurgy, pyrrhotite, acidophilic microorganisms, sulfur and iron biooxidation, *Sulfobacillus*, *Acidiplasma*, *Acidithiobacillus*