

УДК 66.061.34:579.66

## ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

**Киореску А.В.**

*Научно-исследовательский геотехнологический центр Дальневосточного отделения  
Российской академии наук, Петропавловск-Камчатский, e-mail: kioresku88@gmail.com*

В России и за рубежом в последние годы наблюдается устойчивая тенденция к истощению запасов богатой и легкообогатимой руды. В связи с этим все большее внимание уделяется технологии бактериально-химического выщелачивания ценных компонентов из упорного и низкосортного минерального сырья. Несмотря на все преимущества перед традиционными пиро- и гидрометаллургическими методами обогащения, технология биовыщелачивания имеет существенный недостаток, который заключается в неспособности микроорганизмов создавать достаточно агрессивные условия для эффективной деструкции минеральных комплексов. В статье представлены результаты проведенного эксперимента, целью которого являлось изучение воздействия микроволнового излучения на окислительную активность смешанной культуры хемолитотрофных микроорганизмов, выделенных из сульфидной полиметаллической руды месторождения Шануч (Камчатка). В качестве источника излучения использовалась бытовая СВЧ-печь с частотой излучения 2,45 ГГц и мощностью 900 Вт. Облучение проводилось каждые сутки на протяжении всего эксперимента. Длительность воздействия равнялась 5 и 10 с. Было установлено, что при всех исследуемых режимах СВЧ-облучения численность свободноплавающих микроорганизмов увеличивается более чем в два раза, по сравнению с контрольными образцами, которые не подвергались облучению. Также выявлено повышение скорости окисления  $Fe^{2+}$  бактериальной культурой при воздействии на них микроволновым излучением. Лучшие результаты наблюдались в экспериментальной группе, где облучение длительностью в 5 с проводилось дважды в сутки с интервалами в 12 ч. В этих колбах было окислено на 15% двухвалентного железа больше, по сравнению с контрольным образцом. Результаты проведенного исследования позволяют оценить перспективы применения новых методов биотехнологии в промышленной практике переработки рудного сырья с улучшением качественных показателей.

**Ключевые слова:** биовыщелачивание, хемолитотрофы, СВЧ, микроволны, биогеотехнология

## CHANGE OF OXIDATIVE ACTIVITY OF CHEMOLITOTROPHIC MICROORGANISMS UNDER THE IMPACT OF MICROWAVE RADIATION

**Kioresku A.V.**

*Geotechnological Scientific Research Centre, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Petropavlovsk-Kamchatsky, e-mail: kioresku88@gmail.com*

Recently, in Russia and abroad there is a steady tendency of ore depletion of reserves of rich and easily-rich ore. In this regard, more and more attention is paid to the technology of bioleaching of valuable components from resistant and low-grade mineral raw materials. Despite all the advantages over traditional pyro- and hydrometallurgical enrichment methods, the bioleaching technology has a significant drawback, which lies in the inability of microorganisms to create sufficiently aggressive conditions for effective destruction of mineral complexes. The article presents the results of the experiment, the purpose of which was to study the effect of microwave radiation on the oxidative activity of a mixed culture of chemolithotrophic microorganisms isolated from sulphide ore from the Shanuch deposit (Kamchatka). As a radiation source, a microwave oven (2.45 GHz, 900 W) was used. Irradiation was carried out every day throughout the experiment. The exposure duration was 5 and 10 seconds. It was found that in all the studied modes of microwave irradiation, the number of free-floating microorganisms is more than twofold compared with control samples that are not exposed to radiation. An increase in the rate of oxidation of  $Fe^{2+}$  by a bacterial culture was also revealed while exposing to microwave radiation. The best results were observed in the experimental group, where irradiation with a duration of 5 seconds was carried out twice a day at intervals of 12 hours. In these flasks the ferrous iron was oxidized by 15% more, as compared with the control sample.

**Keywords:** bioleaching, chemolithotrophs, microwave, microwaves, biogeotechnology

В настоящее время биовыщелачивание является реальной альтернативой традиционным пиро- и гидрометаллургическим методам обогащения минерального сырья. Технология бактериально-химического выщелачивания представляет экономические, экологические и эксплуатационные преимущества из-за ее надежности и минимального использования химических веществ во время процесса [1].

Принцип биовыщелачивания основан на растворении металлов окисляющими агентами, которые продуцируют хемолитотрофные микроорганизмы. Бактерии, наиболее активные в биовыщелачивании, относятся к роду *Thiohacillus*. Это грамотрицательные, неспорообразующие палочки, которые растут в аэробных условиях. Большинство тиобацилл являются хемолитоавтотрофными видами, которые способны окислять

двухвалентное железо и серу, а высвободившуюся при этом энергию используют для усвоения углерода из углекислого газа. Наиболее распространенными видами бактерий, используемых в промышленности, являются *Acidithiobacillus caldus*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus ferrivorans*, *Leptospirillum ferrooxidans* и *Acidithiobacillus thiooxidans* [2].

Бактериальная активность способствует соллюбилизации металлов двумя основными механизмами: прямым и косвенным. При прямом механизме между бактериальной клеткой и поверхностью минерала образуется физический контакт, а окисление происходит с помощью ферментативно катализируемых реакций. Бесконтактный механизм представляет собой процессы окисления минеральных комплексов трехвалентным железом, которые продуцируют бактерии.

Несмотря на все преимущества, технология биовыщелачивания имеет существенный недостаток, заключающийся в высокой продолжительности технологического процесса. Причиной этому является слабая кинетика окислительно-восстановительных реакций, проходящих с участием микроорганизмов. В связи с этим поиск и изучение способов интенсификации окислительной активности хемолитотрофных микроорганизмов является актуальной задачей на сегодняшний день. В научных исследованиях наиболее распространенными методами воздействия на процессы роста бактериальных клеток и выработку ими ферментов является использование волновых излучений, таких как ионизирующее излучение, микроволновое излучение, УФ, инфракрасное излучение и ультразвук [3].

Целью данного исследования являлось исследование биологических откликов железоз- и сероокисляющих микроорганизмов на воздействие микроволнового излучения при разных режимах облучения.

Долгое время считалось, что биологический эффект СВЧ-излучения проявляется вследствие локального нагрева за счет выделения тепла от трения молекул. Однако в последние годы было показано, что биологический отклик проявляется и при сверхмалых интенсивностях электромагнитного излучения, когда средний по объему нагрев тканей не является определяющим или пренебрежимо мал. Такие эффекты получили названия нетепловых или «специфических» [4].

В обзорной статье [5] приводятся сведения об изменениях в структуре ДНК, био-

логической мембраны и белков под действием микроволнового излучения низкой интенсивности. Изменения в генетическом аппарате оказывают влияние на экспрессию определенных генов, что выражается в изменениях продукции функциональных элементов – РНК и белков. Изменения в биологической мембране при воздействии микроволн способствуют изменению транспорта веществ между клеткой и окружающей средой. Изменения на молекулярном уровне способствуют проявлению нетепловых эффектов на более высоких уровнях организации живой материи. Ввиду этого исследования биологических откликов на воздействие микроволнового излучения вызывают научный интерес по сей день.

## Материалы и методы исследования

### *Бактериальная культура*

В эксперименте была использована культура хемолитотрофных ацидофильных микроорганизмов, выделенных из образца сульфидной кобальт-медно-никелевой руды месторождения Шануч (Камчатка). По данным ПЦР-диагностики, в состав данного сообщества входят *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *A. thiooxidans*, *Sulfobacillus* sp [6].

### *Культивирование*

Эксперимент был проведен в колбах Эрленмейера на 250 мл, содержащих 100 мл питательной среды 9К с добавлением Fe (II). Концентрация двухвалентного железа составляла 10 г/л. Колбы располагались на качалке (90 об/мин) в термостате, при постоянной температуре 28 °С. Каждые сутки на протяжении всего эксперимента определялось общее количество микроорганизмов методом прямого подсчета под микроскопом (МИКРОМЕД 3) и определялась степень окисления двухвалентного железа методом визуального колориметрического титрования. Также производилось измерение параметра рН и окислительно-восстановительного потенциала среды. Эксперимент проводился в трех повторях.

### *Процесс облучения СВЧ*

Облучение проводилось в СВЧ-печи. Частота излучения составляла 2,45 ГГц, мощность 900 Вт. Во время облучения изменение температуры раствора не превышало 2 °С. Для проведения эксперимента были сформированы три экспериментальные группы:

СВЧ 5(1) – колбы подвергались облучению один раз в сутки. Время воздействия равнялось 5 с.

СВЧ 5 (II) – колбы подвергались облучению два раза в сутки. Время воздействия равнялось 5 с.

СВЧ 10 (I) – колбы подвергались облучению в течение 10 с один раз в сутки.

В качестве контроля служили колбы, не подвергаемые воздействию микроволнового излучения. Выбор параметров облучения обусловлен результатами проведенных ранее исследований [7].

### Результаты исследования и их обсуждение

В ходе эксперимента было установлено, что воздействие микроволн способствует повышению железоокислительной актив-

ности хемолитотрофных микроорганизмов (рис. 1, 2).

Наилучшие показатели окисления железа регистрировались в колбах, облучение которых происходило в течение пяти секунд, дважды в сутки, с интервалами в 12 ч. К концу эксперимента в этой экспериментальной группе было окислено 96% двухвалентного железа, в то время как в контрольном образце лишь 81% (рис. 3).

Воздействие СВЧ-излучения раз в сутки в течение 10 с также способствовало повышению окислительной активности бактерий, но менее выражено, чем в группе СВЧ 5 (II). К концу эксперимента в этих колбах было окислено 89% двухвалентного железа.

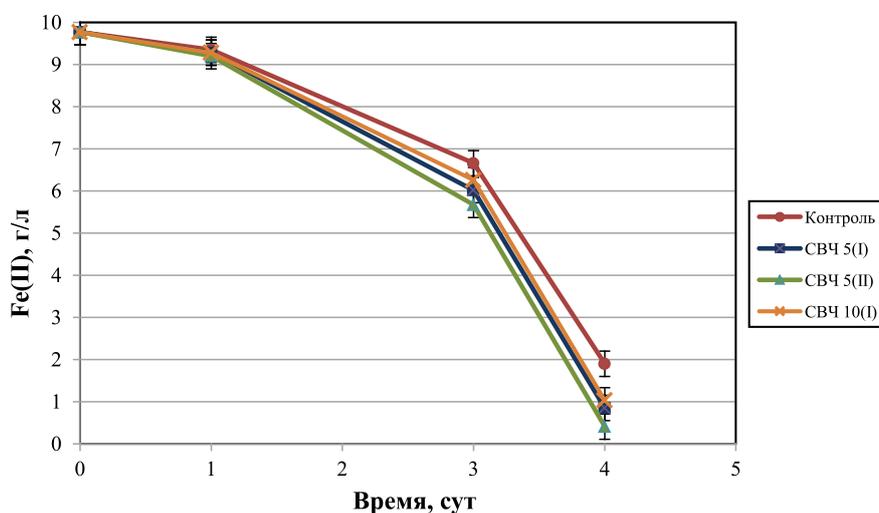


Рис. 1. Изменение концентрации двухвалентного железа в разных экспериментальных группах

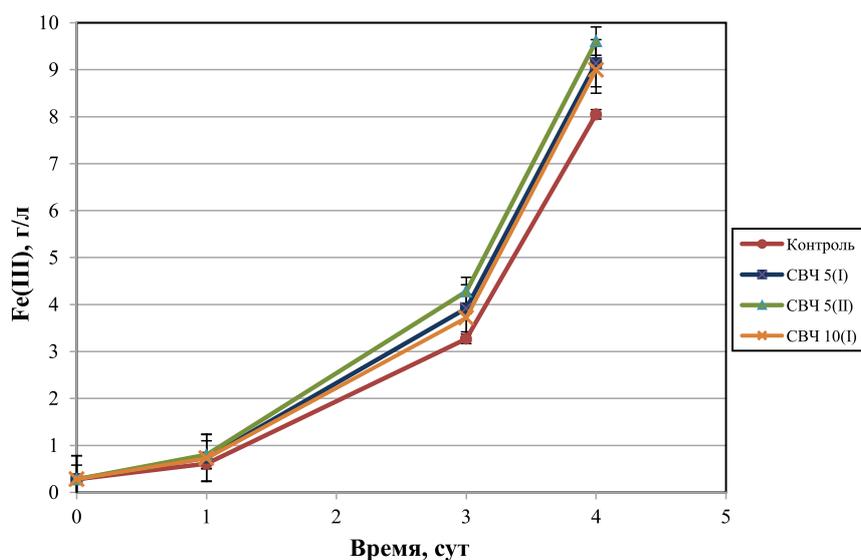


Рис. 2. Изменение концентрации трехвалентного железа в разных экспериментальных группах

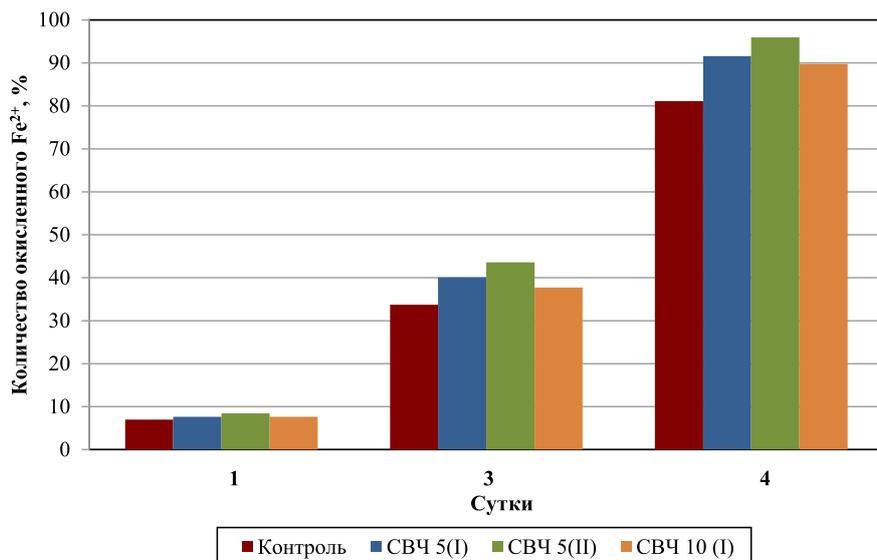


Рис. 3. Изменение процентного соотношения количества окисленного железа в разных экспериментальных группах

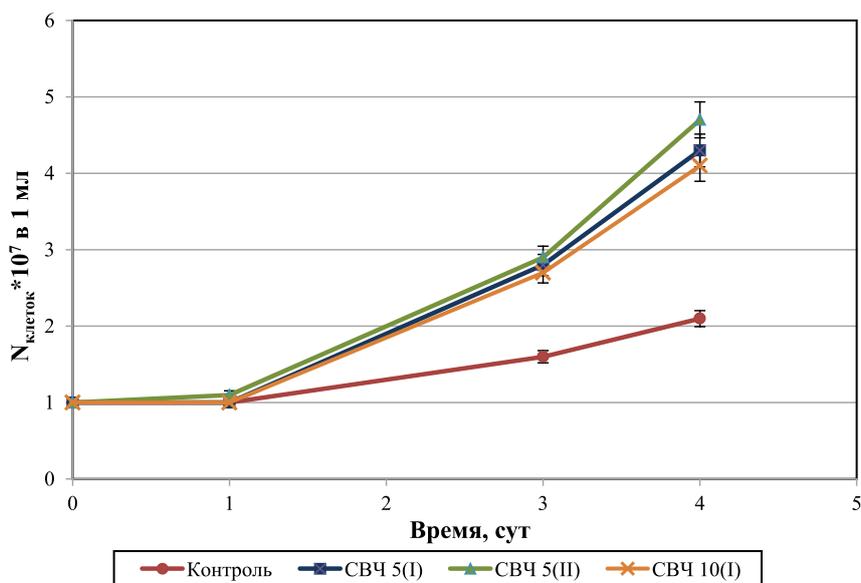


Рис. 4. Изменение численности свободноплавающих микроорганизмов в разных экспериментальных группах

Количество окисленного железа в экспериментальной группе СВЧ 5 (I) составило 92%, что несколько больше, чем при десятисекундном облучении. По всей видимости, эффект связан с повреждениями, вызванными локальным нагревом, при воздействии СВЧ в течение 10 с.

На рис. 4 изображен график изменения численности свободноплавающих микроорганизмов в разных экспериментальных группах. Видно, что воздействие микро-

волнового излучения при любых режимах облучения приводит к значительному повышению численности планктонных форм микроорганизмов. Данный эффект можно объяснить изменением механизмов адгезии в облученных клетках. В работе [8] на примере грамположительных бактерий продемонстрирована зависимость силы адгезии от параметров СВЧ-облучения.

Наибольшая концентрация клеток была зарегистрирована в экспериментальной

группе СВЧ 5 (II) и равнялась  $(4,7 \pm 0,2) \cdot 10^7$  клеток в одном миллилитре раствора, что превосходит значения в контрольном образце более чем в два раза. Количество клеток в контроле равнялось  $(2,1 \pm 0,1) \cdot 10^7 \text{мл}^{-1}$ .

Концентрация бактериальных клеток в миллилитре раствора в группах СВЧ 5 (I) и СВЧ 10 (I) равнялась  $(4,1 \pm 0,2) \cdot 10^7$  и  $(4,3 \pm 0,2) \cdot 10^7$  соответственно.

### Заключение

В ходе проведенного эксперимента было установлено, что воздействие СВЧ-излучения на смешанную культуру хемолитотрофных микроорганизмов способствует повышению их окислительной активности. Наиболее выраженный результат был зарегистрирован в колбах, облучение которых проводилось дважды в сутки, а продолжительность воздействия составляла 5 секунд. В этой экспериментальной группе концентрация окисленного железа была на 15% выше, по сравнению с контрольными образцами, которые не подвергались облучению.

### Список литературы / References

1. Киореску А.В. Особенности воздействия микроволнового излучения на кислотофильные хемолитотрофные бактерии с целью интенсификации бактериально-химического выщелачивания // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2015. № S63. С. 340–346.
2. Kioresku A.V. Features of the effect of microwave radiation on acidophilic chemolithotrophic bacteria in order to conduct bioleaching // Gornyj informacionno-analiticheskij byulleten (nauchno-tekhnicheskij zhurnal). 2015. № S63. P. 340–346 (in Russian).
3. Johnson D.B. Development and application of biotechnologies in the metal mining industry, Environ. Sci. Pollut. Res. 2013. vol. 20. no. 11. P. 7768–7776. DOI: 10.1007/s11356-013-1482-7.
4. Beцкий O.B., Лебедева Н.Н. Миллиметровые волны и живые системы // Наука в России. 2005. № 6. С. 13–19.
5. Betsky O.V., Lebedeva N.N. Millimeter waves and living systems // Nauka v Rossii. 2005. № 6. P. 13–19 (in Russian).
6. Francesca Apollonio, Micaela Liberti, Alessandra Paffi, Guglielmo D’Inzeo. Feasibility for microwaves energy to affect biological systems via nonthermal mechanisms: a systematic approach. IEEE Transactions on microwave theory and techniques. 2013. vol. 61. no. 5. P. 2031–2045. DOI: 10.1109/TMTT.2013.2250298.
7. Рогатых С.В., Докшукина А.А., Левенец О.О., Мурадов С.В., Кофиади И.А. Оценка качественного и количественного состава сообществ культивируемых кислотофильных микроорганизмов методами ПЦР-РВ и анализа библиотеки клонов // Микробиология. 2013. № 2. С. 212–217. DOI: 10.7868/S0026365613010138.
8. Rogatykh S.V., Levenets O.O., Muradov S.V., Dokshukina A.A., Kofiadi I.A. Evaluation of quantitative and qualitative composition of cultivated acidophilic microorganisms by real-time PCR and clone library analysis // Microbiology (Mikrobiologiya). 2013. T. 82. № 2. P. 210–214. DOI: 10.1134/S002626171301013X.
9. Киореску А.В. Влияние продолжительности предварительного облучения СВЧ-волнами культуры хемолитотрофных микроорганизмов на эффективность процессов биовыщелачивания // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2017. № S32. С. 237–247. DOI: 10.25018/0236-1493-2017-12-32-237-247.
10. Kioresku A.V. The influence of the duration of preliminary irradiation with microwave waves of a culture of chemolithotrophic microorganisms on the efficiency of bioleaching processes // Gornyj informacionno-analiticheskij byulleten (nauchno-tekhnicheskij zhurnal). 2017. № S32. P. 237–247 (in Russian).
11. Антушева Т.И. Влияние ультразвука и электромагнитных волн миллиметрового диапазона на адгезивные свойства с. Diphtheriae // Успехи современного естествознания. 2014. № 3. С. 48–52.
12. Antusheva T.I. The effect of ultrasound and millimeter-wave electromagnetic waves on adhesive properties c. Diphtheriae // Modern problems of science and education . 2014. № 3. P. 48–52 (in Russian).