Қазақстан Инженерлік-Технологиялық Университеті

Дипломдық жұмыс

Тақырыбы: «Рудалардан металдарды бактериялық шаймаландыру арқылы бөліп алу және белсенді штаммдарға әртүрлі факторлардың әсерін зерттеу»

5В070100-Биотехнология мамандығы

Зерттеу объектісі:

Бақыршық кен орнының кендерінде және шахта суларында таралған хемолитотрофты микроорганизмдерінің аборигенді штаммдары болып табылды.

Жұмыстың мақсаты:

Бақыршық кен орнының үймелеп шаймалау телімдерінен хемолитотрофты бактериялардың ең белсенді аборигенді штаммдарын табу және бөліп алу

Міндеті:

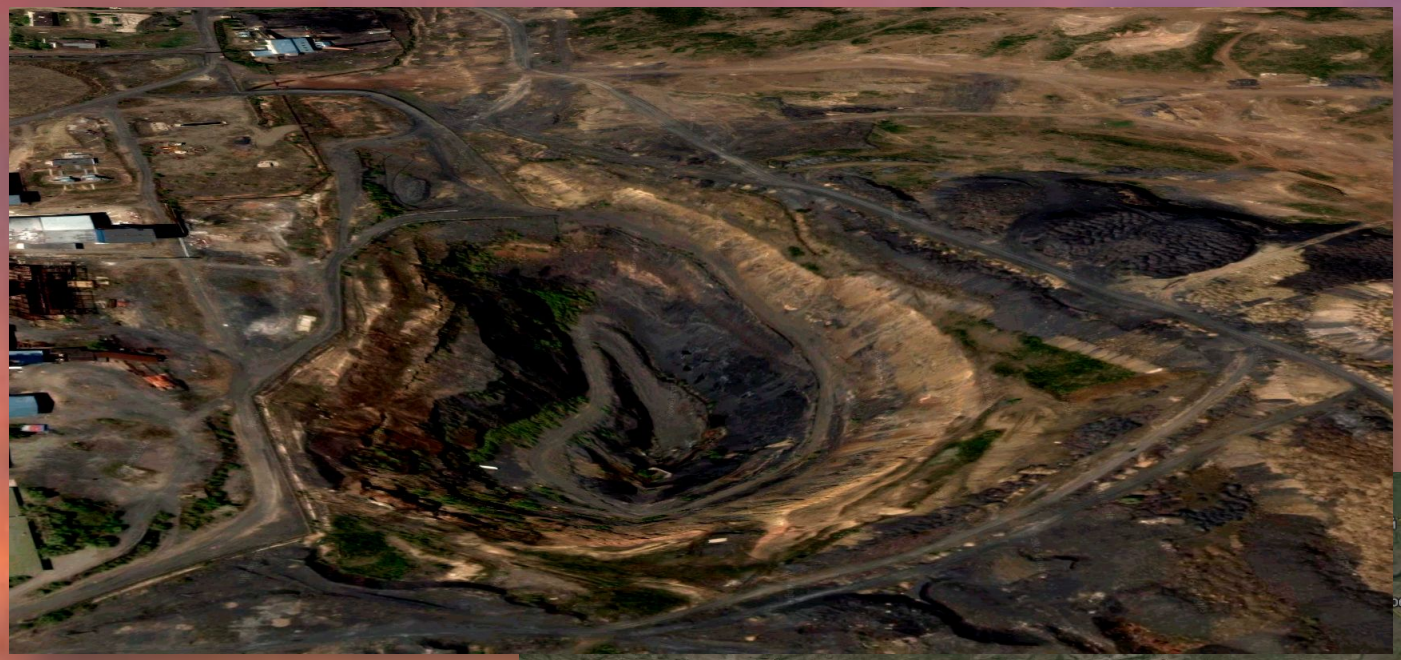
- Бақыршық алтын кен орнында микробиологиялық зерттеулер жүргізу және объектілердің жалпы микрофлорасын анықтау.
- Бақыршық кен орнында кездесетін руда түзуші субстраттардың қасиеттеріне байланысты бөліп алынған бактерия штаммдарының мөлшері мен ерекшеліктерін зерттеу.
- Бақыршық кен орнының қышқыл шахта суынан бөліп алынған *A.ferroxidans* штамының қышқылды ортада темірдің әр түрлі концентрациясын тотықтыру қасиетін зерттеу.

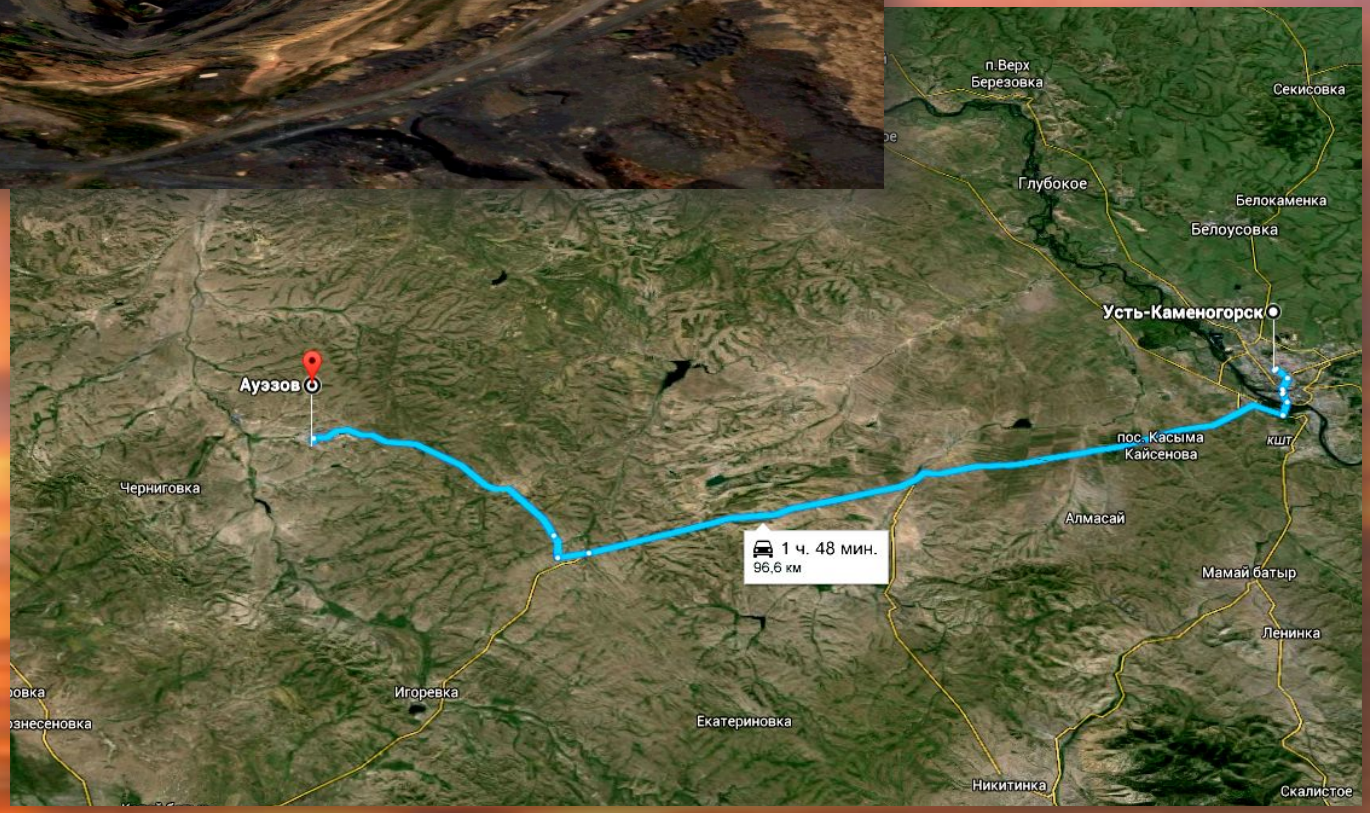
Ғылыми жұмыстың өзектілігі:

Асыл металлдарды алудың биохимиялық технологияларын өңдеуде микроорганизмдердің санынан тұрақты кенінің белсенді тотықтандырғыштарын және химиялық еріткіштердің микроорганизмдердің биохимиялық қасиеттері бойынша жинағын ескеріп қолдану болып табылады.

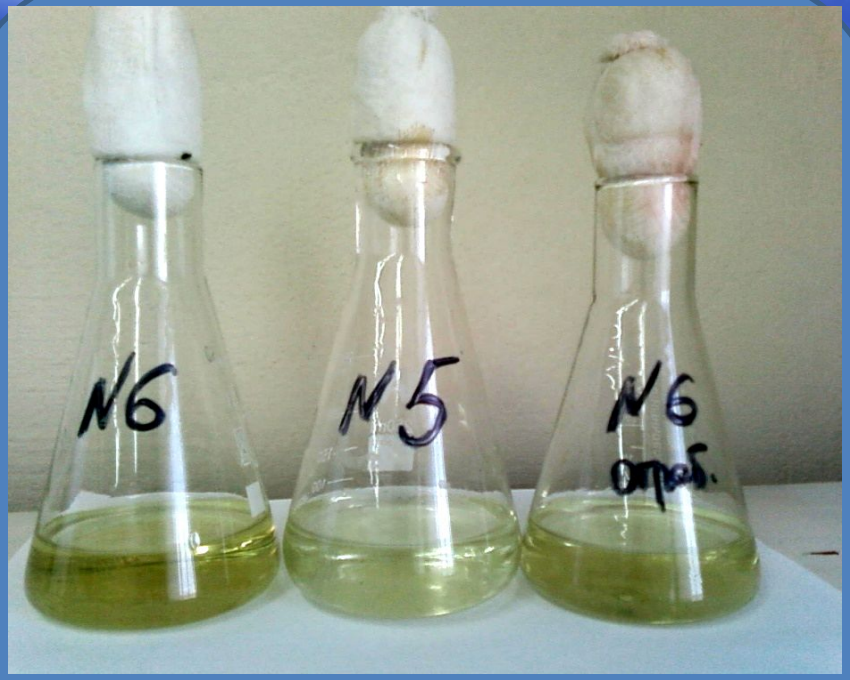
Дүниежүзі бойынша қарапайымдылығы және өсірілуі арзан және өндірісте қолданылуына байланысты ацидофилды бактерияларды қолданады. Сондықтан да биошаймалау бойынша дүниежүзілік эффективті технологиялардың көп бөлігі дәл осы бактерияларды қолдану арқылы жасалған. Алайда олардың кеннің токсинді элементтеріне қатынасы бойынша, сондай-ақ таулы металлургиялық комбинаттарда қолданылатын судың жоғары минералдануына сезімталдығы белгілі. Осыған байланысты дүниежүзінде тұрақты бактерияларды іздеу өзекті мәселе болып табылады.

Бақыршық алтын-мышьяк кен орны карьерлерінің орналасуы



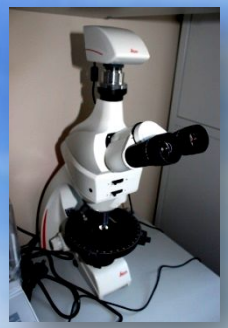


Acid.ferrooxidans бактериясының жиынтық дақылын бөліп алу



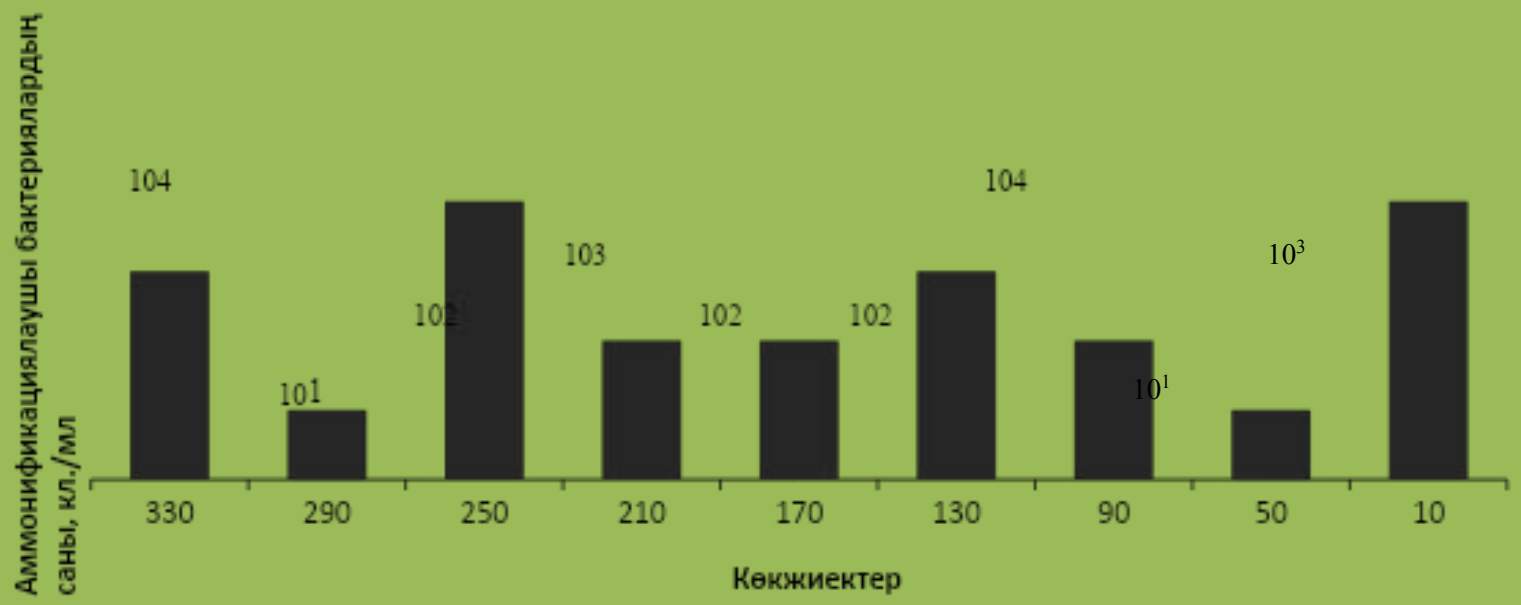
Сильверман және Лундгрен 9К ортасы

Acidothiobacillus ferrooxidans бактериясының Сильверман және Лундгрен 9К ортасында өсу сипаттамасы



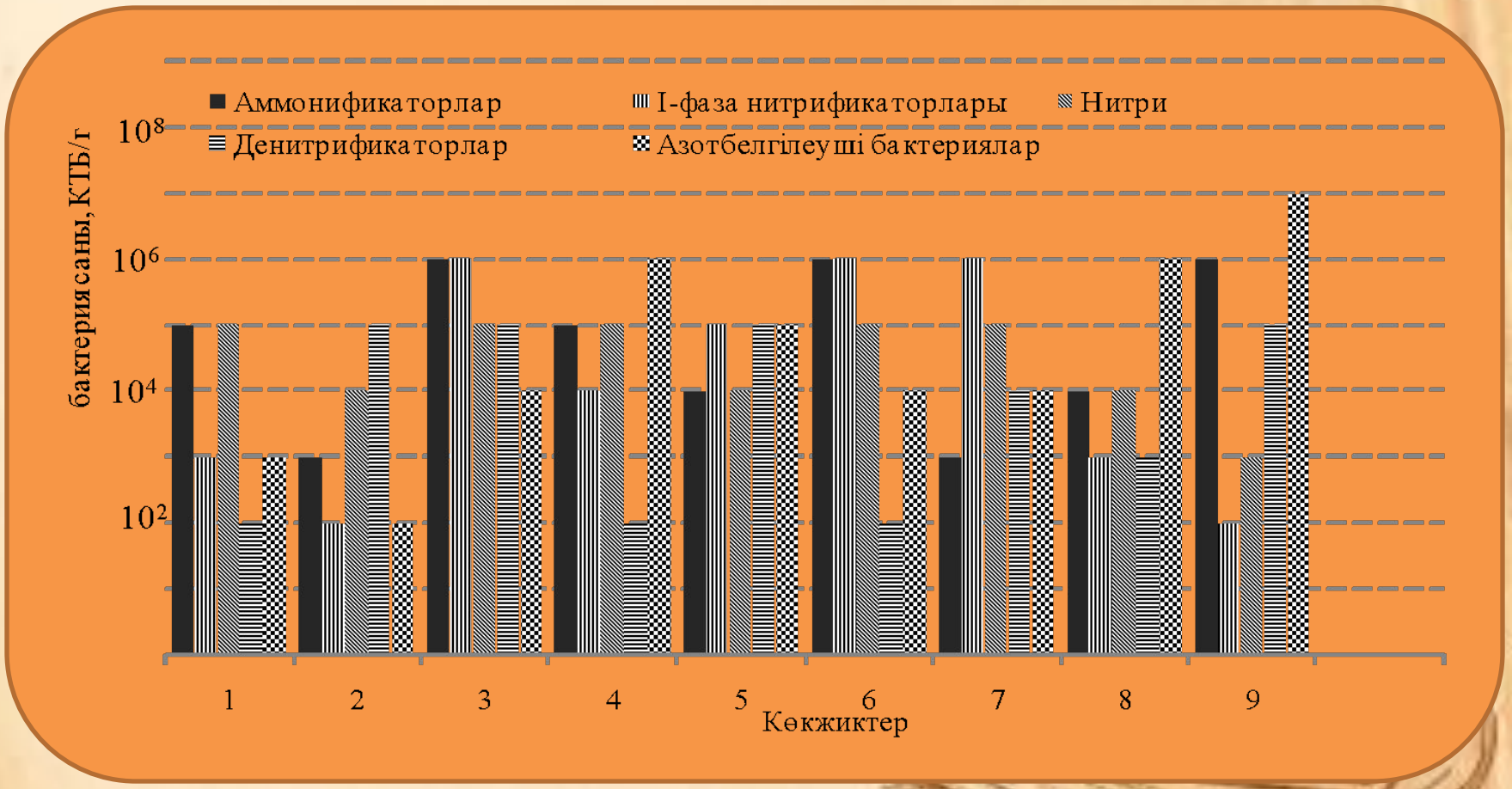
Бақыршық алтын-мышьяк кен орнында кен денесі мен шахта суларында азот айналымына қатысатын бактерияларды бөлу

Кен денесіне жататын түрлі жыныстардың типінде азот айналымына қатысатын физиологиялық бактерия топтарының анализі көрсетілген. 1-ші және 2-ші фазалы нитрификаторлар, аммонификаторлар, бейнитрификаторлар, азот белгілеуші микроорганизмдерді есепке алдық. Жалпы алғанда, осы топ бактерияларының сандық көрсеткіші 10^2-10^7 КОЕ/г аралығында ауытқыйды.

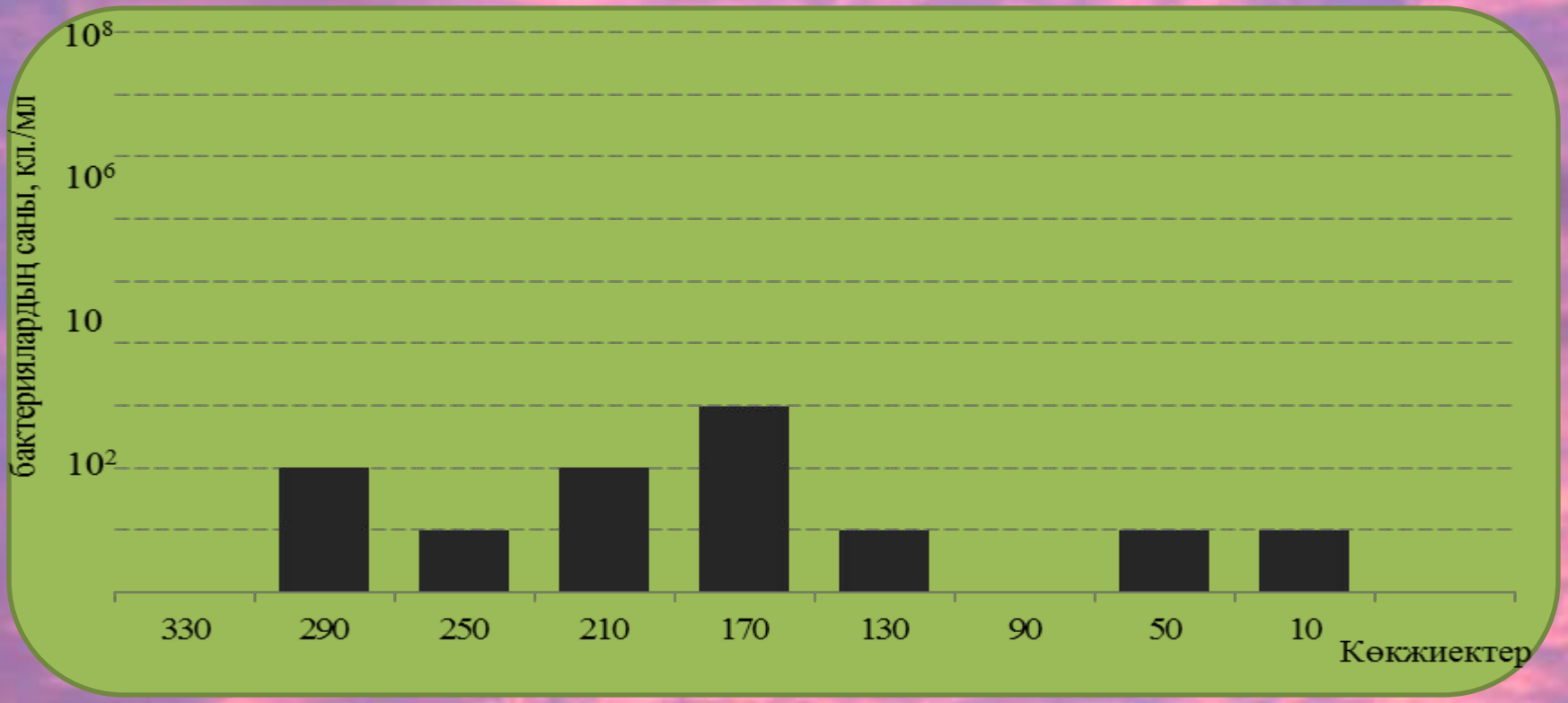


Шахта суларындағы аммонификациялаушы бактериялардың сандық көрсеткіші

Кен денесіндегі азот айналымына қатысатын бактериялардың сандық көрсеткіші

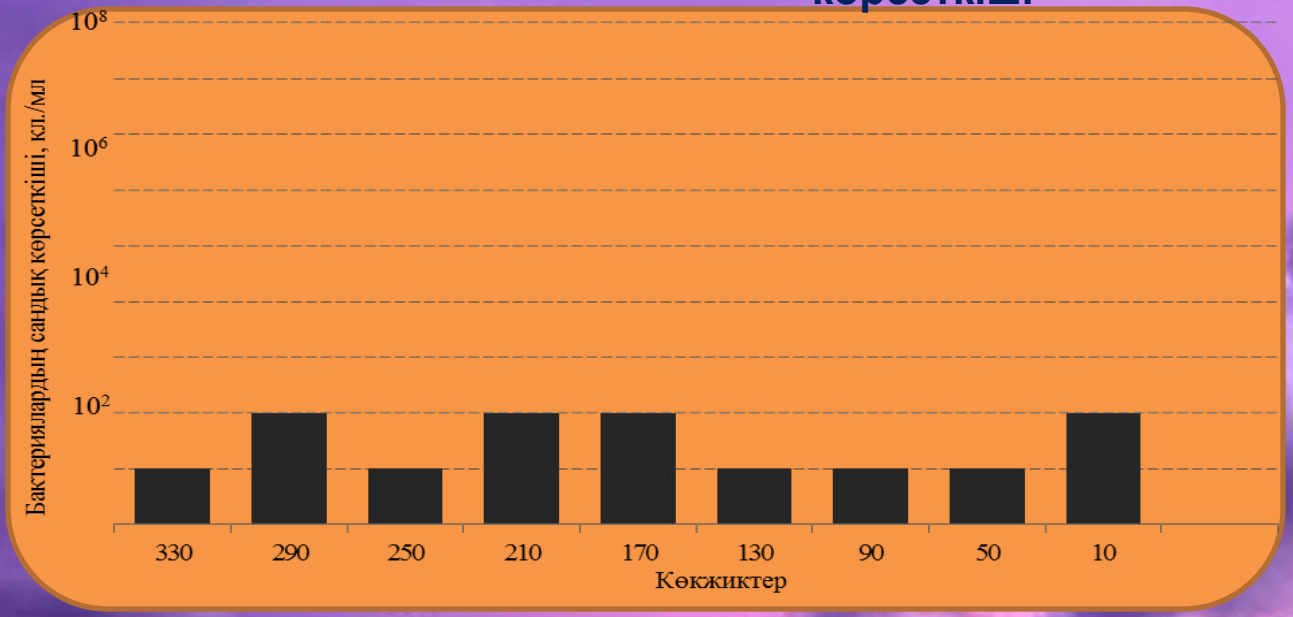


Бақыршық алтын-мышьяк кен орнындағы шахта сулары мен кен денесіндегі тионды бактериялардың таралуы

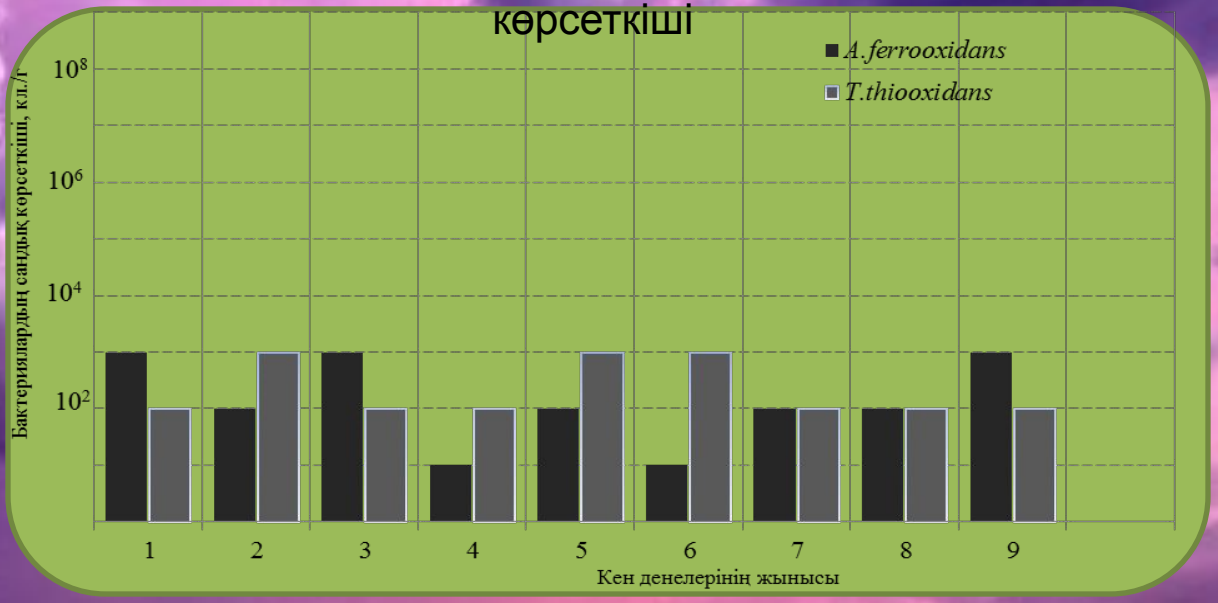


A. ferrooxidans бактерияларының шахта суларындағы сандық көрсеткіші

Th. thiooxidans бактерияларының шахта суарындағы сандық көрсеткіші

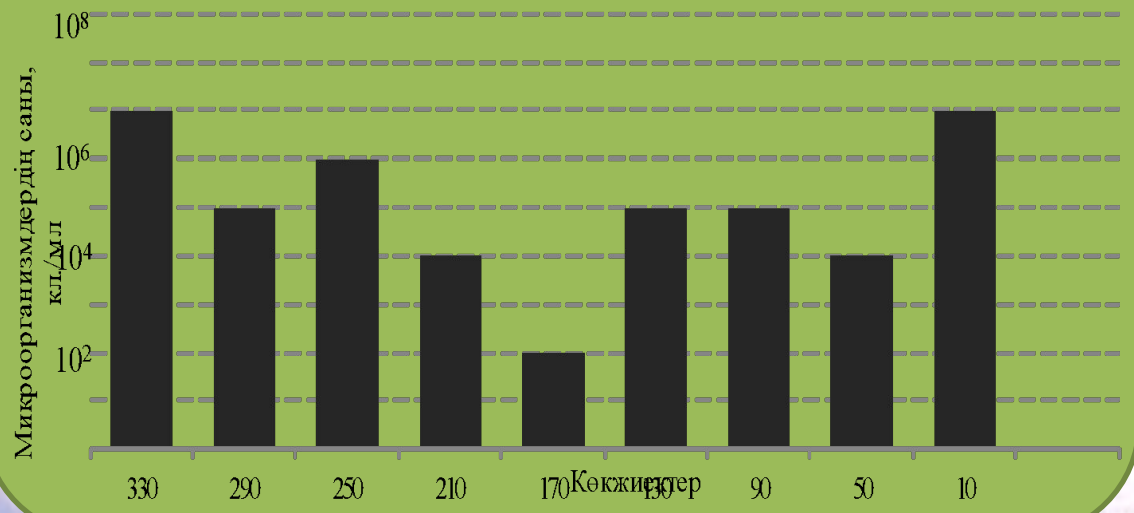


Тионды бактериялардың кен денесіндегі сандық көрсеткіші

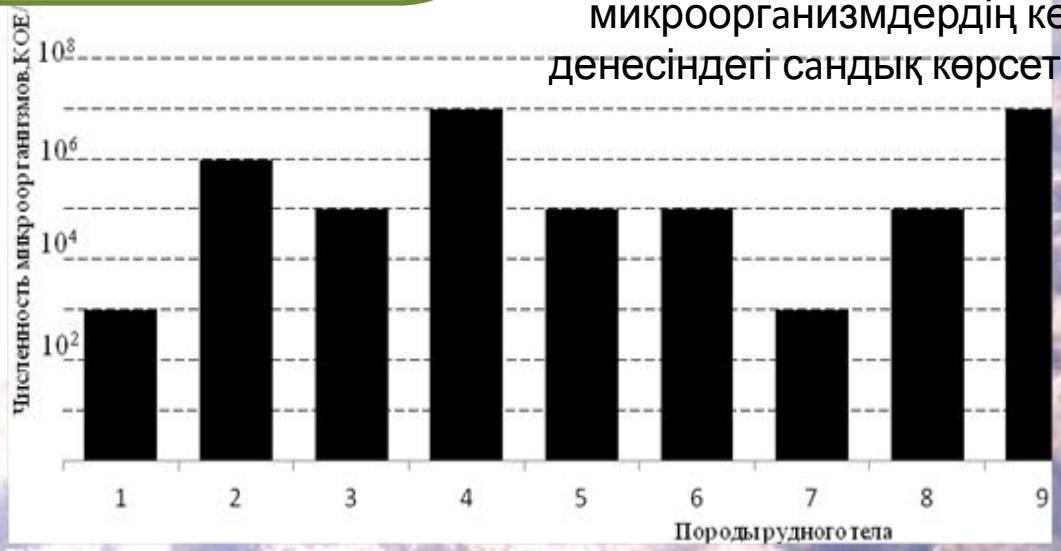


Бақыршық алтын-мышьяк кен орнындағы шахта суларында және кен денесінде сапрофитті бактериялардың таралуы

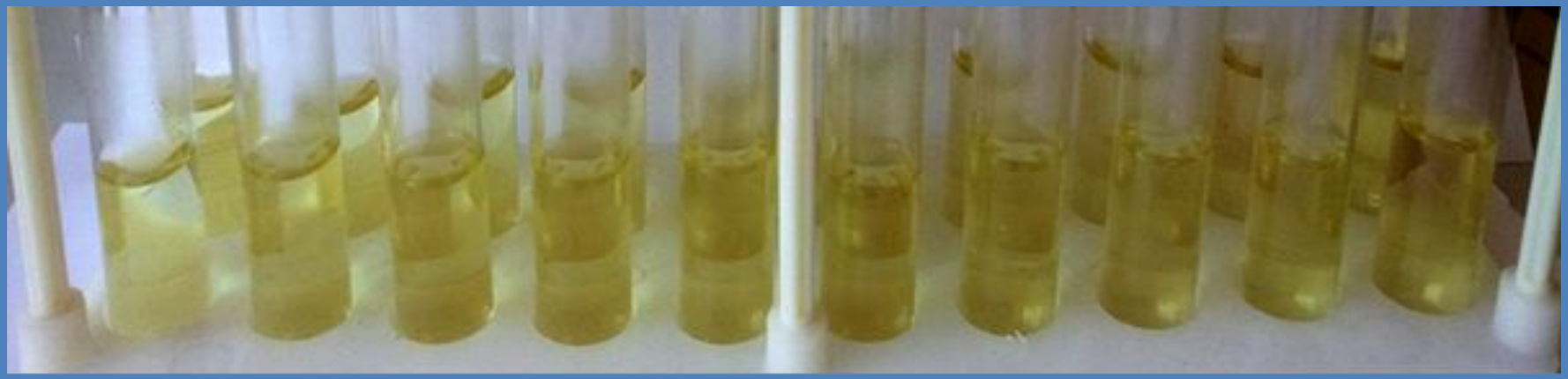
Шахта суларындағы сапрофитті микроорганизмдердің сандық көрсеткіші



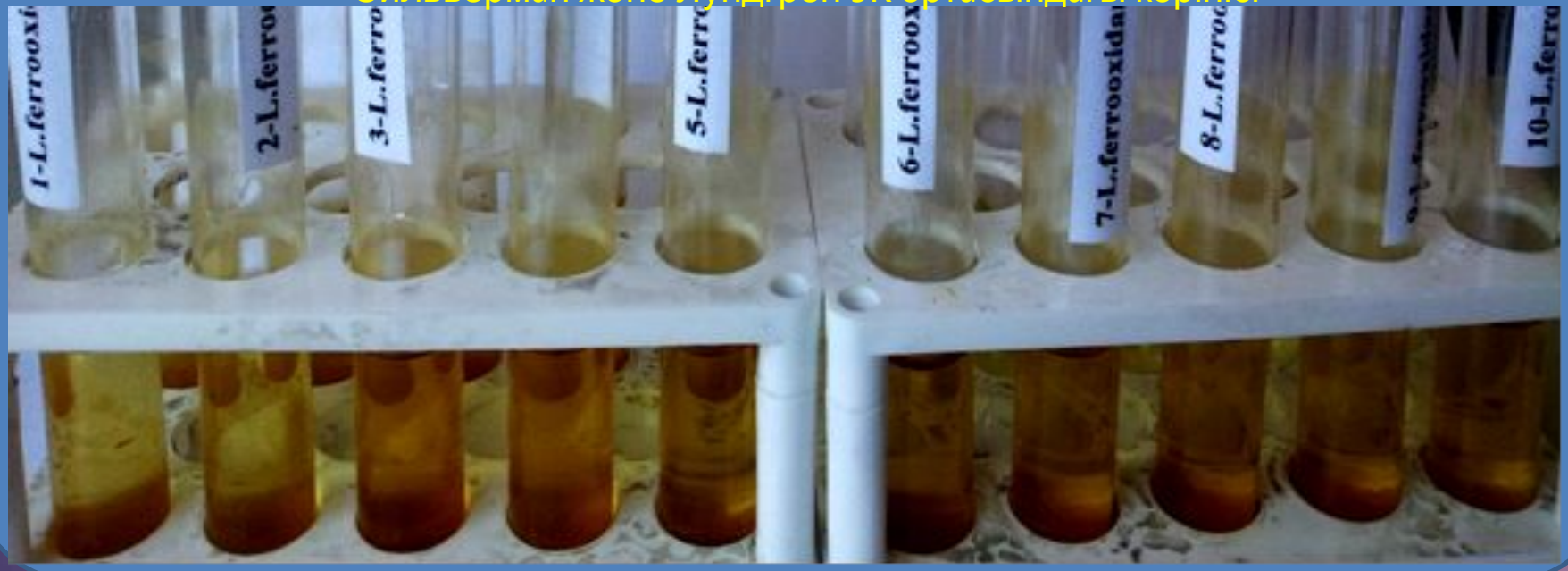
Сапрофитті микроорганизмдердің кен денесіндегі сандық көрсеткіші



Сильверман және Лундгрен 9К ортасы (бастапқы түрі)

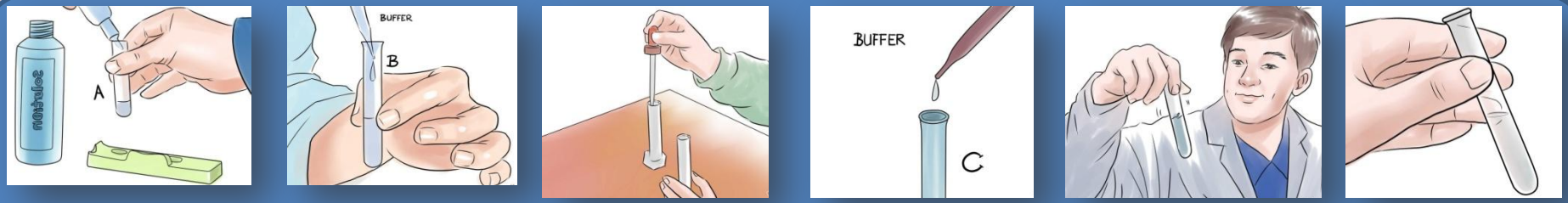


10 тәулік культивирлегеннен кейінгі *A.ferroxidans* бактериясының Сильверман және Лундгрен 9К ортасындағы көрінісі



Бөлініп алынған хемолитотрофты бактериялардың физиолого-биохимиялық қасиеттерін зерттеу

Бактериялардың титрі, 9К ортасында үш валентті темірдің жинақталу жылдамдығы, ортаның температурасы мен pH-на қатынасы анықталды. Бактериялардың титрін анықтау бойынша тәжірибелерді 7-10 тәулік бойы 28-30ºС температурада Сильверман және Лундгрен сұйық ортасында шекті сұйылтулар әдісімен жүргізілді. Ацидофильді бактериялардың 14 штаммынан 10 штаммы 7 тәулік ішінде 10^9-10^{10} кл/мл дейін жинақтайтыны анықталды, олар белсенді штаммдарға (1,4, 6, 8, 13, 14, 18, 23, 24, 25) жатқызылды. 3 штаммның титрі 10 тәулік ішінде 10^7 кл/мл (12, 16, 17) болды. 1 штамм (3) 10 тәулік ішінде салыстырмалы көп емес титрді көрсетті – 10^2 кл/мл.



Реттік сұйылту тәсілі

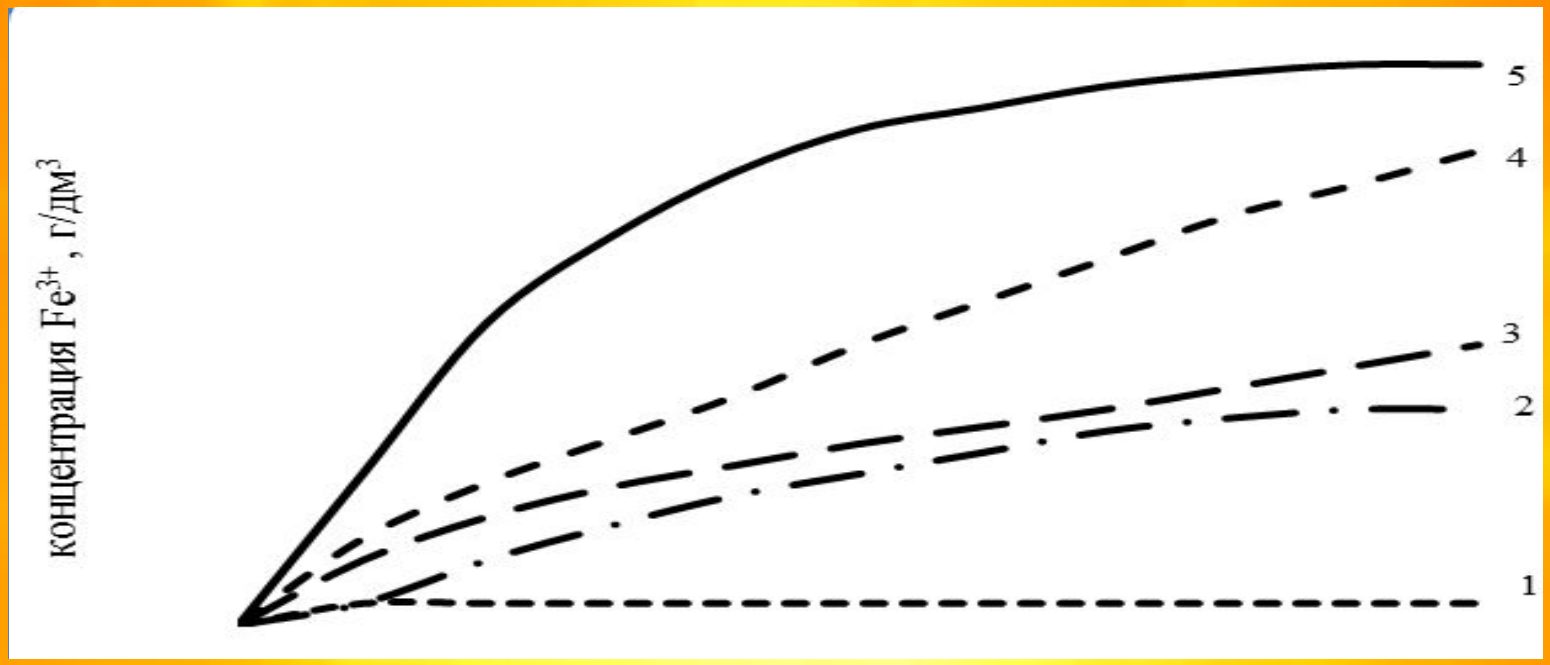
Бақыршық кен орнынан бөлініп алынған ацидофильді бактериялардың белсенділігі

№ штамма	Титр, кл/мл	Содержание ионов железа, мл		Скорость окисления Fe^{2+},М/дм^3·сек·10^{-7}
		Fe^{3+}	Fe^{2+}	
1	10^{10}	10,9	0	4,5
3	10^{2}	10,4	0	3,07
4	10^{10}	9,8	0	2,9
6	10^{10}	11,2	0	4,63
8	10^{10}	12,9	0	5,33
12	10^{7}	10,6	0	3,13
13	10^{10}	10,4	0	3,07
14	10^{10}	10,4	0	3,07
16	10^{7}	10,0	0	2,95
17	10^{7}	8,7	0	2,57
18	10^{10}	10,4	0	3,07
23	10^{10}	8,7	0	2,57
24	10^{10}	8,4	0	2,48
25	10^{10}	11,2	0	4,63
Контроль: среда 9К	-	0	12,0	-

Бөлініп алынған ацидофильді бактериялар штаммдарының Fe^{3+} жинақтау белсендігіне орта pH-ның әсері

№ штамма	Соотношение Fe^{3+} / Fe^{2+}, г/дм^3 при pH среды				
	0	1	2	3	4
1	5,6/3,4	3,64/4,2	5,6/0	5,6/0	1,12/1,12
3	2,24/2,8	3,4/6,2	5,04/5,04	4/2,24	1,12/3,36
4	2,24/2,8	3,4/6,2	5,04/5,04	4/2,24	1,12/3,36
6	1,12/5,04	5,6/0,56	2,8/0	1,4/1,4	1,12/2,2
8	2,24/2,8	3,4/6,2	5,04/5,04	4/2,24	1,12/3,36
12	4,2/3,36	2,8/2,24	2,24/2,24	0/0	0/2,8
13	4,2/7,84	7,8/2,2	6,2/0	2,8/0	2,8/1,96
14	5/2,32	5,9/0	2,5/4,76	0/1,4	0/0
16	2,24/2,8	3,4/6,2	5,04/5,04	4/2,24	1,12/3,36
17	2,24/2,8	3,4/6,2	5,04/5,04	4/2,24	1,12/3,36
18	3,64/4,68	2,8/5,6	7/0	5,6/0	5,6/0
23	2,24/2,8	3,4/6,2	5,04/5,04	4/2,24	1,12/3,36
24	2,24/2,8	3,4/6,2	5,04/5,04	4/2,24	1,12/3,36
25	3,64/3,36	5,04/0	7/0	6,44/0	0/0
Контроль	1,12/5,04				

Хемолитотрофты бактериялардың аса белсенді штаммдарын таңдау



1 – бақылау (9К ортасы); 2 – бастапқы дақыл; 3, 4, 5 – 1-ші, 2-ші, 3-ші егуден кейін.

Белсенділерге 8 штаммнан тұратын топ (1,6,8,12,13,14,18,25) жатқызылды, олар Сильверман және Лундгрен 9К ортасында 3-5 тәулік өсу барысында 10 г/дм^3 Fe^{3+} жинақтады. Аса күшті белсенділікті №8 штамм көрсетті, ол ортада 3 тәулік ішінде 12,88 г/дм^3 жинады. 19-ш суретте дақылдың 3 рет егудің нәтижелері, 3 рет егуден кейін ортада Fe^{3+} жинақталу белсенділігінің жоғарлауы көрсетілген. 1 – бақылау (9К ортасы); 2 – бастапқы дақыл; 3, 4, 5 – 1-ші, 2-ші, 3-ші егуден кейін.

ҚОРЫТЫНДЫ

- Микробиологиялық зерттеулер азот айналымына, темірдің және күкірттің қышқылдануына, сонымен қатар, кәдімгі сапрофитті бактерияларға қатысатын микроорганиздердің саны мен таралуымен байланысты болды. Шахта суларындағы аммонификациялаушы бактериялардың саны 10^1 – 10^4 кл./мл аралығына ауытқыған; *A. ferrooxidans* пен *Th. thiooxidans* - 10 - 10^3 кл./мл, сапрофитті бактериялар - 10^2 - 10^7 кл./мл. Бактериялардың таралу ареалы судың pH көрсеткішімен анықталды. Тионды бактериялар әлсіз қышқыл ортада (pH= 5,0), сапрофитті – бейтарап және әлсіз сілтілі ортада тарады.

- Кен денесіндегі аммонификациялаушы бактериялардың саны 10^3 - 10^6 КТБ/г аралығында ауытқыды, 1-ші фазалы нитрификаторлар – 10^2-10^6 КБТ/г,2-ші фазалы нитрификаторлар – 10^3-10^5 КБТ/г, денитрификаторлар - 10^2-10^5 КБТ/г, азотфиксациялаушы және сапрофитті бактериялар - 10^2-10^7 КБТ/г, *A. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans* - 10 - 10^3кл./г кен. Азот айналымына қатысатын микроорганизмдердің ареалы құмдақтың жоғары алевролит – құмдақ қабатымен, кремнийлі жыныстармен, көмірлі – сазды аргиллитпен анықталды. *A. ferrooxidans* бактериясының ең үлкен саны қалдықты және көмірлі – сазды жыныстарда кездсеті. Сазды аршу жыныстары, сазды – құмдақ, күлді туф, кремнийлі жыныстарда *Th. Thiooxidans.* Бактериясы өте көп кездесті. Тионды бактериялардың табысы бар жыныстар әлсіз қышқыл реакция ортасына ие болды. Тионды бактериялардың жоғары саны кездесетін шахта сулары мен кен денесінің сынамаларында жинақтаушы культуралар алынды, олардан 6 таза тионды бактериялардың культурасы бөлініп алынды.

- Бөлініп алынған бактериялардың темірді қышқылдандыру және күкірт қосындыларын қышқылдау қабілетіне байланысты, және аэробты автотрофты метаболизміне байланысты оларды алдын ала сәйкестендірілген *Acidithiobacillus ferrooxidans* түріне жатқыздық.

Назар аударғандарынызға рахмет !!!