

УДК 579.66+663.18

БИОВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ МЕДНО-ЦИНКОВОГО КОНЦЕНТРАТА ПРИ РАЗНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМАХ

© 2024 г. А. Г. Булаев^{а, *}, А. В. Артыкова^а, Ю. А. Елкина^а, А. В. Колосов^а,
А. В. Нечаева^а, А. В. Белецкий^а, В. В. Кадников^а, В. С. Меламуд^а, А. В. Марданов^а

^аФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071, Россия

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

Поступила в редакцию 03.06.2024 г.

После доработки 14.06.2024 г.

Принята к публикации 17.06.2024 г.

Целью данной работы было изучение процесса биовыщелачивания мышьяксодержащего полиметаллического концентрата, содержащего 16.0% Cu, 5.3% Zn и 1.7% As, в разных условиях. Были изучены зависимость выщелачивания цветных металлов от температуры процесса (45 и 55°C) и использования в качестве источников углерода для микробной популяции биореакторов CO₂ и мелассы, а также различия в составе микробных популяций, формирующихся в разных условиях. Было показано, что повышение температуры способствовало увеличению выщелачивания как меди, так и цинка. При более высокой температуре (55°C) применение дополнительных источников углерода значительно влияло на извлечение металлов, тогда как при 45°C извлечение металлов незначительно различалось в разных вариантах эксперимента. Изучение микробных популяций биореакторов показало, что и изменение температуры, и дополнительные источники углерода влияли на микробные популяции, которые сформировались в процессе биовыщелачивания. При использовании диоксида углерода при 45°C общая численность клеток микроорганизмов была в 1.4 раза выше, чем в других вариантах эксперимента, а при 55°C – в 8 раз. Кроме того, наблюдались изменения в соотношениях между микроорганизмами микробных популяций. При 45°C в микробных популяциях преобладали железоокисляющие гетеротрофные археи р. *Ferroplasma*, гетеротрофные археи р. *Cuniculiplasma*, сероокисляющие автотрофные бактерии р. *Acidithiobacillus*, миксотрофные железо- и сероокисляющие бактерии р. *Sulfobacillus*. При 55°C в микробных популяциях преобладали бактерии р. *Sulfobacillus* и железоокисляющие бактерии р. *Leptospirillum*, при этом использование диоксида углерода привело к доминированию бактерий р. *Sulfobacillus*, доля последовательностей фрагментов генов 16S рРНК которых составляла 99.9%.

Ключевые слова: биовыщелачивание, полиметаллические сульфидные концентраты, медь, цинк, ацидофильные микроорганизмы, метабаркодинг

DOI: 10.31857/S0026365624060082

Для получения цветных металлов (главным образом меди) биовыщелачивание используется достаточно широко, но в промышленном масштабе обычно применяется кучное биовыщелачивание бедных медных руд, содержащих вторичные сульфидные минералы меди, такие как ковеллин (CuS) и халькозин (Cu₂S), которые относительно легко подвергаются выщелачиванию (Johnson, Roberto, 2023; Vera Véliz et al., 2023). Реже для получения цветных металлов применяются процессы биовыщелачивания в реакторах с механическим перемешиванием (stirred tank reactor bioleaching, STRB), так как такие процессы требуют больших затрат по сравнению с кучным биовыщелачиванием. Поэтому процессы окисления в биореакторах обычно применяются для переработки упорных золотосодержащих концентратов,

что обеспечивает высокую рентабельность применения технологий реакторного биоокисления (Mahmoud et al., 2017; Belyi, Tupikina, 2023; van Niekerk et al., 2023). На данный момент существует ограниченный опыт применения биовыщелачивания в реакторах для получения цветных металлов, например, биовыщелачивание бедного кобальтсодержащего пиритного концентрата (Morin, d’Hugues, 2007), никелевого концентрата, содержащего мышьяк (Gericke et al., 2023), медного концентрата с высоким содержанием цинка (Gericke et al., 2009).

Причиной использовать реакторное биоокисление, а не пирометаллургические технологии для переработки концентратов, как цветных металлов, так и золота, зачастую является либо присутствие в концентрате токсичных примесей,

таких как мышьяк (Gericke et al., 2023; van Niekerk et al., 2023), либо высокое содержание нескольких металлов (например, и меди, и цинка) в силу особенностей минералогии руды, которые делают невозможным получение высококачественных концентратов меди и цинка с низким содержанием попутных компонентов (Gericke et al., 2009).

Высококачественные медные концентраты, получаемые из сульфидных руд, обычно содержат халькопирит (CuFeS_2) — наиболее распространенный медьсодержащий сульфидный минерал, не содержат большого количества примесей и поэтому могут эффективно перерабатываться пирометаллургическими методами без высоких экологических рисков (Watling, 2006). По этой причине для медных концентратов такого типа фактически отсутствует практическая необходимость поиска альтернативных технологий для их переработки. При этом существует проблема переработки некоторых сульфидных медных и полиметаллических (медно-цинковых и др.) руд, специфический минеральный состав которых либо не позволяет получать концентраты, пригодные для пирометаллургической переработки, либо вынуждает перерабатывать руды с дополнительными затратами. Например, это могут быть руды и концентраты с высоким содержанием мышьяка, полученные из сульфидных руд, содержащих теннантит ($\text{Cu}_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}$) и энаргит (Cu_3AsS_4). Их переработка требует применения специальных систем газоочистки во избежание выбросов высокотоксичных летучих As_2O_3 и As_4O_6 (Filippou et al., 2007; Diaz et al., 2018). Кроме того, некоторые полиметаллические руды с высоким содержанием мышьяка не могут быть эффективно переработаны из-за мелкозернистого срастания минералов меди и цинка с пиритом (Васильева, Бодуэн, 2023). Таким образом, для переработки некоторых типов медных руд и получаемых из них концентратов перспективным является разработка новых технологий переработки, в частности, гидрометаллургических, которые позволяют извлекать целевые и попутные компоненты в раствор, избегая образования токсичных газовых выбросов (например, оксидов мышьяка) (Filippou et al., 2007; Васильева, Бодуэн, 2023). Поэтому потенциально перспективным методом для переработки медных концентратов с высоким содержанием вредных примесей (цинка и мышьяка) может являться и биовыщелачивание, в том числе реакторное (Diaz et al., 2018).

Нужно отметить, что процессы биовыщелачивания таких минералов, как халькопирит и сфалерит (ZnS), достаточно хорошо изучены. В частности, показано, что скорость биовыщелачивания халькопирита в значительной степени зависит от температуры и возрастает при ее увеличении (Rodriguez et al., 2003a; Hedrich et al., 2018). Сфалерит легче подвергается биовыщелачиванию по сравнению с халькопиритом и другими минералами меди

(Jyothi et al., 1989), а при биовыщелачивании концентратов, содержащих сфалерит и минералы меди (халькопирит, теннантит), цинк выщелачивается быстрее по сравнению с медью (Bulaev et al., 2020; Елкина и соавт., 2021). Данных о биовыщелачивании таких минералов, как энаргит и теннантит, относительно немного. В частности, данные о влиянии температуры на биовыщелачивание мышьяк-содержащих минералов (энаргита, теннантита) (Munoz et al., 2006; Елкина и соавт., 2020) являются спорными. В работе (Munoz et al., 2006) сравнивали биовыщелачивание энаргита при 35 и 68°C, и было показано, что скорость биовыщелачивания меди возрастала при увеличении температуры. В нашей предыдущей работе (Елкина и соавт., 2020) мы проводили сравнительные исследования биовыщелачивания халькопирита, энаргита и теннантита при температурах 40–60°C. Скорость выщелачивания меди из халькопирита зависела от температуры, достигая максимума при температурах 55–60°C, тогда как в случае биовыщелачивания меди из теннантита и энаргита при увеличении температуры не наблюдалось возрастания скорости выщелачивания меди.

В работе (Roberto, Arévalo Lara, 2023) был обобщен опыт полупромышленных испытаний по кучному биовыщелачиванию руды, содержащей 0.87% Cu (при этом 81% меди содержался в энаргите, а остальная часть — в основном, в халькозине и ковеллине). Было показано, что биовыщелачивание позволило извлечь в раствор до 95% меди из вторичных сульфидных минералов и до 60% меди из энаргита, что указывает на относительную упорность энаргита к биовыщелачиванию.

В работах (Oyama et al., 2020; Okibe et al., 2022) исследовали реакторное биовыщелачивание (при 45°C) концентратов, содержащих энаргит и пирит в различных соотношениях, в присутствии активированного угля. Было показано, что в условиях, которые обеспечивали относительно низкий Eh среды (присутствие активированного угля либо относительно низкое содержание пирита), выщелачивание меди увеличивалось. Таким образом, было показано, что снижение Eh среды ниже определенного уровня позволяет ускорить выщелачивание меди из энаргита, что ранее было показано и для халькопирита (Nakazawa et al., 1998). В работе (Kondo et al., 2024) исследовали аналогичные закономерности для концентрата, содержащего теннантит, проводя биовыщелачивание в колбах и в реакторе при 45°C. Было показано, что присутствие активированного угля при выщелачивании теннантита также позволило в некоторой степени увеличить извлечение меди, однако эффект различался при проведении эксперимента в разных условиях. При этом в работе (Bulaev et al., 2019) было показано, что зависимость выщелачивания теннантита и энаргита от присутствия хлорид-иона в среде

отличалась от зависимости выщелачивания халькопирита: биовыщелачивание меди из халькопирита ускорялось в присутствии 100 мМ хлорида, тогда как выщелачивание меди из теннантита и энрагита ингибировалось в присутствии хлорид-иона.

Таким образом, анализ работ по биовыщелачиванию минералов теннантита и энрагита, а также концентратов, содержащих данные минералы, показал, что биовыщелачивание является перспективным методом для переработки таких концентратов, однако имеющаяся в литературе информация по зависимости скорости биовыщелачивания мышьяк-содержащих минералов меди является неполной, а зачастую противоречивой.

Ранее в наших работах было показано, что различные источники углерода могут влиять на биоокисление пирит-арсенопиритовых концентратов при повышенной температуре (Bulaev, Boduen, 2022; Bulaev et al., 2023).

Целью данной работы было изучение процесса биовыщелачивания мышьяк-содержащего полиметаллического концентрата, содержащего теннантит, халькопирит и сфалерит, в разных условиях. Была изучена зависимость выщелачивания цветных металлов от температуры процесса (45 и 55°C) и использования в качестве источников углерода для микробной популяции биореакторов CO₂ и мелассы. В данной работе исследовали влияние

на биовыщелачивание медного концентрата источников углерода, поскольку они также могут увеличивать скорости биовыщелачивания меди и цинка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали сульфидный концентрат, содержащий 16.0% меди, 5.3% цинка, 1.7% мышьяка, 28.0% железа, 33.2% сульфидной серы. Основными минералами концентрата были халькопирит (CuFeS₂), теннантит (Cu₁₂As₄S₁₃), сфалерит (ZnS), пирит (FeS₂), а также кварц (SiO₂) (рисунок).

Процесс биоокисления концентрата проводили в непрерывном режиме в лабораторных реакторах объемом 2.5 л при следующих параметрах: аэрация – 5 л/мин, скорости вращения турбинной мешалки – 500 об./мин, температура в разных вариантах эксперимента: 45 и 55°C. Плотность пульпы (Т : Ж) составляла 1 : 10 (100 г концентрата на 1000 мл жидкой среды). Время пребывания в непрерывном режиме составляло 10 сут.

Для проведения экспериментов была использована жидкая питательная среда, содержащая минеральные соли (г/л): (NH₄)₂SO₄ – 0.750, KCl – 0.050, MgSO₄ × 7H₂O – 0.125, K₂HPO₄ – 0.125,

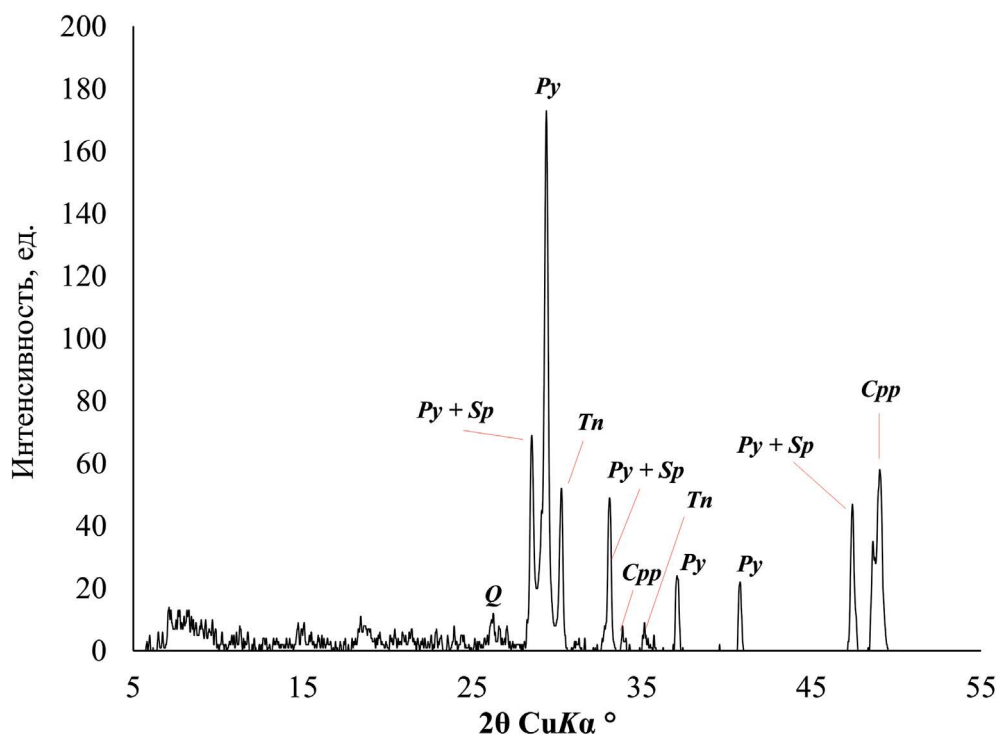


Рисунок. Результаты анализа минерального состава концентрата рентгенографическим фазовым методом (дифрактометр ДРОН-2.0 (“Буревестник”, Россия), Cu-Kα); Cpp – халькопирит, Q – кварц, Py – пирит, Sp – сфалерит, Tn – теннантит.

дистиллированная вода — 1.0 л. Начальный pH устанавливали, добавляя в среду 5 мл/л концентрированной серной кислоты. После внесения концентрата в среду пульпу выдерживали 1 сут без инокулята для стабилизации pH.

Для определения влияния дополнительных источников углерода на процесс биоокисления использовали диоксид углерода и мелассу. В контрольный реактор не вносили каких-либо дополнительных источников углерода; в данном случае источником углерода служил диоксид углерода, который поступал с воздухом при аэрации. В пульпу первого реактора осуществляли подачу CO₂ (примерно 0.01 л/мин) с помощью редукторов с ротаметром У-30П (“Brima”, КНР). В пульпу второго вносили 0.02% мелассы (в начале эксперимента, а также при проведении процесса в непрерывных условиях).

В качестве инокулята использовали микробную культуру, которую выращивали в реакторе, аналогичном описанному выше, в периодическом режиме при 45°C. Инокулят вносили в реакторы в таком объеме, чтобы начальная численность клеток микроорганизмов в жидкой фазе составляла 1×10^8 кл./мл. Состав инокулята представлен в табл. 1 (раздел “Результаты и обсуждение”).

Для анализа активности процесса биовыщелачивания отбирали пробы жидкой фазы пульпы реакторов. Во всех отобранных пробах измеряли pH, окислительно-восстановительный потенциал (*Eh*), содержание двух- и трехвалентного железа, меди и цинка. Содержание ионов железа определяли трилонометрическим титрованием. Концентрацию ионов меди и цинка определяли с помощью атомно-адсорбционного спектрометра PerkinElmer 3100 (“PerkinElmer”, США). По усредненной концентрации ионов металлов (меди и цинка) в жидкой фазе в проточном режиме рассчитывали степень извлечения металлов в жидкую фазу, что является основным параметром, который позволяет сравнить эффективность процесса биовыщелачивания в различных условиях.

Количественный учет микроорганизмов проводили методом прямого счета клеток в световом микроскопе Ampival ($\times 1600$) (“Carl Zeiss”, Германия) с фазово-контрастной приставкой.

Процесс биовыщелачивания проводили последовательно при каждой температуре. Эксперимент по биовыщелачиванию начинали при температуре 45°C. После инокуляции проводили адаптацию микробной популяции к концентрату. Для этого после инокуляции начинали процесс биовыщелачивания в периодическом режиме, проводя мониторинг параметров жидкой фазы. Процесс проводили в периодическом режиме до тех пор, пока не происходила стабилизация параметров жидкой фазы (переставал снижаться pH, переставали расти *Eh*, концентрации ионов железа и численность клеток микроорганизмов). Далее начинали проводить процесс

в непрерывном режиме. После стабилизации параметров в непрерывном режиме и времени, необходимым для смены объема пульпы, начинали сбор биокека (твердых остатков биоокисления). Далее переходили к проведению эксперимента по биовыщелачиванию при 55°C. Для этого температуру пульпы в реакторе поднимали до 55°C и проводили адаптацию микробной популяции в периодическом режиме таким же образом, как при 45°C, а затем проводили биоокисление при 55°C в непрерывном режиме.

В ходе работы определяли таксономический состав микробных сообществ, сформированных в разных условиях в биореакторах. Препарат метагеномной ДНК выделяли с помощью Power Soil DNA Isolation Kit (“MO BIO Laboratories Inc.”, США). Состав сообщества прокариот определяли на основании анализа последовательностей варибельного региона V3–V4 гена 16S рРНК, амплифицированного с помощью ПЦР с использованием праймеров PRK341F (5'-CCTACGGGRBGCASCAG-3') и PRK806R (5'-GGACTACYVGGGTATCTAAT-3') (Frey et al., 2016). ПЦР-фрагменты были баркодированы с помощью Nextera XT Index Kit v.2 (“Illumina”, США) и очищены с использованием Agencourt AMPure beads (“Beckman Coulter”, США). Концентрация полученных ПЦР продуктов была определена с помощью Qubit dsDNA HS Assay Kit (“Invitrogen”, США). Затем ПЦР-фрагменты были смешаны в эквимольных количествах и секвенированы на Illumina MiSeq (2 $\times$ 300 нт с обоих концов). Парные чтения были объединены с использованием FLASH v.1.2.11 (Magoc, Salzberg, 2011). Полученные последовательности были кластеризованы в операционные таксономические единицы (ОТЕ) при 97% идентичности с помощью программы Usearch (Edgar, 2010); низкокачественные чтения, химерные и единичные последовательности были удалены при кластеризации.

Таксономическая идентификация ОТЕ была выполнена по базе SILVA v.138 с использованием алгоритма VSEARCH (Rognes et al., 2016). Всего было получено 740256 чтений. Полученные последовательности были депонированы в базе данных NCBI Sequence Read Archive (SRA) в рамках проекта PRJNA976529. Об изменении относительной численности разных групп микроорганизмов в популяциях судили по изменению доли последовательностей фрагментов генов 16S рРНК, относящихся к той или иной группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показали, что применение дополнительных источников углерода в разной степени повлияло на процесс биовыщелачивания при 45 и 55°C (табл. 1–4).

Таблица 1. Доля последовательностей фрагментов генов 16S рРНК (%) ацидофильных микроорганизмов в микробных популяциях биореакторов

Группа микроорганизмов	Инокулят	45°C						55°C					
		Контроль		CO ₂		Меласса		Контроль		CO ₂		Меласса	
		Начало проточного режима	Окончание проточного режима	Начало проточного режима	Окончание проточного режима	Начало проточного режима	Окончание проточного режима	Начало проточного режима	Окончание проточного режима	Начало проточного режима	Окончание проточного режима	Начало проточного режима	Окончание проточного режима
<i>Ferroplasma</i>	2.66	21.85	12.40	5.05	42.54	45.33	16.84	12.59	0.93	15.05	0.01	8.70	2.95
<i>Acidiplasma</i>	0.00	0.01	0.00	0.45	0.00	0.04	0.00	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10
<i>Cuniculiplasma</i>	10.61	65.56	31.89	5.09	38.59	37.60	33.94	7.69	0.41	0.96	0.03	5.94	5.03
“ <i>Candidatus</i> Carboxiplasma ferriphilum” (A-plasma)	0.01	1.47	1.60	0.00	0.65	6.58	0.37	4.35	0.24	0.27	0.00	1.65	1.08
<i>Acidithiobacillus</i>	62.84	5.07	0.48	1.15	5.36	6.07	9.86	1.86	0.17	0.63	0.00	4.14	6.31
<i>Acidiferrobacter</i>	0.01	0.02	0.00	0.51	0.00	0.00	0.03	0.05	0.00	0.02	0.00	0.14	0.00
<i>Acidiphilium</i>	0.00	0.02	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.53	0.00
<i>Sulfobacillus</i>	22.83	4.80	53.53	2.43	12.56	3.48	38.52	24.46	45.01	79.85	99.88	25.84	39.17
<i>Leptospirillum</i>	0.03	0.02	0.01	1.53	0.04	0.38	0.13	31.66	40.85	2.44	0.05	31.51	44.05
<i>Ferrimicrobium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00

В периодическом режиме при 45°C биовыщелачивание проводили в течение 25 сут. Использование CO₂ и мелассы позволило извлечь в 1.9 и 1.8 раза больше меди соответственно а также в 1.8 раза больше цинка, чем в контроле (концентрации меди составили 7.88, 7.37 и 4.10 г/л; концентрации цинка – 4.53, 4.46 и 2.48 г/л соответственно) (табл. 2). Кроме того, в жидкой фазе пульпы реакторов, в которых использовались дополнительные источники углерода, также были выше концентрации ионов железа.

В непрерывном режиме различия в выщелачивании меди и цинка были менее значительными (табл. 3). Наименьшая концентрация меди и цинка была в случае использовании мелассы – 4.01 и 2.86 г/л соответственно. В контроле концентрация меди и цинка в проточном режиме составила 4.37 и 2.82 г/л. При этом наибольшие концентрации меди и цинка были в пульпе реактора, в котором использовали CO₂ в качестве источника углерода – 4.49 и 3.39 г/л.

Таким образом, при 45°C использование CO₂ повлияло на извлечение металлов в непрерывном режиме, однако влияние было незначительным в случае меди, тогда как на извлечение цинка влияние диоксида углерода было более значительным. Извлечение меди в контроле, при использовании

CO₂ и мелассы в непрерывном режиме составило 27.3, 28.1 и 25.1 %; а цинка – 53.2, 64.0 и 54.9% соответственно (табл. 4).

Нужно отметить, что при 45°C во всех экспериментах численность микроорганизмов была высокой, pH был низким (1.1–1.2), для его поддержания не требовалось внесения в среду серной кислоты, Eh жидкой фазы пульпы был выше 800 мВ, а ионы двухвалентного железа в пульпе практически отсутствовали. Эти параметры косвенно свидетельствуют о высокой окислительной активности микробных популяций, однако выщелачивание меди и цинка было не очень высоким в непрерывном режиме.

После проведения биовыщелачивания в непрерывном режиме при 45°C, микробные популяции адаптировали в периодическом режиме к температуре 55°C на протяжении 15 сут. Для этого из реакторов было слито 50% пульпы и заменено на соответствующий объем жидкой среды и навеску концентрата. Несмотря на то, что за период адаптации во всех вариантах увеличилась концентрация в среде как меди, так и цинка, а также суммарная концентрация ионов железа, концентрация ионов Fe³⁺ либо почти не увеличилась, либо даже снизилась (в контрольном варианте) (табл. 2). При этом концентрация ионов Fe²⁺ увеличилась во всех

Таблица 2. Параметры жидкой фазы биореакторов при проведении биовыщелачивания в периодическом режиме

Температура, °C	Источник углерода	Этап эксперимента	pH	Eh, мВ	Концентрация, г/л					Численность микроорганизмов, кл./мл × 10 ⁷
					Fe ³⁺	Fe ²⁺	Fe _{сумм}	Cu	Zn	
45	Контроль	Начало	1.48	652	2.24	2.31	4.55	2.72	2.63	10.0
		Окончание	1.04	803	16.80	0.00	16.80	4.10	2.48	85.1
	CO ₂	Начало	1.48	654	1.82	1.96	3.78	2.39	2.43	10.0
		Окончание	1.32	780	18.20	0.14	18.34	7.88	4.53	5.0
	Меласса	Начало	1.48	655	1.89	2.66	4.55	2.56	2.59	10.0
		Окончание	1.06	839	21.98	0.00	21.98	7.37	4.46	223.7
55	Контроль	Начало	1.26	750	9.52	0.14	9.66	1.65	1.06	50.6
		Окончание	1.46	667	6.72	5.60	12.32	6.02	4.10	1.7
	CO ₂	Начало	1.14	790	12.60	0.42	13.02	2.05	1.49	71.3
		Окончание	1.13	753	13.72	4.20	17.92	6.01	2.84	10.7
	Меласса	Начало	1.26	766	10.92	0.70	11.62	1.75	1.26	52.7
		Окончание	1.24	739	10.22	4.20	14.42	5.31	2.79	5.6

Таблица 3. Параметры жидкой фазы биореакторов при проведении биовыщелачивания в непрерывном режиме

Температура, °C	Источник углерода	pH	Eh, мВ	Концентрация, г/л					Численность микро- организмов, кл/мл × 10 ⁷	Расход H ₂ SO ₄ , кг/тону концентра
				Fe ³⁺	Fe ²⁺	Fe _{сумм}	Cu	Zn		
45	Контроль	1.20 ± 0.03	825 ± 14	16.39 ± 1.09	0.00	16.39 ± 1.09	4.37 ± 0.50	2.82 ± 0.33	101.2 ± 20.9	0
	CO ₂	1.10 ± 0.05	840 ± 12	19.52 ± 0.87	0.00	19.52 ± 0.87	4.49 ± 0.20	3.39 ± 0.22	142.6 ± 26.5	0
	Меласса	1.18 ± 0.04	833 ± 12	17.29 ± 0.76	0.00	17.29 ± 0.76	4.01 ± 0.27	2.86 ± 0.17	105.3 ± 17.8	0
55	Контроль	1.78 ± 0.17	601 ± 3	2.39 ± 1.52	7.04 ± 1.17	9.43 ± 2.48	6.90 ± 0.89	3.09 ± 0.43	0.9 ± 0.1	66.7
	CO ₂	1.60 ± 0.15	730 ± 14	8.24 ± 0.68	0.63 ± 0.51	8.87 ± 0.53	5.76 ± 0.23	4.84 ± 0.20	7.3 ± 2.1	150.0
	Меласса	2.01 ± 0.28	631 ± 13	4.14 ± 1.61	4.47 ± 1.83	8.61 ± 2.85	8.35 ± 0.56	3.05 ± 0.26	0.9 ± 0.2	116.0

Таблица 4. Извлечение меди и цинка в жидкую фазу при проведении биовыщелачивания в непрерывном режиме

Температура, °С	Источник углерода	Cu	Zn
45	Контроль	27.29 ± 3.10	53.19 ± 6.18
	CO ₂	28.07 ± 1.28	63.98 ± 4.13
	Меласса	25.08 ± 1.68	53.88 ± 3.30
55	Контроль	43.10 ± 3.58	58.33 ± 8.20
	CO ₂	36.01 ± 1.45	91.39 ± 3.86
	Меласса	52.21 ± 3.52	57.60 ± 4.92

реакторах. Это свидетельствует о том, что скорость биоокисления ионов железа при 55°С была ниже, чем скорость окисления минералов при взаимодействии с ионами Fe³⁺, что, в свою очередь, приводило к накоплению ионов Fe²⁺ в среде.

При 55°С в непрерывном режиме степень извлечения металлов во всех вариантах была выше, чем при 45°С, при этом влияние разных источников углерода на процесс биовыщелачивания было значительнее, чем при 45°С. Нужно также отметить, что эффект на выщелачивание меди и цинка различался. Так, в непрерывном режиме при 55°С концентрация меди составляла в контроле 6.90 г/л; при использовании CO₂ – 5.76 г/л; при использовании мелассы – 8.35 г/л. Влияние источников углерода на выщелачивание цинка полностью отличалось от влияния на выщелачивание меди, концентрация цинка в контроле составила 3.09 г/л; при использовании CO₂ – 4.84 г/л; при использовании мелассы – 3.05 г/л. Извлечение меди в контроле, при использовании CO₂ и мелассы в непрерывном режиме составило 43.1, 36.0 и 52.2%, тогда как извлечение цинка составило 58.3, 91.4 и 57.6% соответственно (табл. 4). Таким образом, использование диоксида углерода позволило значительно увеличить выщелачивание цинка, как по сравнению с другими реакторами при проведении процесса биовыщелачивания при 55°С, так и по сравнению с экспериментами при 45°С. Несмотря на это, выщелачивание меди при 55°С при использовании диоксида углерода снижалось. Выщелачивание меди при 55°С было максимальным при использовании мелассы, что отличалось от результатов, полученных при 45°С.

При 55°С во всех вариантах эксперимента активность процесса окисления восстановленных соединений серы была очевидно ниже, чем при 45°С: поддержание pH во всех реакторах требовало внесения серной кислоты, при этом значения pH были выше, чем при более низкой температуре; Eh жидкой фазы пульпы был выше 730 мВ при использовании CO₂ и 600–630 мВ в других вариантах. Общие концентрации ионов железа были

примерно в 2 раза ниже, чем при 45°С (табл. 3), что может быть связано как с более низкой степенью окисления железосодержащих сульфидных минералов, так и с выпадением в осадок нерастворимых соединений железа при повышении температуры и значения pH. Несмотря на указанные выше косвенные признаки низкой активности микроорганизмов, выщелачивание меди и цинка при 55°С происходило активно.

Анализ микробных популяций позволяет подтвердить выводы, сделанные на основании анализа процесса биовыщелачивания. В периодическом режиме при 45°С общая численность клеток микроорганизмов в жидкой фазе отличалась значительно в конце процесса. Нужно отметить, что в варианте, где использовали диоксид углерода, численность клеток была низкой, несмотря на то что параметры жидкой фазы свидетельствовали об активном окислении концентрата (табл. 2). Возможно, что к моменту отбора пробы микробная популяция уже находилась в стационарной фазе, что привело к снижению численности клеток микроорганизмов. При проведении процесса биовыщелачивания при 45°С в непрерывном режиме средняя численность клеток микроорганизмов была практически одинаковой в контроле, а также в реакторе, в котором в среду вносили мелассу, тогда как при использовании диоксида углерода она была в 1.4 раза выше (табл. 3).

Популяции, которые сформировались при проведении биовыщелачивания в периодическом режиме при 45°С различались количественными соотношениями между группами микроорганизмов (табл. 1), о чем судили по соотношениям между последовательностями фрагментов генов 16S рРНК, принадлежащих разным группам бактерий и архей. Во всех случаях преобладало несколько групп ацидофильных микроорганизмов (табл. 5): железоокисляющие гетеротрофные археи р. *Ferroplasma*, гетеротрофные археи р. *Cuniculiplasma*, сероокисляющие автотрофные бактерии р. *Acidithiobacillus*, миксотрофные железо- и сероокисляющие бактерии р. *Sulfobacillus*.

Кроме того, в контроле и микробной популяции реактора, в котором использовали мелассу в качестве источника углерода, присутствовали некультивируемые археи “*Candidatus Carboxiplitasma ferriphilum*” (A-plasma), которые, вероятно, способны к окислению железа и нуждаются в органическом источнике углерода. В варианте, где использовали диоксид углерода в качестве источника углерода, в популяции, которая сформировалась в периодическом режиме при 45°С, последовательности ацидофильных микроорганизмов составляли 16.54%, а значительная часть последовательностей принадлежала родам гетеротрофных микроорганизмов, среди которых неизвестны ацидофилы. Это может подтверждать вывод о том, что в данном случае на момент отбора проб для анализа

Таблица 5. Свойства групп ацидофильных микроорганизмов, выявленных в микробных популяциях биореакторов

Группа	Способность к окислению		Углеродный метаболизм	Отношение к температуре	Примечание	Источник
	Fe ²⁺	Восстановленные соединения серы				
<i>Ferroplasma</i>	+	—	Миксо- и гетеротрофы	Мезофилы, умеренные термофилы		Dopson, Okibe, 2023
<i>Acidiplasma</i>	+	+	Гетеротрофы	Умеренные термофилы		Bulaev, 2020; Dopson, Okibe, 2023
<i>Cuniculiplasma</i>	—	—	Гетеротрофы	Мезофил		Dopson, Okibe, 2023
“ <i>Candidatus Carboxiplasma ferriphilum</i> ” (A-plasma)	+	—	Гетеротрофы	Нет данных	Свойства описаны на основе анализа метагенома	Bulaev et al., 2023
<i>Acidithiobacillus</i>	+	+	Авто- и миксотрофы	Мезофилы, умеренные термофилы	Известен один умеренно-термофильный вид <i>A. caldus</i> , который способен только к окислению соединений серы	Hallberg, Lindström, 1994; Dopson, Okibe, 2023
<i>Acidiferrobacter</i>	+	+	Автотрофы	Мезофилы		Dopson, Okibe, 2023
<i>Acidiphilium</i>	—	+	Гетеротрофы	Мезофилы		Dopson, Okibe, 2023
<i>Sulfobacillus</i>	+	+	Миксотрофы	Мезофилы, умеренные термофилы		Dopson, Okibe, 2023
<i>Leptospirillum</i>	+	—	Автотрофы	Мезофилы		Dopson, Okibe, 2023
<i>Ferrimicrobium</i>	+	—	Гетеротрофы	Мезофилы		Dopson, Okibe, 2023

микробная популяция уже перешла в стационарную фазу, что привело к элиминации ацидофильных микроорганизмов и снижению общей численности микроорганизмов.

При переходе к непрерывному режиму в микробных популяциях произошли изменения. В популяции биореактора, в который подавали диоксид углерода, доля ацидофильных микроорганизмов значительно (в несколько раз) увеличилась, при этом преобладающие группы ацидофильных микроорганизмов фактически не изменились. Микробные популяции двух других биореакторов также претерпели количественные изменения, тогда как преобладающие группы микроорганизмов сохранялись. Нужно отметить, что и в контрольном реакторе, и при использовании мелассы преобладали железо- и сероокисляющие бактерии р. *Sulfobacillus*, а также железоокисляющие археи р. *Ferroplasma*, причем

при переходе к непрерывному режиму доля бактерий р. *Sulfobacillus* в обоих случаях увеличивалась на порядок, а доля архей р. *Ferroplasma* снижалась в 1.8 и 2.7 раза соответственно. Популяции отличались долей бактерий р. *Acidithiobacillus*, которая на порядок сократилась в контрольном варианте, но увеличилась при использовании мелассы и диоксида углерода. Большинство известных представителей р. *Acidithiobacillus* являются автотрофами, но некоторые способны к миксотрофии, что предположительно может объяснять увеличение их доли в популяции при использовании мелассы (табл. 5) (Hallberg, Lindström, 1994). Нужно отметить, что во всех популяциях значительной была доля гетеротрофных архей р. *Cuniculiplasma*.

При адаптации микробных популяций к повышению температуры до 55°C их состав значительно изменялся. Нужно отметить, что во всех вариантах

значительно снижалась общая численность микроорганизмов (от 6.5 до 2.9 раза). Наименее значительным снижением было в реакторе, в котором использовали диоксид углерода, а наиболее значительным — в контрольном реакторе. К окончанию адаптации микробных популяций в периодическом режиме при 55°C общая численность клеток микроорганизмов в жидкой фазе пульпы значительно различалась и наиболее высокой была в варианте с использованием диоксида углерода (табл. 2).

Соотношения между основными группами микроорганизмов также изменились: доля архей *Ferroplasma* и *Cuniculiplasma* во всех случаях снижалась (за исключением доли *Ferroplasma*, которая не снизилась в контрольном варианте). С учетом снижения фактической численности микроорганизмов это означало очень значительное снижение численности данных микроорганизмов. Высокой оставалась доля бактерий р. *Sulfobacillus*, которая в контроле и при использовании мелассы снижалась, а при использовании диоксида углерода увеличивалась более чем в 6 раз и стала наиболее значительной в данной популяции (79.9%) (табл. 1). Интересно отметить, что во всех случаях увеличивалась и становилась значительной доля железоокисляющих автотрофных бактерий р. *Leptospirillum*, большая часть известных представителей которого являются мезофилами, неспособными расти при температуре 55°C (табл. 5). Доля бактерий р. *Acidithiobacillus* снизилась в популяции реактора, в который подавали диоксид углерода, но увеличилась в контроле и при использовании мелассы.

При переходе к непрерывному режиму биовыщелачивания при 55°C тенденции в изменении микробных популяций были аналогичны изменениям, которые наблюдались в периодическом режиме. Численность микроорганизмов снизилась, при этом в варианте эксперимента при использовании диоксида углерода численность снизилась незначительно (в 1.5 раза), оставаясь самой высокой по сравнению с другими реакторами (табл. 3). В контрольном варианте и при использовании мелассы численность микроорганизмов при переходе в непрерывный режим становилась низкой (0.9×10^7 кл./мл). В популяции реактора, в который подавали диоксид углерода, практически все группы микроорганизмов элиминировались, а доля бактерий р. *Sulfobacillus* увеличивалась до 99.9%. Так как известные представители данного рода являются умеренно-термофильными бактериями, способными к окислению соединений серы и железа, они очевидно играли основную роль в окислении сульфидных минералов в данном случае. Увеличение доли в популяции бактерий р. *Sulfobacillus* при повышении температуры процесса и использовании диоксида углерода в качестве источника углерода было показано в наших предыдущих работах (Bulaev, Boduen,

2022; Bulaev et al., 2023). Нужно отметить, что доля последовательностей бактерий р. *Sulfobacillus* была высокой и в других популяциях (39–45%), однако, так как численность микроорганизмов в данных популяциях была низкой, очевидно, что численность данных бактерий при использовании диоксида углерода была высокой. Высокой в контроле и при использовании мелассы была доля бактерий р. *Leptospirillum*, что трудно объяснить, если основываться на свойствах большей части известных представителей данного рода. Нужно отметить, что аналогичное увеличение в популяции доли бактерий р. *Leptospirillum* при повышении температуры до 50°C и использовании мелассы было показано в нашей предыдущей работе (Bulaev et al., 2023). Вероятно, что на основании полученных в данной и предыдущей работах результатов можно предположить, что в пульпе присутствовали представители вида *L. thermoferrooxidans* (Головачева и соавт., 1992), способные расти при относительно высоких температурах в условиях проведения процессов биовыщелачивания в непрерывном режиме. При использовании мелассы при 55°C в непрерывном режиме в популяции была относительно высока доля бактерий р. *Acidithiobacillus* (как и в других режимах).

При анализе полученных в данной работе результатов можно заметить ряд закономерностей, которые были выявлены в ряде наших предыдущих работ по влиянию источников углерода на процесс биоокисления сульфидных концентратов. Так, в работах (Bulaev, Boduen, 2022; Bulaev et al., 2023) было показано, что повышение температуры может оказывать негативный эффект на биоокисление пирит-арсенопиритных сульфидных концентратов, в том числе приводя к снижению численности микроорганизмов в микробных популяциях, осуществляющих такие процессы. При этом применение диоксида углерода и мелассы в качестве источника углерода позволяло увеличивать интенсивность окисления пирит-арсенопиритных концентратов при температурах 45–50°C. Использование дополнительных источников углерода приводило к увеличению численности микроорганизмов, а также к изменению соотношений между разными группами микроорганизмов в популяциях.

Влияние условий биовыщелачивания на извлечение металлов, которое наблюдалось в данной работе, может быть объяснено свойствами минералов концентрата и особенностями закономерностей их выщелачивания. Увеличение степени выщелачивания меди в раствор при увеличении температуры может объясняться хорошо известным фактом, что скорость биовыщелачивания халькопирита зависит от температуры, возрастая с ее увеличением (Rodriguez et al., 2003a; Hedrich et al., 2018). Значительное увеличение степени выщелачивания сфалерита при температуре 55°C

и использовании диоксида углерода может объясняться закономерностями, выявленными в работе (Rodriguez et al., 2003b): скорость биовыщелачивания сфалерита в значительной степени зависит от повышения температуры, но при этом скорость выщелачивания цинка в значительной степени лимитируется слоем элементарной серы, которая образуется как промежуточный продукт окисления сфалерита и откладывается на поверхности. Удаление серы, в свою очередь, в большей степени происходит за счет активности микроорганизмов, которая зависела от источника углерода. Значительное увеличение извлечения меди в раствор при использовании мелассы может объясняться относительно низким *Eh* среды в данном варианте эксперимента, что могло увеличить скорость выщелачивания халькопирита (Masaki et al., 2018).

Сопоставление результатов данной работы с нашим предыдущим исследованием (Elkina et al., 2022) позволяет сделать заключение о том, что влияние различных условий (в частности, температуры) на биовыщелачивание меди из сульфидных концентратов может зависеть от соотношения между содержанием различных минералов меди в конкретном концентрате. В данной работе исследовали процесс биовыщелачивания меди из концентрата, который содержал около 7.7% теннантита и 33.5% халькопирита, а в работе (Elkina et al., 2022) проводили эксперименты в сходных методических условиях с концентратом, аналогичным по качественному минеральному составу, но с другим соотношением минеральных фаз — 5.3% халькопирита и 7.7% теннантита, т.е. отличающимся относительно низким содержанием халькопирита. Исследовали биовыщелачивание концентрата в диапазоне температур 40–60°C, при этом было показано, что наибольшая степень извлечения меди была достигнута при температуре 45–50°C, а повышение температуры до 55–60°C приводило к снижению выщелачивания меди; при 60°C выщелачивание повышалось при использовании диоксида углерода, тогда как при более низких температурах извлечение меди слабо зависело от использования дополнительных источников углерода (Elkina et al., 2022). Это соответствует закономерности, выявленной в работе (Елкина и соавт., 2020), где было показано, что в температурном диапазоне 40–60°C скорость биовыщелачивания халькопирита зависела в большей степени от температуры, тогда как скорость выщелачивания теннантита в меньшей степени определялась температурой.

Таким образом, в данной работе при исследовании процесса биовыщелачивания мышьяксодержащего полиметаллического концентрата, содержащего халькопирит, теннантит и сфалерит, при разных температурах и с использованием разных источников углерода было показано, что применение разных источников углерода и повышение температуры

позволяет интенсифицировать процесс биовыщелачивания меди и цинка. При этом сопоставление полученных результатов с результатами, полученными в предыдущих работах, показывает, что такие эффекты могут определяться соотношением сульфидных минералов в концентрате. Наблюдаемый эффект исследованных факторов на процесс биовыщелачивания во многом определяется их воздействием на микробную популяцию, которая осуществляет процесс биовыщелачивания, так как при изменении условий процесса наблюдались изменения в составе микробных популяций биореакторов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 21-64-00019.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Булаев А.Г. Биоокисление пирротина умеренно-термофильными ацидофильными микроорганизмами // Микробиология. 2020. Т. 89. С. 511–521.
- Bulaev A. G. Pyrrhotite biooxidation by moderately thermophilic acidophilic microorganisms // Microbiology (Moscow). 2020. V. 89. P. 510–519.
- Васильева А.А., Бодуэн А.Я. Минералогические особенности и способы переработки медных цинк-содержащих концентратов // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2023. Т. 334. № 3. С. 61–72.
- Головачева Р.С., Голышина О.В., Каравайко Г.И., Дорофеев А.Г., Пивоварова Т.А., Черных Н.А. Новая железоокисляющая бактерия *Leptospirillum thermoferrooxidans* sp. nov. // Микробиология. 1992. Т. 61. С. 1056–1065.
- Golovacheva R. S., Golyshina O. V., Karavaiko G. I., Dorofeev A. G., Pivovarova T. A., Chernykh N. A. A new iron oxidizing bacterium *Leptospirillum thermoferrooxidans* sp. nov. // Microbiology (Moscow). 1992. V. 61. P. 744–750.
- Елкина Ю.А., Мельникова Е.А., Меламуд В.С., Булаев А.Г. Биовыщелачивание теннантита и энаргита

- умеренно-термофильными ацидофильными микроорганизмами // Микробиология. 2020. Т. 89. С. 419–431.
- Elkina Y.A., Melnikova E.A., Melamud V.S., Bulaev A.G. Bioleaching of enargite and tennantite by moderately thermophilic acidophilic microorganisms // Microbiology (Moscow). 2020. V. 89. P. 413–424.
- Елкина Ю.А., Меламуд В.С., Булаев А.Г. Биовыщелачивание медно-цинкового концентрата с высоким содержанием мышьяка // Микробиология. 2021. Т. 90. С. 90–99.
- Elkina Y.A., Melamud V.S., Bulaev A.G. Bioleaching of a copper-zinc concentrate with high arsenic content // Microbiology (Moscow). 2021. V. 90. P. 78–86.
- Belyi A.V., Tupikina O.V. Biooxidation of gold ores in Russia and Kazakhstan // Biomining Technologies / Eds. Johnson D.B., Bryan C.G., Schlömann M., Roberto F.F. Cham: Springer, 2023. P. 191–208.
- Bulaev A., Boduen A. Carbon sources as a factor determining the activity of microbial oxidation of sulfide concentrate at elevated temperature // Minerals. 2022. V. 12. Art. 110.
- Bulaev A., Kadnikov V., Elkina Y., Beletsky A., Melamud V., Ravin N., Mardanov A. Shifts in the microbial populations of bioleach reactors are determined by carbon sources and temperature // Biology. 2023. V. 12. Art. 1411.
- Bulaev A., Melamud V., Boduen A. Bioleaching of non-ferrous metals from arsenic-bearing sulfide concentrate // Solid State Phenom. 2020. V. 299. P. 1064–1068.
- Bulaev A., Elkina Yu., Melnikova E., Melamud V. Effect of sodium chloride on copper bioleaching from sulfide minerals and concentrates // SGEM. 2019. V. 19. Is. 1.3. P. 799–804.
- Diaz J.A., Serrano J., Leiva E. Bioleaching of arsenic-bearing copper ores // Minerals. 2018. V. 8. Art. 215.
- Dopson M., Okibe N. Biomining microorganisms: diversity and *modus operandi* // Biomining Technologies / Eds. Johnson D.B., Bryan C.G., Schlömann M., Roberto F.F. Cham: Springer, 2023. P. 89–110.
- Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST // Bioinform. 2010. V. 26. P. 2460–2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>
- Elkina Y., Nechaeva A., Artykova A., Kolosoff A., Bugubayeva A., Melamud V., Mardanov A., Bulaev A. Continuous bioleaching of arsenic-containing copper-zinc concentrate and shift of microbial population under various conditions // Minerals. 2022. V. 12. Art. 592.
- Filippou D., St-Germain P., Grammatikopoulos T. Recovery of metal values from copper-arsenic minerals and other related resources // Miner. Proc. Extr. Metall. Rev. 2007. V. 28. P. 247–298.
- Frey B., Rime T., Phillips M., Stierli B., Hajdas I., Widmer F., Hartmann M. Microbial diversity in European alpine permafrost and active layers // FEMS Microbiol. Ecol. 2016. V. 92. Art. fw018. <https://doi.org/10.1093/femsec/fw018>
- Hedrich S., Joulain C., Graupner T., Schippers A., Guézennec A.-G. Enhanced chalcopryrite dissolution in stirred tank reactors by temperature increase during bioleaching // Hydrometallurgy. 2018. V. 179. P. 125–131.
- Gericke M., Neale J.W., van Staden P.J. A Mintek perspective of the past 25 years in minerals bioleaching // J. S. Afr. Inst. Min. Metall. 2009. V. 109. P. 567–585.
- Gericke M., Neale J.W., Mänttä P. Biomining in Finland: commercial application of heap and tank bioleaching technologies for nickel recovery // Biomining Technologies / Eds. Johnson D.B., Bryan C.G., Schlömann M., Roberto F.F. Cham: Springer, 2023. P. 209–228.
- Hallberg K.B., Lindström E.B. Characterization of *Thiobacillus caldus* sp. nov., a moderately thermophilic acidophile // Microbiology (Reading). 1994. V. 140. P. 3451–3456.
- Johnson D.B., Roberto F.F. Evolution and current status of mineral bioprocessing technologies // Biomining Technologies / Eds. Johnson D.B., Bryan C.G., Schlömann M., Roberto F.F. Cham: Springer, 2023. P. 1–13.
- Jyothi N., Sudha K.N., Natarajan K.A. Electrochemical aspects of selective bioleaching of sphalerite and chalcopryrite from mixed sulphides // Int. J. Miner. Process. 1989. V. 27. P. 189–203.
- Kondo S., Hayashi K., Phann I., Okibe N. Bioleaching of tennantite concentrate: influence of microbial community and solution redox potential // Front. Microbiol. 2024. V. 14. Art. 1339549.
- Magoc T., Salzberg S.L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies // Bioinform. 2011. V. 27. P. 2957–2963. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr507>
- Mahmoud A., Cezac P., Hoadley A.F.A., Contaminea F., D'Hugues P. A review of sulfide minerals microbially assisted leaching in stirred tank reactors // Int. Biodegrad. Biodegr. 2017. V. 119. P. 118–146.
- Masaki Y., Hirajima T., Sasaki K., Miki H., Okibe N. Microbiological redox potential control to improve the efficiency of chalcopryrite bioleaching // Geomicrobiol. J. 2018. V. 3. P. 648–656.
- 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 D.B. Berlin: Springer, 2007. P. 35–55.
- Munoz J.A., Blazquez M.L., Gonzalez F., Ballester A., Acevedo F., Gentina J.C., Gonzalez P. Electrochemical study of enargite bioleaching by mesophilic and thermophilic microorganisms // Hydrometallurgy. 2006. V. 84. P. 175–186.
- Nakazawa H., Fujisawa H., Sato H. Effect of activated carbon on the bioleaching of chalcopryrite concentrate // Int. J. Mineral Proc. 1998. V. 55. P. 87–94.
- Okibe N., Hayashi K., Oyama K., Shimada K., Aoki Y., Suwa T., Hirajima T. Bioleaching of enargite/

- pyrite-rich “dirty” concentrate and arsenic immobilization // *Minerals*. 2022. V. 12. Art. 449.
- Oyama K., Shimada K., Ishibashi J., Sasaki K., Miki H., Okibe N. Catalytic mechanism of activated carbon-assisted bioleaching of enargite concentrate // *Hydrometallurgy*. 2020. V. 196. Art. 105417.
- Roberto F.F., Arévalo Lara H. Heap bioleaching of an enargite-dominant ore body // *Biomining Technologies* / Eds. Johnson D.B., Bryan C.G., Schlömann M., Roberto F.F. Cham: Springer, 2023. P. 177–190.
- Rodriguez Y., Ballester A., Blazquez M.L., Gonzalez F., Munoz J.A. New information on the chalcopyrite bioleaching mechanism at low and high temperature // *Hydrometallurgy*. 2003a. V. 71. P. 47–56.
- Rodriguez Y., Ballester A., Blazquez M.L., Gonzalez F., Munoz J.A. New information on the sphalerite bioleaching mechanism at low and high temperature // *Hydrometallurgy*. 2003b. V. 71. P. 57–66.
- Rognes T., Flouri T., Nichols B., Quince C., Mahé F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics // *PeerJ*. 2016. V. 4. Art. e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- van Niekerk J.A., van Buuren C.B., Olivier J.W. Bio-processing of refractory gold ores: the BIOX, MesOTHERM, and ASTER processes // *Biomining Technologies* / Eds. Johnson D.B., Bryan C.G., Schlömann M., Roberto F.F. Cham: Springer, 2023. P. 67–88.
- Vera Véliz M., Videla Leiva A., Martínez Bellange P. Copper bioleaching operations in Chile: towards new challenges and developments // *Biomining Technologies* / Eds. Johnson D.B., Bryan C.G., Schlömann M., Roberto F.F. Cham: Springer, 2023. P. 163–176.
- Watling H.R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides – a review // *Hydrometallurgy*. V. 2006. V. 84. P. 81–108.

EXPERIMENTAL ARTICLES

Bioleaching of Copper-Zinc Concentrate at Different Temperatures

A. G. Bulaev^{1,*}, A. V. Artykova¹, Yu. A. Elkina¹, A. V. Kolosov¹, A. V. Nechaeva¹,
A. V. Beletski¹, V. V. Kadnikov¹, V. S. Melamud¹, A. V. Mardanov¹

¹FRC “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia
*e-mail: bulaev.inmi@yandex.ru

The goal of this work was to study the process of bioleaching of arsenic-containing polymetallic concentrate containing 16.0% Cu, 5.3% Zn and 1.7% As, under different conditions. The dependence of the leaching of non-ferrous metals on temperature (45 and 55°C) and the use of CO₂ and molasses bioreactors as carbon sources for the microbial population, as well as differences in the composition of microbial populations formed in different conditions were studied. Increasing temperatures led to the increase leaching of both copper and zinc. However, at a higher temperature (55°C), the use of additional carbon sources significantly affected the extraction of metals, while at 45°C, the extraction of metals did not differ significantly between different experimental variants. A study of the microbial populations of bioreactors showed that both temperature changes and additional carbon sources influenced the microbial populations that formed during the bioleaching process. When using carbon dioxide at 45°C, the total number of microbial cells was 1.4 times higher than in other variants, and at 55°C, it was 8 times higher. In addition, changes in the relationships between microorganisms in microbial populations were observed. At 45°C, microbial populations were dominated by iron-oxidizing heterotrophic archaea of the genus *Ferroplasma*, heterotrophic archaea of the genus *Cuniculiplasma*, sulfur-oxidizing autotrophic bacteria of the genus *Acidithiobacillus*, mixotrophic iron- and sulfur-oxidizing bacteria of the genus *Sulfobacillus*. At 55°C, the microbial populations were dominated by bacteria of the genus *Sulfobacillus* and iron-oxidizing bacteria of the genus *Leptospirillum*. The use of carbon dioxide led to the dominance of bacteria of the genus *Sulfobacillus*: the proportion of 16S rRNA gene fragment sequences of this genus was 99.9%.

Keywords: bioleaching, polymetallic sulfide concentrates, copper, zinc, acidophilic microorganisms, metabarcoding