

А.У. Исаева¹, Р. Панкиевич², А.А. Отарбекова^{1*}

¹М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университеті,
Қазақстан, Шымкент қ.

²Познаньдағы Адам Мицкевич университеті, Польша, Познань қ.,
*e-mail: aina_756@mail.ru

ОҢТҮСТІК ӨҢІРІНДЕГІ ҚҰРАМЫНДА ФОСФОРЫ БАР ҚАЛДЫҚТАРЫНЫҢ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ АНАЛИЗИ

Мақалада Қазақстанның оңтүстік өңіріндегі бұрынғы Шымкент фосфор зауытының техногендік қалдықтарының шламдары мен шлактарына физико-химиялық және микробиологиялық сандық-сапалық сипаттамалар берілді. Зерттеу барысында көрсетілгендей, фосфор қалдықтарының шламдары мен шлактарының рН – 6-7, яғни әлсіз сілтілікке ие, құрамы минералданған: SiO₂ кварц, CaCO₃ – кальцит, Fe₂O₃ – гематит болатыны анықталыны. Сонымен қатар, микробиологиялық зерттеу барысында анықталғандай құрамында фосфор қалдығы бар шламдар мен шлактардың аэробты микроорганизмдері айтарлықтай экожүйелер үшін экологиялық маңызды, яғни белсенді микромицеттер (5,4 ± 0,5) × 10⁴ КОЕ/г, гетеротрофтар – (3,8 ± 0,3) × 10⁴ КОЕ/г, нитрификаторлар 1 фаза – 10⁸ КОЕ/г., азотфиксирлеуші бактериялар 90 % өсу, актиномицеттер – 10⁵ КОЕ/г, энтеробактериялар – 10⁷ КОЕ/г. Анаэробтар шлак сынамаларында – 3,8 × 10⁴ КТБ/мл, ал шлам сынамаларында – 0,50 × 10² КТБ/мл, яғни анаэробты микроорганизмдер саны аэробтарға қарағанда төмен.

Жұмыс барысында Қазақстанның оңтүстік өңірінде ірі көлемде жатқан фосфор қалдықтарының құрамынан 73 микроорганизм культуралары бөлініп алынды, бөлініп алынған микроорганизмдер түрлері өндірістік қалдық құрамынан бағалы және сирек кездесетін микроорганизмдерді бөліп алу технологиясын құру үшін перспективті микроорганизмдер ретінде оларды одан әрі зерттеу қазіргі таңдағы маңызды талаптардың бір бағыты болып табылады.

Түйін сөздер: микроорганизмдер, биосілтісіздеу, бактериялар, құрамында фосфоры бар қалдықтар, элемент.

A.U. Issayeva¹, Radoslaw Pankiewicz², A.A. Otarbekova^{1*}

¹M. Auezov South Kazakhstan State University, Kazakhstan, Shymkent

²Adam Mickiewicz University in Poznań, Poland, Poznań,

*e-mail: aina_756@mail.ru

Microbiological analysis of phosphorus-containing waste in the southern region

The article presents the physical, chemical and microbiological quantitative and qualitative characteristics of phosphorus-containing man-made waste (slags and sludges) of the former Shymkent phosphorus plant in the South of Kazakhstan. The study found that slurries and slags of phosphorus-containing waste have a pH of 6-7,5 and such components as SiO₂-quartz, CaCO₃ –calcite, and Fe₂O₃ –hematite predominate in the composition of surface eroded waste. The following groups of microorganisms were identified in the composition of phosphorus waste: micromycetes in quantity (5,4 ± 0,5) × 10⁴ CFU/g, heterotrophs-in the amount of –(3,8 ± 0,3) × 10⁴ CFU/g, phase 1 nitrifiers -10⁸ CFU / g, nitrogen-fixing bacteria-in quantity 90 % fouling of lumps, actinomycetes-in quantity 10⁵ CFU/g, enterobacteria-in quantity 10⁷ CFU/g. Anaerobes in slag samples -3, 8 × 10⁴ CFU / ml, and in sludge samples -0, 50 × 10² CFU / ml, that is, the number of anaerobic microorganisms is less than aerobes. Thionic and sulfur-oxidizing bacteria were not detected in the phosphorus-containing waste. As a result of screening work, 73 isolates of microorganisms that are promising for biogeotechnological purposes were isolated.

Key word: microorganisms, bio-leaching, phosphorus-containing waste, slag, sludge.

А.У. Исаева¹, Р. Панкиевич¹, А.А. Отарбекова*²

¹Южно-Казахстанского государственного университета М. Ауэзова, Казахстан, г. Шымкент

²Университет Адама Мицкевича в Познани, Польша, г. Познань,

*e-mail: aina_756@mail.ru

Микробиологический анализ фосфорсодержащих отходов южного региона

В статье даны физико-химические и микробиологические количественно-качественные характеристики фосфорсодержащих техногенных отходов (шлака и шлама) бывшего Шымкентского фосфорного завода на юге Казахстана. В ходе исследования установлено, что шламы и шлаки фосфорсодержащих отходов имеют pH – 6–7,5, а в составе поверхностных эрозированных отходов преобладают такие компоненты как SiO₂ – кварц, CaCO₃ – кальцит, Fe₂O₃ – гематит. В составе фосфорных отходов выявлены следующие группы микроорганизмов: микромицеты – (5,4±0,5)×10 КОЕ/г, гетеротрофы –(3,8 ±0,3) ×10⁴ КОЕ/г, нитрификаторы 1 фазы – 10⁸ КОЕ/г, азотфиксирующие бактерии –90% обрастания комочков, актиномицеты – 10⁵ КОЕ/г, энтеробактерии – 10⁷КОЕ/г. Анаэробы в шлаковых пробах – 3, 8х10⁴ КОЕ/мл, а в пробах шлама – 0, 50х10² КОЕ / мл, то есть количество анаэробных микроорганизмов меньше, чем аэробы. Тионовые и сероокисляющие бактерии в фосфорсодержащих отходах не выявлены. В результате скрининговых работ выделено 73 изолята микроорганизмов, перспективных для биоготехнологических целей.

Ключевые слова: микроорганизмы, биовыщелачивание, фосфорсодержащие отходы, шлак, шлам.

Кіріспе

Қазақстандағы кен өндіру, қазба байлықтарын игеру жұмыстары қарқынды жұмыс жасап жатқан салалардың бірі, және заман талабы да соны қажет етеді. Қазіргі таңда елімізде ірі көлемдегі жинақталған өндірістік қалдықтар ошағы өте көп, олардың құрамында бағалы компоненттердің кездесетін анық, және ол көптеген зерттеулер арқылы да анықталған. Қалдықтардың құрамында қалып қойған бағалы компоненттерді игеруде биотехнологиялық бағыттағы жаңа технологияны меңгеруді және оны дамытуды қажет етеді.

Қазақстан кен байлықтарын өндіру көлемі бойынша батыс, араб, қытай және басқа да аса бай елдермен бір қатарда тұр және жиырма ірі әлемдік өндірушілердің қатарына кіреді. Кен және кендер қалдықтарындағы жинақталған қабаттарының биоценозын құрайтын микроорганизмдер қауымдастығы органикалық заттар мен биогенді элементтердің айналу процесінде басты звено болып табылатыны белгілі, бірақ айналым процесінде микроорганизмдердің метал иондарына төзімділігін туралы ескермеуге болмайды. Көптеген биосілтісиздендіру саласы бойынша зерттеулерге әдеби шолу жасасақ мысалы, қазақстандық ғалым К.М. Камаловтың ғылыми еңбектерінде (1990 ж.) құрамында күкірт қосылған ортада өсірілген бактериялардың жасушалары кадмий, натрий, мырыш, кальций және темірдің жоғары концен-

трациясына сезімталдылығы байқалмайтығы айтылады, темір никель мен марганецтің аз мөлшердегі концентрациясында тотығады, бірақ кобальт, мыс, күміс, арсенит, нитраттар, хлороидтар және тиосульфаттар организмнің тіршілік әрекетін тежейді, яғни төзімсіз екендігі көрсетілген. Mn, Co, Cu тұздары қосылған ортада тек инокуляттың көлемін ұлғайтқан жағдайда *Thiobacillus ferrooxidans* бактериясының жылдам өсуі байқалатыны айтылады. *T. ferrooxidans* бактериясының әртүрлі штамдары Al, Zn, Cu, Co, Ni элементтерінің мөлшері 10 г\л-ға дейін төзімді келген. 965 мг\л концентрациясындағы мышьяк пен уранның 1 г\л –не дейінгі мөлшері бактериялар тіршілігі үшін уытсыз екендігі анықталған.

R.V. Bhappu өз әріптестерімен бірге микроорганизмдер молибденге өте сезімтал келетіндігін көрсетіп,оның өте төмен конентрациясының (9-12 мг\л) өзі бактериялар тіршілігін жоя алатындығын анықтаған [Bhappu R.V., et al.1965].

Т.А. Пивоварова, Е.Д. Коробушкина және т.б. (1986) орта құрамында Au (III) 0,166 г / л-ге болғанға дейін *T. ferrooxidans* бактерияларының тыныс алуы қалыпты болатындығын айтқан, бірақ оның концентрациясы артқан сайын бактериялардың оттегіні тұтыну жылдамдығы төмендеп, тыныс алу тізбегіндегі ферменттердің белсенділігі бәсеңдегенін өз еңбектерінде көрсеткен. Бұл факт микроорганизмдердің барлығы дерлік метал иондарына бірдей төзімді келе

бермейтімен түсіндіруге болады, олардың жар-тысы экстремалды жағдайда қырылуы мүмкін [Kamalov M. R.1990., Chunsheng Qiu et al. 2020, Wasim S., et al.2019].

Ресейлік Д.В. Четверикованың зерттеулерінде алғаш рет *Acidithiobacillus ferrooxidans* пен *Ferroplasma sp.* микроорганизмдер дақылдарының көмегімен перколяциянды қондырғыларда мысты-мырыш кендерін байыту қалдықтарынан мырыш пен мысты алудың биологиялық технологиясын ұсынған. Олардың зерттеулерінде бактериялар мырыш, мыс, никель, кобальт және марганец иондарына жоғары тұрақтылыққа ие екендігі айтылған [Chetverikova D. V.2013., Mäkinen J. et al. 2019].

Көптеген биосілтiсiздендiру бойынша әдеби деректердегi зерттеулерде биосiлтiсiздендiру үрдiсiне тек тион бактериялары ғана қатысып қоймайды, бұл процесте микроорганизмдер консорциумы, яғни микроорганизмдер бiрлесiп қатысатыны анықталған.

Әдеби көздердегi деректер бойынша микроорганизмдер консорциумы ретiнде *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Acidithiobacillus caldus* және *Acidiplasma sp.*, *Acidithiobacillus ferrivorans*, *Leptospirillum ferriphilum* инокуляттарын қолдану арқылы мыс пен мырыштың бөлiнiп алынуы 200 тәулiкте сұйық ерiтiндiде 67,5 и 53,9% -ға өскен [Bulaev A.G. et al. 2018, NING Zh., et al. 2019].

Қалдықтар құрамына металдарды биосiлтiсiздендiруде микромицеттi саңырауқұлақтарды, оның iшiнде *Aspergillus niger* саңырауқұлағын пайдалануда көптеген зерттеулер кездеседi, мысалы кейбiр зерттеулерде *Aspergillus niger* микромицетiн қолдануда 7 тәулiк iшiнде V-дi100%-ға Ni 33% -ға бөлiп шығарған, сонымен қатар ауылшаруашылық заттарының қалдықтарын қайта өңдеп биосiлтiсiздендiруде *Aspergillus niger* K (85%), Cl (90%), Mg(60%), and P (70%) элементтерiн қайта бөлiп шығару қарқындылығын көрсеткен [Payam Rasoulnia, Seyyed Mohammad Mousavi. 2016, Ning Zhanga et al.2019].

Биологиялық сiлтiсiздендiруде *Herbaspirillum sp.* диазотрофты бактерияларын қолданудың тиiмдiлiгiн, бактерияның биологиялық потенциалы мен төзiмдiлiк қабiлетi жоғары екендiгiн көрсетедi, шахталы топырақтардан бөлiп шығарғанын зерттеулерден көруге болады [Govarathanan M. et al., 2014].

Сонымен қатар биосiлтiсiздендiруде хемолитотрофты *Acidithiobacillus sp.*, гетеротрофты бактериялар *Acidophilum sp.*,

Pseudomonas sp., *Acetobacter sp.*, *Arthrobacter sp.* және *Bacillus sp.* қолданылады. Сондай-ақ, *Aspergillus* және *Penicillium* саңырауқұлақтары органикалық қышқылдарды өндiруде өзiнiң жоғары қабiлеттiлiгiнiң арқасында металдарды биосiлтiлеуде үлкен қарқындылық көрсеткен, сонымен қатар қазақстандық А.У. Исаева өз әрiптестерiмен бiрге жасаған жұмыстарында, биосiлтiсiздендiру бойынша зерттеулерiнде *Nitrosomonas europaeae* нитрифицирлеушi бактерияларды қолданып жұмыс жүргiзген көруге болады [Govarathanan M. et al.,2014; T. J. Xu and Y. P. Ting., 2009, A. U. Issayeva et al. 2017., A. U. Issayeva et al. №29154.2013].

Мысалы Ресейлiк зерттеушiлердiң мәлiметiнше биосiлтiсiздендiру технологиясында микроорганизмдер қауымдастығының сандық арақатынасының маңыздылығы туралы деректер келтiредi [Rogatykh S.V. et al., 2013, Rogatykh S.V. 2018]. Осыған байланысты бiздiң зерттеулерiмiздiң мақсаттарының бiрi Қазақстанның оңтүстiк өңiрiндегi жұмысы тоқтатылған Шымкент фосфор зауыты өндiрiсiнiң құрамында фосфоры бар техногендiк қалдықтарының (шламдар мен шлактар) физика-химиялық және микробиологиялық көрсеткiштерiн зерттеу болды.

Зерттеу материалдары мен әдiстерi

Зерттеу материалы ретiнде құрамында фосфоры бар қалдықтар (шламдар мен шлактар) алынды.

Физико-химиялық талдаулар, титриметриялық және колориметриялық, рентген-дифрактометриялық әдiстер, расстрлы-электронды микроскопты пайдалану арқылы М. Әуезов атындағы ОҚМУ-дың «ИРЛИП» Республикалық ғылыми-өндiрiстiк зертханасының МемСТ ISO/IEC 17025-2019 талаптарына сәйкестiкке аккредиттелген базасында және аккредиттеу аттестаты KZ.И.16.1049 «САПА» химиялық сынақ зертханаларында жүргiзiлдi.

Зерттеуге алынған сынамалар әртүрлi тереңдiктен қазып алынды және техногендiк қалдықтар жиналған орынның 4-жерiнен (А; В; С; D) iрiктелiп алынды. Сынамалар арнайы полиэтилендi қапшықтарға 10 кг-нан 4 горизонттардан (0-10;10-20;20-30;30-50 м;) әртүрлi тереңдiктерден алынды, әкелiнген сынамаларға химиялық және микробиологиялық талдаулар жүргiзiлдi. Сынамаларды дайындаудың барлық процедуралары стерильдi жабдықтармен асептикалық жағдайларды сақтай отырып жүргiзiлдi.

Жұмыста микроорганизмдерді зерттеудің дәстүрлі микробиологиялық әдістері қолданылды: аэробты және анаэробты микроорганизмдерді өсіруде, олардың жалпы санын, титрін анықтауда элективты қоректік орталар пайдаланылды, микробиологиялық препараттарды дайындауда микроскопиялық әдістер пайдаланылды.

Қоректік орталарды дайындауда әртүрлі мөлшердегі, 500 мл, 1000 мл көлемдегі Эрленмейер колбаларына келесі қоректік орталар дайындалды:

Микромицетті саңыраулақтар үшін агарланған Чапек қоректік ортасына г/л: сахароза -30,0 немесе глюкоза - 20,0; NaNO_3 -2,0; K_2HPO_4 - 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; KCl - 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1.

Acidithiobacillus ferrooxidans және *Leptospirillum* бактериялары үшін Сильвериана-Люндгрена 9К сұйық қоректік ортасы: (г/л): 1-ші ерітінді - 700 мл дистилденген суға (NH_4)₂ SO_4 - 3,0; KCl - 0,1; K_2HPO_4 - 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,01; 2-ерітінді - 300 мл дистилденген суға: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 44,2 г салып, ерітіп, орта рН-ін 10 Н H_2SO_4 -н 2,0-ге түсірдік. Екі ерітіндіні жекеley, 1-ші ерітіндіні 1 атм, 2-ші ерітіндіні 0,5 атм қысымда стерилдедік. Екі ерітіндіні араластырып, 10-еселік сұйылту әдісі арқылы 20 мл пробиркаларға бактерияларды ектік.

Маннинга қатты қоректік ортасы (Теміртотықтырушы бактериялар үшін):

Ерітінді А: 300 мл дистилденген суға 33,4 г/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ салып ерітеміз, рН 2,5 (6М H_2SO_4) түсіріп, сүзу арқылы зарарсыздандырдық.

Ерітінді Б: 550 мл дистилдеген суға: (NH_4)₂ SO_4 6 г, KCl -0,2 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -1,0 г, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,02 г; рН -3,0.

Ерітінді В: 150 мл дистилденген суға 7 г тазартылған агарды L28 қосып, 15 мин көлемінде тұнықтырып, 15 мин 121°C температурада автоклавта стерилдедік.

Б және В ерітінділерін араластырып, бөлме температурасында 5 минут бойы салқындатып, оған А ерітіндісін араластырып, қостық. Дайын болған қоректік ортаны залалсыздандырылған диаметрі 100 мм және биіктігі 15 мм (90x18мм) Петри табақшаларына құйдық. Сұйық қоректік орталарға микроорганизмдерді егуде он еселік сұйылты әдісі арқылы 16 x 152 мм, көлемі 20 мл болатын пробиркаларға ектік.

Thiobacillus thiooxidans бактериялары үшін Ваксман сұйық қоректік ортасы (1000 мл дистилдеген суға): (NH_4)₂ SO_4 - 0,2 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,5 г; KH_2PO_4 - 3,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,25 г; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,0001г. S° -10г. рН-3,0.

Ваксман тығыз қоректік ортасы *T.thiooxidans* үшін: (г/л) дистилденген 1 литр суға: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; $\text{NH}_4 \text{Cl}$ - 0,1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,1; K_2HPO_4 - 3,0. Агар-агар 20 г; рН 5,0.

Нитрификаторлы бактериялар *Nitrosomonas* үшін Виноградский I фазалы қоректік ортасына: глюкоза - 20,0; K_2HPO_4 - 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; CaCO_3 - 20,0; ашытқы экстрактісі-10; раствор микроэлементов- 1,0 мл.

Денитрификаторлы бактериялар үшін Виноградский II фаза қоректік ортасы дайындалды.

Азоттұтқыш бактериялар үшін Эшби қоректік ортасы: Маннит немесе глюкоза - 20,0г; K_2HPO_4 - 0,2г; NaCl - 0,2г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2г; K_2 - 0,1г; CaCO_3 - 5г; дистилденген су - 1 литр.

Гетеротрофты бактериялар үшін дайын ЕПА ортасын пайландық.

Анаэробты микроорганизмдер үшін Постгейта қоректік ортасы дайындалды.

Аэробты және анаэробты микроорганизмдер әртүрлі орта жағдайларында өсірілді. Аэробты микроорганизмдер 37° С температурада 24; 4; 72 сағат ішінде инкубациялық кезеңде арнайы ТС- 1/80 СПУ ТУ 9452-002-00141798-97 (Ресей) маркалы термостатта өсірілді, ал анаэробты микроорганизмдер арнайы түтікшелерде (30см) егілді, резиналы тығынмен ауа өткізілмей герметикалық жағдайда тығыз жабылған.

Микроорганизмдердің таза дақылдарын егуде Кох әдісі, он еселік сұйылту әдісі, сиретіп егу әдістері пайдаланылды және микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеулер МСХ100 № 3-101752 Micros (Austria), МикМед-5 (Ресей) микроскопында жасалынды.

Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде қолданылған лабораториялық ыдыстар мен құрал-жабдықтар, колбалар, Петри табақшалары, микробиологиялық пипеткалар, ілмешектер, шпательдер, т.б. қажетті ыдыс-аяқтарды, қоректік орталарды залалсыздандыруда СПГА-100-1-НН № 141 маркалы автоклав, ГП-20СПУ №14113 (Ресей) маркалы стерилизатор және ШС-80 ТУ 92-00243346-01-92 (Беларус) кептіргіш шкафы қолданылды.

Қоректік орталарды дайындауда пайдаланған дисстелген суларды АЭ-10МО ТУ 9452.003.07606036-96 электрлі аквадистиллятор құрылғысы пайдаланылды

Қоректік орталарды дайындау барысында «Scout-Pro» маркалы электронды таразысы пайдаланылды.

1-суретте дайындалған қоректік орталар топтамасы көрсетілген. Қоректік орталарды тоңазытқыштарда сақтадық.



1-сурет – Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде дайындалған қоректік орталар топтамасы

Фосфор қалдықтарына физико-химиялық зерттеулер Varian-ProStar (Голландия) тиімділігі жоғары сұйықтықтық хроматографында физико-химиялық талдаулары жүргізілді.

Қалдықтардың элементті құрамын анықтау INCA Energy-350 (OXFORD Instruments, Ұлыбритания) энергодисперсті микроталдау жүйесі және HKL Basic (OXFORD Instruments, Ұлыбритания) поликристалды объектілерді құрылымдық талдау жүйесі, JEOL (Жапония) фирмасының JSM-6490LV растрлі электрондық микроскопында, сондай-ақ атомды-адсорбционды AAnalyst 800 (Perkin-Elmer) спектрометрінде МемСТ ҚР 17294-2-2006 (ISO17294-2-2006 [STS R ISO 7523-2016. STS 33208-2014. STS 28353.3-2017. STS R 57655-2017. FER F 16.1: 2.2: 2.3: 3.36-02. FER F 14.1: 2: 4.140-98. Atomic absorption spectroscopy: objects of analysis, fulfilled standards. January, 2019.] сәйкес жүргізілді.

Fe^{+2} u Fe^{+3} темірді анықтауда трилонометриялық титрлеу әдісі қолданылды, ерітінді құрамындағы темірдің мөлшері 0,1-10 г/л. құрады [Reznikov A.A. 1970].

Қалдықтардың минералогиялық құрамын анықтауда рентгенодифрактометрлі талдаулар автоматтандырылған ДРОН-4 және Cu K α – сәулелену, β -фильтрлі дифрактометрінде жүргізілді [20].

Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде МемСТ Р ЕН 12297-2012, талаптарына сәйкес М. Әуезов атындағы ОКМУ-дың «БжЭ» ҒЗИ микробиологиялық зертханасында жүргізілді.

Statistical analysis of the results. Эксперименттер $0,95 > P > 0,80$ деңгейінде стандартты ауытқуды есептей отырып, бес рет қайталаумен өткізілді. Статистикалық қондеу “Пентиум-IV” ДК-де *Microsoft Excel* статистикалық бағдарламалық

пакетін пайдалану арқылы жүргізілді. Өлшеу саны мен жалпы диагностикалық топ бойынша орташа арифметикалық [Schabenberger O., Pierce F.J.2002].

Зерттеу нәтижелері мен оның талдаулары

Бұрынғы Шымкент фосфор зауыты Қазақстан Республикасының ірі мегаполисі Шымкент қаласының оңтүстік шығысынан $1.42015^{\circ}42.92''$, солтүстігінен $1.69043^{\circ}15.57''$ қашықтықта, теңіз деңгейінен 619 м биікте орналасқан. Жалпы көлемі 50 млн т. құрайтын қалдық 16,0 гектар жерді қамтып жатыр.

Кен құрамынан, аз байытылған өндірістік қалдықтардың құрамынан метал қалдықтарын қайта кәдеге пайдалану процесі үлкен биологиялық процестерге негізделген, ол табиғи процестердің негізі үлкен биоценозының құрамды бөліктерінің бірі микроорганизмдердің тіршілік әрекетінің салдарынан туындайды, сол микробиоценоздың табиғи ареалының заңдылығын зерттеп, микроорганизмдердің моно культурасының ерекшелігін зерттеуді меңгеру үлкен биотехнологиялық технологияны игеруге мүмкіндік береді. Кез келген өндірісте микробиологиялық әдістерді қолданудың тиімділігін көрсететін негізгі фактор микроорганизмдердің тіршілік әрекеті мен олардың белсенділігі болып табылады. Әсіресе өндірістік техногендік қалдықтардың құрамында қалып қойған бағалы компоненттерді қайта игеру ондағы қалыптасқан биоценоздың болуының арқасында өтеді.

Кен қалдығының немесе кен орындарының терең қабаттарының горизонттарында сырттан келетін микроорганизмдермен қатар абorigендік

микрoфлораның болатындығы белгілі, алайда барлық микрoорганизмдер қабаттық жағдайларға төтеп бере алмайды, олардың бір бөлігі қабаттың экстремалды жағдайларында летальды жағдайға ұшырайды.

Осы жағдайларды ескере отырып біздің зерттеулерімізде әртүрлі тереңдіктерден (0-10 см; 10-20 см; 20-30 см; 30-40 см; 40-50 см) алынған құрамында фосфоры қалдықтары бар

шламдар мен шлактардың сынамларының алдымен физикалық-химиялық сипаттамасы жасалынды: Құрамында фосфоры бар қалдықтарды 2-ші суретте көрсетілгендей 4 шартты топқа бөлуге болады: А – ашық түсті борпылдақ, В – сұр-қара түсті қопсытылған, С – қою қара тығыз, D – Ашық түсті тығыз (2-сурет). Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардың рН көрсеткіші – 6-7, шламдардың рН көрсеткіші 7,0 тең болды.



2-сурет – Құрамында фосфоры бар техногендік қалдықтардың шлактары мен шламдары

Біздің ғылыми-зерттеу жұмыстарымызға дейін жүргізілген зерттеулерден белгілі болғандай құрамында фосфор қалдықтары бар шламдар мен шлактардың фракциялық құрамы зерттелген. Қалдықтардың түйіршіктелген фракциялары басымдылыққа ие, түйіршіктелген фракциялардың көптеп қалыптасуына шикізатты қайта өңдеудің технологиялық параметрлері ғана емес, сондай-ақ, ауа-райының климаттық жағдайлары мен сақтаудың уақытша сипаттамалары да әсер етеді. Қалдық жиналған қойма алаңдарындағы үйінділердегі түйіршіктелген шлактар көлемі 10,0-18,0 см шамасында, кейде көлемі 30,0 см дейінгі үлгілер кездеседі [Issayeva A.U. et al. 2017].

Құрамында фосфор қалдығы бар шламдар мен шлактар әртүрлі тұздылыққа, минералдық құрамға және сілтілік жағдайға ие және олардың

геологиялық жасы, пайдаланылған горизонттың стратиграфиясына және т.б. жағдайларға байланысты құрамы, минералдануі жүреді. Фосфор қалдықтарының рентген-структура диффрактометриялық талдаулар нәтижесінде шлактар мен шламдардың минералдық құрамында SiO_2 кварц, CaCO_3 – кальцит, Fe_2O_3 – гематит болатыны анықталды.

Әрі қарай фосфор қалдықтарының шламдары мен шлактарының үлгілеріне микробиологиялық зерттеулер жүргізілді. Қалдық қабаттарының микробиологиялық сандық сипаттамасы аэробты және анаэробты микрoорганизмдердің құрамын анықтауды қамтыды. 1-кестеде құрамында фосфоры бар шламдар мен шлактардағы аэробты және анаэробты микрoорганизмдерінің құрамын зерттеу нәтижелері берілген.

1-кесте – Құрамында фосфоры бар шламдар мен шлактардағы ЖМС, КТБ\мл

Үлгілер	Микрoорганизмдердің жалпы саны, КТБ\мл	
	Аэробтар	Анаэробтар
Құрамында фосфоры бар шламдар	$2,5 \times 10^7$ КТБ/мл	$3,8 \times 10^4$ КТБ/мл,
Құрамында фосфоры бар шлактар	$80,00 \times 10^6$ КТБ/мл	$0,50 \times 10^2$ КТБ/мл,

Құрамында фосфоры бар қалдықтардың микроорганизмдерінің жалпы санын зерттеу барысында аэробты микроорганизмдердің жалпы саны, тиісінше $80,00 \times 10^6$ КТБ/мл және $2,5 \times 10^7$ КТБ/мл құрайтыны анықталды.

Құрамында фосфоры бар шламдар қабаттарындағы аэробты микроорганизмдер жасушаларының саны құрамында фосфоры бар шлактар қабаттарының қалдықтарынан төмен, ал анаэробтардың мөлшері кері корреляция байқалады, шлак сынамаларында $-3,8 \times 10^4$ КТБ/мл, ал шлам сынамаларында анаэробтардың саны $-0,50 \times 10^2$ КТБ/мл, яғни анаэробты микроорганизмдер саны аэробтарға қарағанда төмен.

Заттардың айналу процестерінде (айналым) экологиялық маңызға тек белсенді өмір сүруге

қабілетті микроорганизмдер ғана ие болады. Бактериялар үшін санның шартты өлшемі ретінде 1 г субстратқа кемінде 1 млн. шама қабылданды, яғни мұндай санда ғана олар елеулі экологиялық маңызға ие болуы мүмкін. Әрбір экологиялық фактор (температура, қоректік заттардың саны, макро- және микроэлементтердің шоғырлануы) белгілі бір сандық көрсеткіштермен сипатталады, атап айтқанда, оптимум деп аталатын фактордың қолайлы дозасы және организмдер қатты сезінетін фактордың қолайсыз дозасы [Kakareka, E. V. et al. 2017].

Бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдердің таза культураларына толық морфологиялық, таксономиялық сипаттамалары [Don J. Brenner et al. 2004, John G. Holt et al. 1997] 2-кестеде келтірілген.

2-кесте – Гетеротрофты микроорганизмдердің таксономиялық сипаттамасы

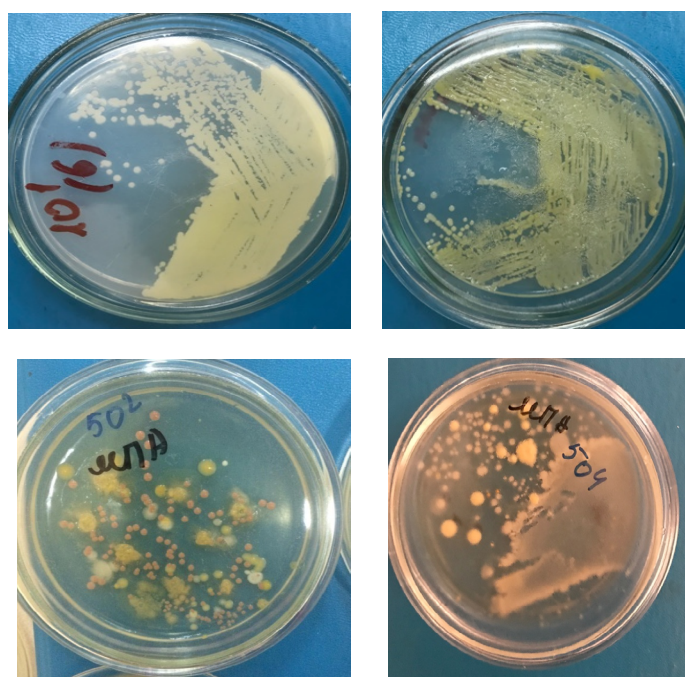
Үлгілер	Штамм	Колониялардың макроморфологиялық сипаттамасы	микроморфологиясы
Құрамында фосфоры бар шлактар (0-10 см)	<i>AIO</i>	Колониялары домалақ, ақшыл-сары крем түсті, беті тегіс, шеттері тегіс, жылтыр, консистенциясы жұмсақ	Клетка пішіндері таяқша тәрізді ірі, жекелей, дара орналасқан грам оң бациллулар
	<i>AIP</i>	Колониялары домалақ, ақшыл сары түсті, консистенциясы жұмсақ	Клеткалары таяқша тәрізді, жекелей орналасқан, грам оң бациллулар
	<i>IA10</i>	Колониялары домалақ, сарғыш-ақшыл түсті, беті тегіс, шеттері тегіс, жылтыр, консистенциясы жұмсақ	Клеткалары жекелей және бір-біріне жабысқан ірі таяқшалар, қозғалғыш
Құрамында фосфоры бар шлактар (20-30 см)	<i>ABF</i>	Колонияларының түсі сары түсті, жылтыр, консистенциясы жұмсақ, шеттері тегіс	Клеткалары диплококкалар, тетракоккалар
	<i>FAI</i>	Колонияларының түсі қоңыр, консистенциясы паста тәрізді	клеткалары жекелей, майда таяқшалар, грам оң бациллулар
	<i>BIOM 1</i>	Колониялары дөңгелек, ақшыл сары сүт тәріздес, анық айқындалған ортасымен. диаметрі 2мм және одан кіші, шеттері тегіс емес	Грамм оң, клетка пішіндері коккалар, қысқа тізбектер түрінде әртүрлі болып орналасқан
Құрамында фосфоры бар шлактар (40-50 см)	<i>IOFB50</i>	Колониялары дөңгелек пішінді, крем тәрізді сарғыш түсті, жұмсақ, шеттері иректелген	Клеткалары бір-біріне жабысқан, кокка пішінді, диплококк түрінде де кездеседі, қозғалыссыз
	<i>IOF 50</i>	Колониялардың түсі крем тәрізді сарғыш	Клеткалары бір-біріне жабысқан коккалар, диплоктар
	<i>IIOFB50</i>	Колониялары ақшыл-сары түсті, дөңгелек, шеттері тегіс, беті көтеріңкі, профиль тамшы тәрізді, жұмсақ консистенция	Грамм оң таяқшалар, тізбек тәрізді және жекелей, жұптасып та орналасқан
	<i>FIA50</i>	Сүт түсті колониялар, колониялар пішіні дөңгелек фетонды шеті бар, тегіс, консистенциясы жұмсақ, колониялар көлемі 0,5-1 мкм	Граммтеріс таяқшалары, 0,4-0,5 мкм, жұптармен біріктірілген жинақтар түрінде орналасқан

Үлгілер	Штамм	Колониялардың макроморфологиялық сипаттамасы	микроморфологиясы
	<i>FIAO50 Microccus</i>	Колониялары апельсин түстес қызғыш-сары түсті, домалақ, майда, профілі тегіс, беті тегіс, шеттері тегіс, консистенциясы жұмсақ, диаметрі 1-4 мкм, біртекті құрылымды	24 сағаттағы клеткалар кокка тәрізді, , козғалыссыз, грам оң клеткалар.

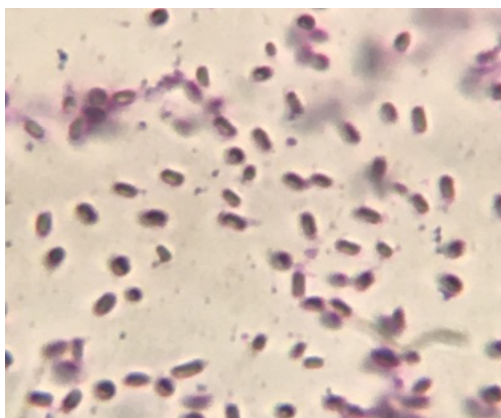
Әрі қарай микроорганизм культураларының микроскопиялық зерттеулерінің нәтижелері көрсетілді. Зерттеу нәтижесінде 0-10 см тереңдіктен бөлініп алынған бактериялардың кейбірінің 3-суретте колонияларын келтірдік, колонияларға таксономиялық белгілеріне қарай толық морфологиялық сипаттамалар жасалынды (3-сурет), бактериялардың таза культураларының 10-20 см тереңдіктен бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдер таза штаммдары келтірілді, оларды: *AIO* грам оң бациллустар, штамм *AIP* грам оң бациллустар *IA 10* бациллустар деп штрихтармен таңбаланды (4-сурет), әрі қарай 5, 6-суреттерде 20-30 см тереңдіктен алынған фосфор қалдықтарының шлактарынан бөлініп алынған гетеротрофты

микроорганизмдердің таңбаланған штаммдары *ABF* грам оң тетракоккалар, *FAI* грам оң бациллус таяқшалары, *BIOM 1 Microccus sp.* бөлініп алынды (5-сурет), сондай-ақ 40-50 см тереңдіктен бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдер *IO 50* коккалар, *IOF 50* кокка штаммдары, *FIAO50 Microccus sp.*, анықталды (6-сурет). Ал 7-суретте құрамында фосфор қалдығы бар шлам құрамынан бөлініп алынған бациллус *AAShF* штаммының грам оң 5 жаңа түрі: *AAShF1*; *AAShF2*; *AAShF3*; *AAShF4*, *AAShF5* анықталды (7-сурет).

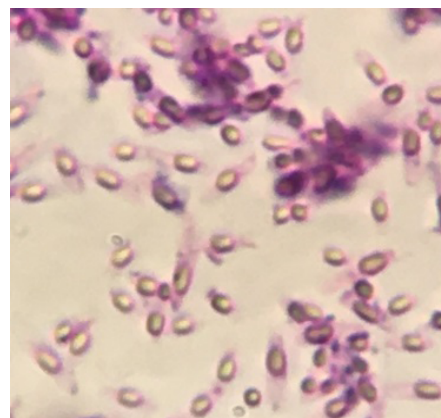
Микроорганизмдер культураларына микроморфологиялық және микроскопиялық зерттеулер, Грам бойынша бояу нәтижелері келесі суреттерде көрсетілді (5-8-сурет).



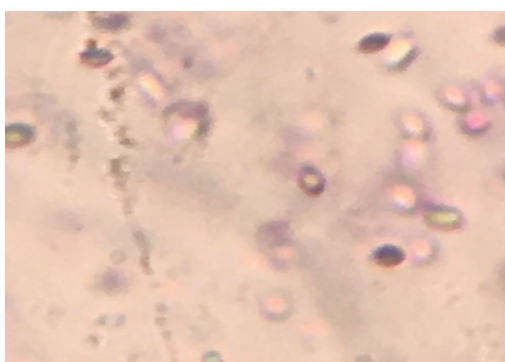
3-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардан бөлінген гетеротрофты микроорганизмдердің кейбір колониялары (горизонт 0-10 см)



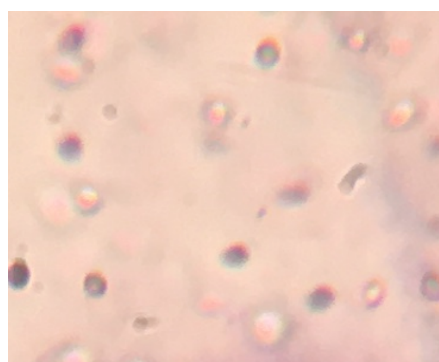
а
AIO грам оң бациллустар



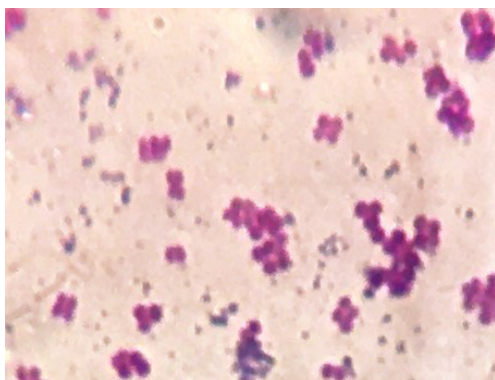
б
AIP грам оң бациллустар



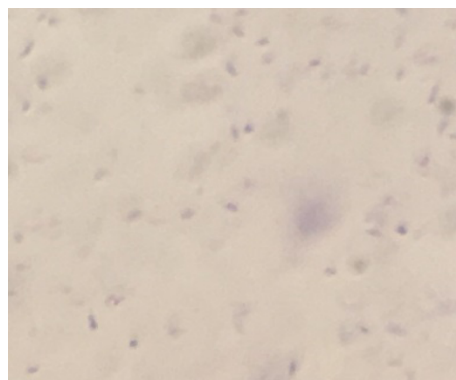
с
IA 10 bacilli



4-сурет – 10-20 см тереңдіктен бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдер изоляттары ×100

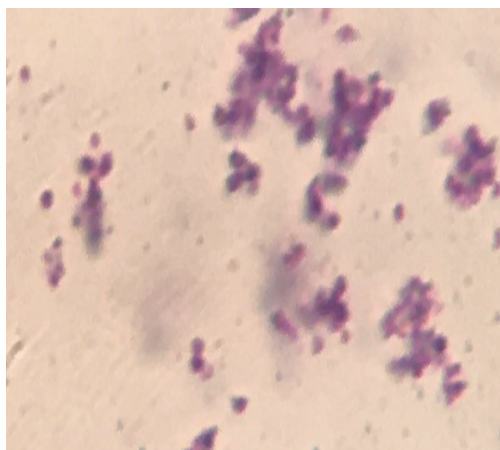


а
ABF грам оң тетракоккалар

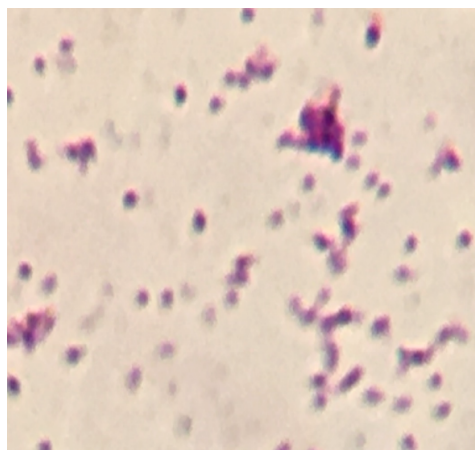


б
FAI грам оң бациллустар

5-сурет – 20-30 см тереңдіктен бөлініп алынған гетертрофты микроорганизмдер ×100

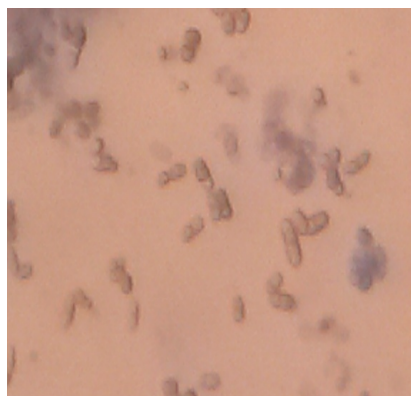


IO 50 коккалар



IOF 50 коккалар

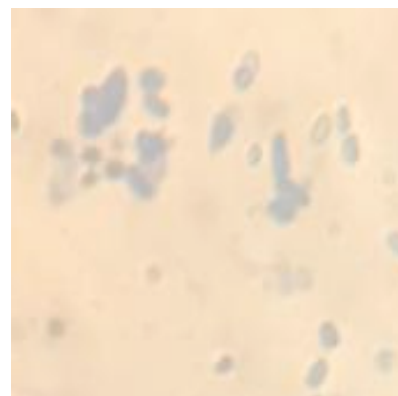
6-сурет – 40-50 см тереңдіктен бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдер $\times 100$



AAShF1



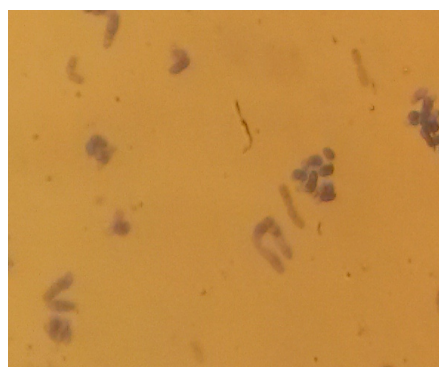
AAShF2



AAShF3



AAShF4



AAShF5

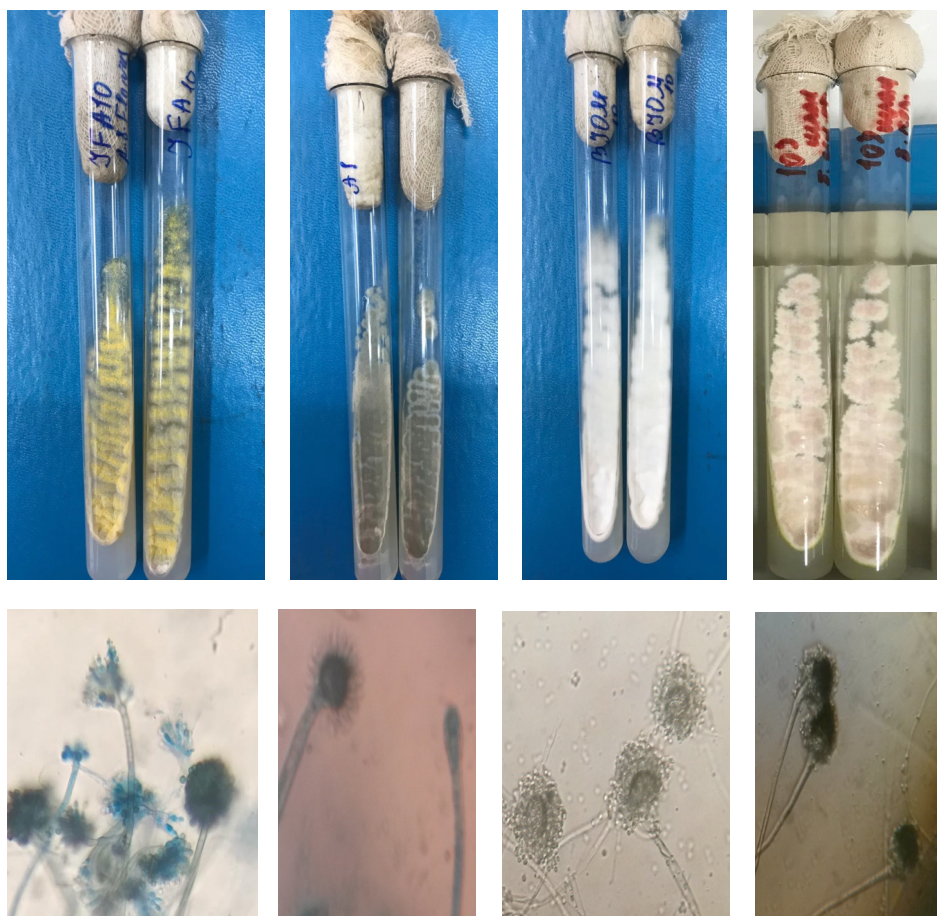
7-сурет – Шлам құрамынан бөлініп алынған AAShF бактериясы штамдары изоляттарын бояу $\times 100$

Негізгі зерттеу нысаны ретінде алынып отырған фосфор қалдықтарының құрамынан микромицетті саңырауқұлақтарының белсенділігі айтарлықтай жоғары екендігі байқалды.

Микромицетті саңырауқұлақтардың туыстарынан *Aspergillus* туысының түрлері доминантты топтардың бірі болды. Олардың ішінен біздің бөліп алған аспергиллус туысының өкілдерінен: *Aspergillus flavus* өкілдерінің 2 жаңа штаммы *AsZ* және *AsF*, *Aspergillus niger* *AsIA* штаммын, *AsPN* штаммын *Aspergillus tubingensis* түріне, ал *Aspergillus terreus* түрінің *JOM* штаммын ПТР талдаулар арқылы анықтадық. Ал таксономиялық белгілеріне қарай 8-суретте көрсетілгендей макро және микроморфологиялық сипаттамалар жасау арқылы аспергиллус туысының басқа да өкілдерін анықтадық, олар: *AiA* штаммы – *Aspergillus restrictus*; *Aspergillus fumigatus* – *AO 50F*; *As.flavipes* [Kulko A. B. 2012., Sutton D., et al. 2001] анықтадық (8-сурет).

Сонымен қатар ашытқылар, актиномицеттер бар екендігі анықталды. *AiAF 50Mucorales*, *AA50-аскомицеттер*, ашытқылар *FM* анықталды.

Гетеротрофты және микромицетті микроорганизмдерден басқа нитрификаторлар, денитрификаторлар, азотфиксациялаушы микроорганизмдер және теміртотықтырушы микроорганизмдер мен күкіртотықтырғыш микроорганизмдер топтары бөлініп алынды және ПТР талдамасы жасалынды. Олар: *NJA* штаммы денитрифицирлеуші бактерияларға *Pseudomonas stutzeri*, термофильды бактерияларға *MSO* штаммы *Methyloversatilis thermotolerans*, штамм *Nit1 Nitrosomonas europaeae*, *uamm ASA* және *TS* – *Ralstonia pickettii* түрінің 2 жаңа штаммы, *NAO* – *Acinetobacter sp.*, *ST* – *Alicyclobacillus tolerans (Sulfobacillus thermosulfidooxidans)*, *NS1* – *Zoogloea resiniphila*, *TS2* – *Gallionella capsiferiformans uamm*, *uamm ThIO-Acidithiobacillus ferrooxidans* түрлеріне жататынын талдаулардан анықталды.



8-сурет – *Aspergillus* туысы өкілдерінің таза дақылдары мен конидиетасушылары $\times 40$

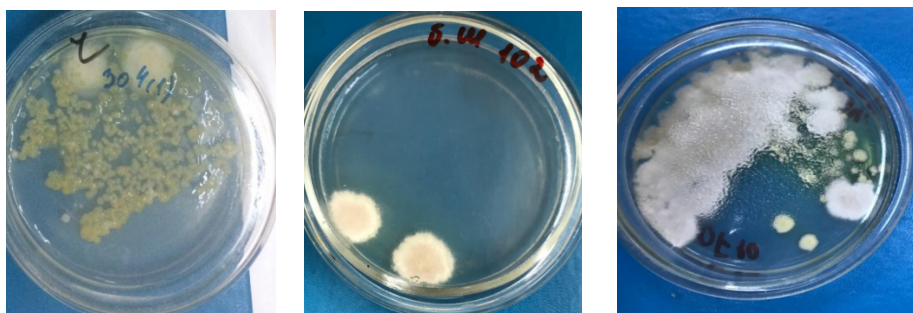
Әртүрлі тереңдіктен алынған құрамында фосфорқалдығы бар шлактар мен шламдардан бөлініп алынған микромицеттердің кейбір топтарының колониялары, 0-10-20 см тереңдікте таралған микромицетті саңырауқұлақтардың колониялары, 9-суретте солардың кейбір колонияларының суреттерін келтірдік, колонияларға морфологиялық сипаттамалар жасалынып, микроскоптау арқылы *Aspergillus* тусының өкілдері екені анықталды, әрі қарай 10, 11-суреттерде қалдықтардың

терең горизонттарынан бөлініп алынған колониялардың суреттері келтірілді, мысалы 50 см тереңдіктегі қабаттардан бөлініп алынған актиномицеттер, аскомицеттер және т.б. колониялар (10, 11-суреттер) көрсетілген.

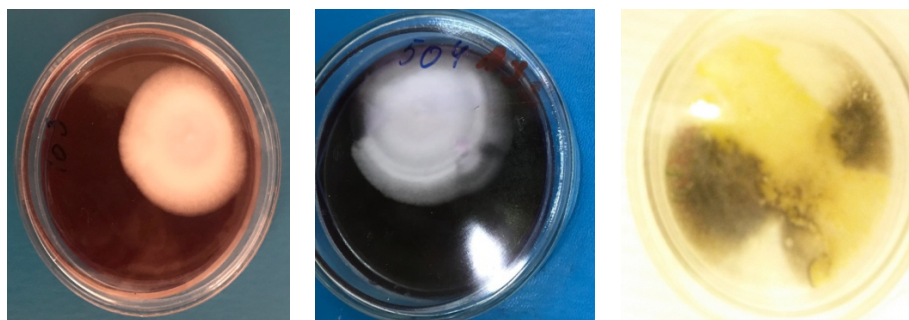
Ал құрамында фосфор қалдығы бар шламдардың микрофлорасында өзгешеліктер біршама байқалды, 12-суретте көрсетілгендей *Aspergillus* бірашама колониясының ерекшелігінен бөлек, ашытқылардың, актиномицеттердің басым екендігі байқалды (12-сурет).



9-сурет – Құрамында фосфоры бар шлактар қалдықтарының бөлініп алынған микроскопиялық саңырауқұлақтардың колониялары (0-10 см, 10-20 см тереңдігінен)



10-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардан бөлінген микроорганизмдер колониялары (горизонт 20-30 см)



11-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардан бөлінген микроорганизмдер колониялары (горизонт 40-50 см)



12-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шламдардан бөлінген микроорганизмдер колониялары

Қорытынды

Фосфор қалдықтарының сынамаларына физика-химиялық, микробиологиялық зерттеулер жүргізу нәтижесінде:

– Құрамында фосфор қалдығы бар шламдар мен шлактардың физикалық сипаттамасы жасалынды, олардың: жеңіл, қара – сұр түсті, жұмсақ, тығыз емес, қара-қоңыр топырақ түстес, жұмсақ, борпылдақ, үгітілгіш кесек түрінде, қатты тас күйінде кездесетіні анықталды, сутектік көрсеткіштері :рН -6-7,5 аралығында екендігі анықталды.

– Шламдар мен шлактар әртүрлі тұздылыққа, минералдық құрамға және сілтілік жағдайға ие екендігі және олардың геологиялық жасы, пайдаланылған горизонттың стратиграфиясына және т.б. жағдайларға байланысты құрамы, минералдық құрамында SiO_2 кварц, $CaCO_3$ – кальцит, Fe_2O_3 –гематит болатыны анықталды.

– Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде микроорганизмдер әртүрлі физиологиялық топтарға жатқызылды: гетеротрофты микроорганизмдер тобынан: 0-10 см тереңдіктен штамм *AIO* грам оң бациллустар, штамм *AIP* грам оң бациллустар *IA* 10 бациллустар, 20-30 см тереңдіктен бөлініп алынған гетертрофты микроорганизмдер *ABF* грам оң тетракоккалар, *FAI* грам оң бациллустар, *BIOM 1 Microccus sp.*, ал 40-50 см тереңдіктен бөлініп алынған гетертрофты

микроорганизмдер *IO 50* коккалар, *IOF 50* кокка штаммдары, *FlAO50Microccus sp.*,штаммдары бөлініп алынды. Ал шлам құрамынан бациллус *AAShF* штамының грам оң 5 түрі *AAShF1*; *AAShF2*; *AAShF3*; *AAShF4*, *AAShF5* анықталды.

– Микромицетті саңырауқұлақтардың *AsIA utammy- Aspergillus Niger*, *AsPN- Aspergillus tubingensis*, *JOM- Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* өкілдерінің 2 жаңа штаммы *AsZ* және *AsF* штамдары идентификацияланды, ал келесі саңырауқұлақтар штамдарының таксономиялық белгілеріне қарай морфологиялық сипаттама жасалып түрлік құрамы анықталды: *Aspergillus restrictus- AiA*; *Aspergillus fumigatus -AO50F*; *As.flavipes* түрлерінің жаңа штаммдары. Сонымен қатар ашытқылар, актиномицеттер бар екендігі анықталды, олар *AiAF50 Mucorales*, *AA50-аскомицеттер*, ашытқылар *FM* штамдары анықталды

– Денитрификациялық, нитрификациялаушы және тион бактериялары мен сульфидті бактериялардың жаға штамдары бөлініп алынды, идентификациясы жасалынды: *Pseudomonas stutzeri- NJA*, *Methyloversatilis thermotolerans-MSO*, *Nitrosomonas europaeae- Nit1*, *Ralstonia pickettii- ASA* и *TS 2* жаңа штаммы, *NAO – Acinetobacter sp.*, *ST – Alicyclobacillus tolerans (Sulfobacillus thermosulfidooxidans)*, *Zoogloea resiniphila–NS1*, *TS2-Gallionella capsiferriiformans*, *ThIO- Acidithiobacillus ferrooxidans*.

References

- 1 Bhappu R.B.,Reunolds D.H., Roman R.I. Molybdenium recovery from sulfide and oxide ores // J. Metals. 1965.V.9, №4. P. 487-497.
- 2 Kamalov M. R. The Role of microorganisms in leaching metals from the ores of Kazakhstan. Alma-ata. “Gylym” 1990.
- 3 Gabov Yu. a., Kist V. E. Waste of Kazakhstan and problems of their utilization. 3-part./Almaty: New book. 2018. -164 с.
- 4 Chunsheng Qiu, Yue Bi, Jinxin Zheng, Dong Wang, Chenchen Wang,Nannan Liu, Shaopo Wang, Liping Sun. Effect of ozonation treatment on the chemical speciation distributions of heavy metals in sewage sludge and subsequent bioleaching process. Environmental Science and Pollution Research (2020) © 2020 Springer Nature Switzerland AG. Part of Springer Nature.

- 5 Wasim S., Guodong Zh., Ghufanud D., Xiangxian M., Muhammad R., Wang X., Metals Extraction from Sulfide Ores with Microorganisms: The Bioleaching Technology and Recent Developments. The Indian Institute of Metals- IIM 72(3):559–579.2019.
- 6 Chetverikova D. V. Biological leaching of zinc and copper from the waste of flotation enrichment of sulfide ores of the Burib-aevsky mining and processing plant in a percolation plant / D. V. Chetverikova, M. D. Bakaeva, S. P. Chetverikov et al. // Izvestiya Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences. – 2013. – Vol. 15. – № 3 (5). – Pp. 1690-1693.
- 7 MÄKINEN J., WENDLING L., LAVONEN T., KINNUNEN P., Sequential Bioleaching of Phosphorus and Uranium. J. Minerals 9.,331.2019
- 8 Bulaev A.G., Melamud V.S. Biox Of Color Metals From Washery Refuses. /International research journal. № 12 (78). 2018 Part 1,Декабрь.
- 9 NING Zh., LI W., KE Zh., TERRY W., PETER T., BRYAN J., YI Zh., Pretreatment of lignocellulosic biomass using bioleaching to reduce inorganic elements. J.Fuel 246. 386–393. 2019.
- 10 Payam Rasoulnia, Seyyed Mohammad Mousavi. Bioleaching of Precious Metals from an Oil-Fired Ash Using Organic Acids Produced by Aspergillus Nigerin Shake Flasks and Bioreactor. International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol. 7, No. 6, December 2016.
- 11 Ning Zhanga, Li Wangb,Ke Zhangc,Terry Walkera,Peter Thyd,Bryan Jenkinsb,Yi Zhenga. Pretreatment of lignocellulosic biomass using bioleaching to reduce inorganic elements. Fuel 246 (2019) 386-393 <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.02.138>.
- 12 Muthusamy Govarthanam, Gun-Woong Lee, Jung-Hee Park, Jae Su Kim, Sung-Sik Lim, Sang-Ki Seo, Min Cho, Hyun Myung, Seralathan Kamala-Kannan, Byung-Taek Oh “Bioleaching characteristics, influencing factors of Cu solubilization and survival of *Herbaspirillum* sp. GW103 in Cu contaminated mine soil,” *Chemosphere*, vol. 109, pp. 42-48, 2014.
- 13 Tong-Jiang Xu, Yen-Peng Ting “Fungal bioleaching of incineration fly ash: Metal extraction and modeling growth kinetics,” *Enzyme. Microb. Technol*, vol. 44, no. 5, pp. 323-328, 2009.
- 14 Issayeva A. U., S. K. Naekova, L. V. Rubtsova The Role of Microorganisms in Bioleaching of Lanthanum, Cerium and Neodymium from Phosphorus-Containing Wastes in the South of Kazakhstan. *Ijsrm.Human*. Vol. 7 (4): 194-200. 2017.
- 15 A. U. Issayeva Bishimbayev V. K., Mukhamedzhanov B. G., et al. Method for processing phosphorus-containing waste with the extraction of La, Te and CE. Innovation patent of the Republic of Kazakhstan No. 29154 dated 02.09.2013.
- 16 Rogatykh S.V., Levenets O.O., Muradov S.V., Dokshukina A.A., Kofiadi I.A. Assessment of qualitative and quantitative composition of communities of cultivated acidophilic microorganisms by pcr-rv methods and analysis of clones library. *Microbiology*. 2013, Volume 82, No. 2, p. 212-217.
- 17 Rogatykh S.V. Primer systems used to identify representatives of the community of chemolithotrophic microorganisms of the Shanuch deposit (Kamchatka). July 4, 2018. DOI: 10.24411/1728-323X-2018-12060. №
- 18 STS R ISO 7523-2016. STS 33208-2014. STS 28353.3-2017. STS R 57655-2017. FER F 16.1: 2.2: 2.3: 3.36-02. FER F 14.1: 2: 4.140-98. Atomic absorption spectroscopy: objects of analysis, fulfilled standards. January, 2019.
- 19 Reznikov A. A. Methods of analysis of natural waters / A. A. Reznikov, E. p. Mulikovskaya, I. Yu. Sokolov. – Moscow: Nedra, 1970. – 140 p.
- 20 Barbara L. D., Christine M.C. X- ray Powder Diffraction (XRD). Integrating Research and Education. Geochemical Instrumentation and Analysis. <https://serc.carleton.edu/18400>. April 05, 2019.
- 21 Schabenberger O., Pierce F.J. Contemporary statistical models for the plant and soil sciences. CRC Press, Boca Raton, 256 p. 2002.
- 22 Issayeva A. U., Naekova S., Rubtsova L.V.The Role of Microorganisms in Bioleaching of Lanthanum, Cerium and Neodymium from Phosphorus -Containing Wastes in the South of Kazakhstan. *International journal of science and research methodology(IJSRM)*, 2017, vol.7, Issue 4, 194-200
- 23 Kakareka E. V. Industrial ecology: a Textbook / M. G. Yasoveyev, E. V. Kakareka; Ed. Jasaveev. – M.: research center INFRA-M, New. knowledge, 2017. – 292 p.
- 24 Don J. Brenner, Noel R. Krieg, James T. Staley and George M. Garrity, *Bergey’s manual of systematic bacteriology*. 2004.
- 25 John G. Holt, Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams. *Bergey’s Manual of determinative bacteriology*. Moscow Publishing House “Mir” 1997.
- 26 Kulko A. B. Atlas of conditionally pathogenic fungi of the genus *Aspergillus*-pathogens of bronchopulmonary infections [Text] / A. B. Kulko ; Department of health of Moscow, Moskovsky Gor. scientific and practical center for fighting tuberculosis. Moscow: Novosti printing House, 2012, 155 p.
- 27 Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. – Moscow: Mir, 2001-P. 470s.