

© О.С. Ковров¹, І.І. Клімкіна¹, А.В. Самарська², С.А. Красовський¹

¹ Національний технічний університет «Дніпровська політехніка», Дніпро, Україна

² Дніпровський національний університет залізничного транспорту імені академіка В. Лазаряна, Дніпро, Україна

ЛАБОРАТОРНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ БІОВИЛУГОВУВАННЯ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ЯК ЯВИЩА КИСЛОТНОГО ШАХТНОГО ДРЕНАЖУ

© O. Kovrov¹, I. Klimkina¹, A. Samarska², S. Krasovskyi¹

¹ Dnipro University of Technology, Dnipro, Ukraine

² Dnipro National University of Railway Transport Named after Academician V. Lazaryan, Dnipro, Ukraine

LABORATORY INVESTIGATION OF THE PROCESS OF HEAVY METALS BIOLEACHING AS AN ACID MINE DRAINAGE PHENOMENA

Мета. Дослідити в лабораторних умовах особливості процесів біовилуговування важких металів бактеріями виду *Acidithiobacillus ferrooxidans* як явища кислотного шахтного дренажу.

Методика дослідження полягає у вивченні закономірностей хімічних процесів кислотного шахтного дренажу в гірничих сірковмісних породах внаслідок активності ацидофільних бактерій виду *A. ferrooxidans*. Досліджено процес вилуговування сірки та міді з штучно підготовлених культуральних середовищ. Кількісне визначення вмісту іонів міді у пробах культурального середовища виконано колориметричним методом. Для детальної оцінки змін концентрацій заліза та міді у пробах та детального мікроелементного аналізу застосовано метод мас-спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ІЗП-МС).

Результати дослідження. Виконана низка експериментів щодо біопоглинання та біовилуговування важких металів в культуральних середовищах з бактеріями *A. ferrooxidans*. Встановлено, що внаслідок бактеріальної активності спостерігається поступове зниження рН в культуральних середовищах через ріст бактерій, внаслідок чого важкі метали вилуговуються в розчин.

Наукова новизна. Встановлено нові залежності щодо біовилуговування та біопоглинання важких металів в культуральних середовищах внаслідок росту ацидофільних бактерій. Так, за 12 днів експерименту в середовищі з елементарною сіркою концентрація сірчаної кислоти підвищилася в 2,5-3 рази, рН розчину понизився в середньому з 2,66 до 2,17, а об'ємні витрати NaOH для нейтралізації H₂SO₄ у розчині збільшилися з 0,73 до 1,83 мл. На середовищі з сульфідом міді Cu₂S концентрація заліза за рахунок його поглинання бактеріями зменшилась в середньому з 113,42 до 44,13 ммоль/л, концентрація міді збільшилась з 2,77 до 12,1 ммоль/л, рН розчину понизився в середньому з 2,63 до 2,12, одиниць.

Практичне значення. Результати досліджень дозволяють розробити дієві заходи щодо усунення кислотного шахтного дренажу з породних масивів, що містять сульфіди важких металів.

Ключові слова: кислотний шахтний дренаж, біовилуговування, важкі метали, культуральне середовище, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, метод мас-спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ІЗП-МС)

Вступ. У місцях розробки родовищ корисних копалин найбільш значними джерелами забруднення навколишнього природного середовища є породні від-

вали, що впливають на всі складові компоненти біосфери: надра, гідросферу, атмосферу, ґрунти, флору і фауну. Однією з проблем стосовно негативного впливу гірничих підприємств на довкілля є винесення кислотних сполук з поверхні породних відвалів та біовилуговування важких металів внаслідок бактеріальної активності. У зарубіжній літературі це явище отримало назву «кислотний дренаж порід» (Acid Mine Drainage, AMD) [1, 2].

Але незважаючи на численні дослідження в регіонах світу з видобутку мінеральних та енергетичних корисних копалин явище кислотного дренажу порід, що складаються на земній поверхні у вигляді відвалів, залишається екологічною проблемою, дієвого рішення для якої не існує.

Актуальність досліджень. У світовій практиці рекультивації порушених земель кислотний стік з поверхні породних відвалів розцінюється як одна з головних проблем гірничодобувних регіонів, тому що негативний вплив цього явища може поширюватися на значні відстані за межами гірничого підприємства.

Явище кислотного стоку з поверхні породних відвалів пов'язане з утворенням у відвальній масі кислотних компонентів внаслідок термохімічних реакцій окислення та біологічної активності мікроорганізмів. Ці речовини під впливом атмосферних опадів можуть виноситися ерозійними потоками на суміжні з відвалом території. Стічні води з кислою реакцією і високою агресивністю, потрапляючи в ґрунти та ґрунтові води, порушують їх фізико-хімічні властивості. Для природних ґрунтів показник кислотності рН, обумовлений концентрацією вільних іонів водню в ґрунтовій витяжці, варіює в діапазоні 5,0...7,0. В породній масі, внаслідок біологічних та термохімічних процесів, показник рН може знижуватися до 2 одиниць і менше. Згодом він може підвищуватися в результаті процесів вилуговування кислотних компонентів, їх реакції з іншими хімічними сполуками і поглинання мікроорганізмами.

Кислотний стік з поверхні шахтних відвалів обумовлений окисленням сульфідів, що містяться в породній масі, зокрема сульфіду заліза FeS_2 (пірит). Процес окислення починається відразу ж після вилучення породи з гірського масиву при проведенні гірничих виробок, а також в значній мірі посилюється діяльністю мікроорганізмів. В результаті утворюються сірчана кислота і сульфати. Проблема ускладнюється і тим, що побічним процесом синтезу кислоти є вилуговування важких металів, які зазвичай присутні в породній масі, і їх хімічної міграції, що призводить до забруднення і деградації водних об'єктів і ґрунтових екосистем.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Шахтні води зазвичай мають низьку кислотність за рахунок вмісту кисню в воді, що проникає в порожнечі шахт і окислює пірит FeS_2 , утворюючи кисле середовище, яке в своєму складі має важкі метали [3]. Тому екологічні критерії набувають дедалі більшої актуальності для оцінки якості кислих шахтних вод.

В роботі [4] розглянуто проблему дренажу кислих шахтних вод та їх зв'язку з хлорофілом *a*. Експеримент був проведений в шахті Сан-Домінго (Піренейський піритовий пояс, Південна Європа). Згідно з результатами факторного аналізу встановлено взаємозв'язок між властивостями кислотного дренажу та фотосинтетичною активністю вищих рослин.

Дослідження дренажу кислих шахт (AMD) дозволяє визначити умови адаптації мікроорганізмів до середовищ із низьким рівнем рН, регулюючи мембранні ліпідні композиції. Досліджено розподіл ліпідних біомаркерів, головним чином мікробного походження, на мідній шахті Dexing, Цзянсі, Китай. Встановлено, що в умовах низького рН бактерії пристосовуються до середовища та підтримують осмотичний баланс в мембранах клітин через збільшення циклопентильних кілець в структурі, що призводить до більш конденсованих клітинних мембран [5].

Використання зневодненого мулу кислотних шахтних вод, що були відібрані з покинутих японських шахт демонструє їх потенціал в якості альтернативного джерела заліза та кальцію, зокрема в технології синтезу гексаферриту барію [6].

Враховуючи масштаби проблеми, пропонуються методи її усунення. Так, в роботі [7] виконано оцінку впливу трьох лужних матеріалів: мергелю, піщаника та вапняку на нейтралізацію кислотності шахтних вод та осадження металів. Результати показали, що дані лужні матеріали знижували концентрації Fe, As, Cd, Cu, Pb і Zn в шахтних водах, в основному, завдяки їх високому вмісту карбонатів, що дозволяло переводити метали в осад. Відсотки видалення становили 100% для Fe, Cu та Pb для мергелю, піщаника та вапняку та близько 60% для Zn та Cd при використанні піщаника.

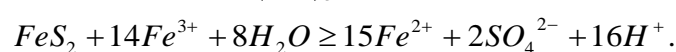
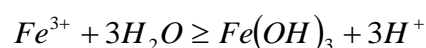
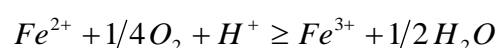
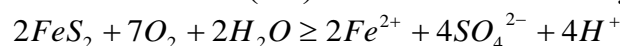
Ефективним є метод сумісного очищення стоків промислових кислих шахтних вод та комунальних стічних вод двокамерними мікробними паливними елементами [8], що дозволило підвищити рН з 2,50 до $4,12 \pm 0,6$.

Біологічний спосіб анаеробної очистки кислотних стоків є також перспективним. Так, в анаеробному послідовному реакторі для обробки дренажних кислих шахтних вод після додавання металів та підвищення концентрації сульфату від 500 до 1500 мг/л встановлено [9] збільшення біохімічної активності мікробної спільноти бактерій видів *Geobacter*, *Anaerolinea* та *Longilinea spp.*

Враховуючи вищевикладений аналіз досліджень проблеми кислотного шахтного дренажу, слід враховувати як механізм цього феномену, так і можливі методи управління цим природно-техногенним процесом.

Формулювання цілей статті. Мета статті полягає у вивченні явища кислотного шахтного дренажу внаслідок бактеріальної активності та процесів вилуговування важких металів.

Хімічні процеси кислотного шахтного дренажу в гірничих сірковмісних породах. Основні хімічні реакції окислення піриту FeS_2 в шахтних породах до утворення і накопичення кислоти (H^+) пояснюються наступними реакціями:



За даними польових досліджень кислотність порід палаючих шахтних відвалів внаслідок окислювальних реакцій становить менше 3,0 одиниць рН. При таких значеннях залізо та інші метали, такі як цинк, мідь, свинець, мишяк, марганець стають хімічно рухливими і вилуговуються з породної маси. Суміш з цих

сполук є токсичною для переважної більшості живих організмів наземних і водних екосистем.

На вугільних шахтах поверхневі стічні води з породних відвалів збираються в водовідвідних канавах по контуру нижньої основи і можуть накопичуватися в них або відводитися в природні зниження ландшафту (балки, яри). У першому випадку агресивні речовини стоків мігрують в ґрунти, формуючи стійкий ореол забруднення навколо відвалу. При відведенні кислих стічних вод через ставки-відстійники в зниження місцевості забруднюються ґрунти, а також підземні і поверхневі водні об'єкти. Кислотні стоки, потрапляючи в поверхневу або підземну мережу гідрографії, частково знижують рН. У міру віддалення від джерела забруднення показник рН збільшується в результаті ефекту розведення, але тут виникає інша проблема: сполуки заліза, присутні в стоках, при рН більше 3,0 випадають в осад оранжевого кольору, покриваючи дно водовідвідних каналів і ставок-відстійників і пригнічуючи тим самим діяльність живих організмів.

Процес утворення кислоти можна розділити на 3 фази: ініціація, поширення та згасання. Фаза ініціації починається з того моменту, коли породна маса, яка містить пірит, піддається впливу окислювача, але інтенсивність синтезу невелика. Фаза поширення пов'язана з синтезом кислоти, інтенсивність якого поступово знижується. Окислення піритної сірки може протікати в породній масі як при експлуатації відвала, так і протягом декількох років після закінчення відсіпання породи. Згодом відбувається поступове вимивання продуктів окислення і вилуговування. Тривалість окислювальних процесів залежить, перш за все від фізичних характеристик породного субстрату, особливо його проникності. Велика пористість породи сприяє швидшому окисленню піриту, інтенсивному вимиванню продуктів хімічних реакцій, а значить зниження агресивності породної маси [10].

Аналізуючи вищенаведені хімічні реакції можна зробити висновок, що окислення піриту веде до утворення великої кількості сірчаної кислоти. У цьому процесі важливу роль відіграють мікроорганізми, без яких швидкість хімічних реакцій була б значно нижче. Інтенсивність термохімічних процесів контролюється метаболічними реакціями автотрофних бактерій, активність яких максимальна при рН 2,0 ... 3,0. Коротка характеристика основних видів бактерій, які беруть участь в процесі окислення FeS_2 і синтезу кислоти, приведена в табл. 1.

Дослідження процесу вилуговування сірки та міді за допомогою культури *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Для експериментів з біовилуговування використовували бактерію штаму *Acidithiobacillus ferrooxidans*, яка є грам-негативною, паличкоподібною, ацидофільною, облігатно автотрофною, аеробною протеобактерією. Вона зазвичай знаходиться в глибоких печерах або у дренажі кислих шахтних вод, і зростає при оптимальному для них рівні рН 1,5-2,5. *A. ferrooxidans* отримує енергію від окислення двовалентного заліза до тривалентного заліза, а також перетворення сполук сірки до сірчаної кислоти. Ці бактерії мають здатність атакувати сульфідні мінерали, і конвертувати нерозчинні сульфідні металів, наприклад таких, як мідь, в розчинні сульфати.

Таблиця 1

Основні види бактерій, які беруть участь в термохімічних процесах окислення FeS_2 і синтезу кислоти [10]

Вид бактерій	Стисла характеристика
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Грам-негативні хемоавтотрофні, ацидофільні бактерії, що одержують енергію за рахунок окислення піритної сірки FeS_2 , сірчистих сполук і сульфатів. Нормально функціонують при рН середовища 0,8...6,98 і наявності невеликої кількості вологи. Штами використовуються в промисловому вилугованні металів з техногенних масивів гірських порід.
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> , <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> , <i>Ferrobacillus sulphooxidans</i>	Окислюють пірит, сполуки заліза, елементарну сірку і тіосульфати
<i>Thiobacillus concretivorus</i> <i>Thiobacillus neopalitanus</i> <i>Thiobacillus thioparus</i>	Ацидофільні бактерії, які відіграють другорядну роль в процесі синтезу кислоти

Ці представники ацидофільних сіркобактерій перетворюють елементарну сірку і сульфід міді (I) до сірчаної кислоти та іонів міді (II), відповідно, які можуть бути виявлені з часом. Таким чином можна моделювати процес біовилуговання, який залежить від мікробного окислення двовалентного заліза [11].

Метод культивування *Acidithiobacillus ferrooxidans* на елементарній сірці. Мікроорганізми вирощували в стерилізованих 500-мл-колбах Ерленмейера, заповнених середовищем, вказаним в табл. 2.

Таблиця 2

Середовище для зростання *Acidithiobacillus ferrooxidans* на елементарній сірці

Стерильний розчин/компоненти	Необхідна кількість	Фінальна концентрація
Сірка	0,5 г	5.0 г/л
KH_2PO_4 (20 г/л)	15 мл	3.0 г/л
$\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (10 г/л l)	1 мл	0.1 г/л
$\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ (10 г/л)	1,4 мл	0.14 г/л
NH_4Cl (10 г/л)	1	0.1 г/л
H_2O (дистильована, стерильна)	додано до 100 мл	

Середовище інокулювали 5 мл розчином, який містив культуру *A. ferrooxidans* і інкубували при 30°C за умов постійного перемішування. Щодоби з середовища відбирали по 10 мл проби, починаючи з моменту додавання культури мікроорганізмів ($T = 0$). Вимірювали рН проби за допомогою рН-метра.

Виконували титрування проби з метою визначення об'єму розчину 0,05 N NaOH на нейтралізацію кислоти, що утворюється внаслідок діяльності мікроорганізмів. Для цього до проби додавали 3 краплі спиртового розчину бромкрезолового зеленого та титрували по краплях розчином NaOH. Споживання NaOH в пробі $T = 0$ було пов'язано з низьким рН культурального середовища, а не з дією сірчаної кислоти. Таким чином, це значення віднімають з усіх наступних зразків.

Метод вилуговування халькозину (Cu_2S) за допомогою *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Бактерії вирощували в стерилізованих 500-мл-колбах Ерленмейера, заповнених культуральним середовищем (табл. 3).

Таблиця 3

Середовище для вилуговування халькозину із *A. ferrooxidans*

Стерильний розчин/компоненти	Необхідна кількість	Фінальна концентрація
Сульфід міді (I) Cu_2S	0.25 г	2.5 г/л
KH_2PO_4 (20 г/л)	2 мл	0.4 г/л
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (10 г/л)	1 мл	0.1 г/л
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (300 г/л)	11.1 мл	33.3 г/л
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (10 г/л)	1.4 мл	0.14 г/л
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (20 г/л)	1	0.2 г/л
H_2O (дистильована, стерильна)	додано до 100 мл	

В середовище інокульовано 5 мл вищевказаної культури бактерій і оброблено за вище описаною методикою. Відбирали 3 мл проби, починаючи з моменту інокулювання ($T = 0$), і кожного дня вимірювали рН за допомогою рН-метра, 400 мкл зразка переносили в чисту 1,5-мл-пробірку Еппендорф і зберігали в морозильній камері (-20°C) для подальшого мікроелементного аналізу з використанням методу мас-спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ІЗП-МС).

Колориметричне визначення вмісту міді. Кількісне визначення іонів міді (II) було досягнуто шляхом колориметричного визначення циклогексанона, що містить оксид міді, при довжині хвилі 595 нм. Оскільки іони дво- і тривалентного заліза заважають вимірюванням, вони спочатку повинні бути вилучені шляхом осадження у вигляді гідроксидів з використанням водного розчину аміаку. Іони міді залишаються в розчині через утворення розчинного комплексу тетрааміну міді, і в подальшому можуть бути виявлені колориметрично з використанням реактиву купрізону.

Всі заморожені проби об'ємом 400 мкл, які відбирались щодня з колб для культивування бактерій, розморожувались з додаванням 200 мкл 10% NH_3 . Після інтенсивного перемішування інкубували не менше 10 хв з подальшим центрифугуванням протягом 5 хвилин з швидкістю 10000 об/хв. 100 мкл прозорої рідини (супернатант) переносили в чисту 1,5-мл пробірку Еппендорфа і розбавляли 100 мкл дистильованої H_2O .

Наступні компоненти були додані в 1,5 мл-пробірку Еппендорфа в зазначеному порядку:

- 200 мкл розчину I буфера цитрату амонію;
- 10 мкл Cu^{2+} зразку;
- 120 мкл розчину II (боратний лужний буфер натрію)
- 40 мкл розчину III (містить діциклогексанона) – оксалодігідрозону 630 мкл H_2O .

Поглинання ретельно змішаного розчину вимірювали через 5 хв інкубації при кімнатній температурі. Останній зразок містив всі компоненти аналізу, за винятком зразка, який був замінений водою. Cu^{2+} визначали за допомогою наступної функції калібрування:

$$\text{Cu}^{2+} [\text{ммоль л}^{-1}] = 0,0607 \cdot A595 - 0,0004.$$

Виміри проводилися за допомогою пластикової кювети. Зразки були виміряні в порядку зростання концентрації Cu^{2+} .

Результати дослідження. Експерименти щодо біопоглинання та біовилуговування важких металів в культуральних середовищах з бактеріями *A. ferrooxidans* виконувались незалежно в 3 дослідницьких групах. Незважаючи на деякі розбіжності у значеннях, що обумовлено об'єктивними варіаціями та досвідом дослідницького персоналу, в результатах можна простежити певні закономірності.

Встановлено, що розвиток бактерій *A. ferrooxidans* середовищі з елементарною сіркою в експерименті з плином часу спостерігалася зміна рівня рН, зміна витрати NaOH і концентрації сірчаної кислоти, що показано на рис. 1.

Дослід показав поступове збільшення концентрації H_2SO_4 , відповідне зниження рН розчину з плином часу що пов'язане з ростом *A. ferrooxidans*. При цьому концентрація сірчаної кислоти за 12 днів підвищилася в 2,5-3 рази, рН розчину знизився в середньому з 2,66 до 2,17, а об'ємні витрати NaOH для нейтралізації H_2SO_4 у розчині збільшилися з 0,73 до 1,83 мл.

Результати дослід з біопоглинання заліза (Fe^{2+}) та біовилуговування міді (Cu^{2+}) внаслідок активності бактерій *A. ferrooxidans* показано на рис. 2.

Дослід показав, що розвиток бактерій *A. ferrooxidans* на середовищі з сульфідом міді Cu_2S в експерименті з плином часу спостерігалася зміна рівня рН і концентрації іонів заліза та міді, що показано на рис. 2.

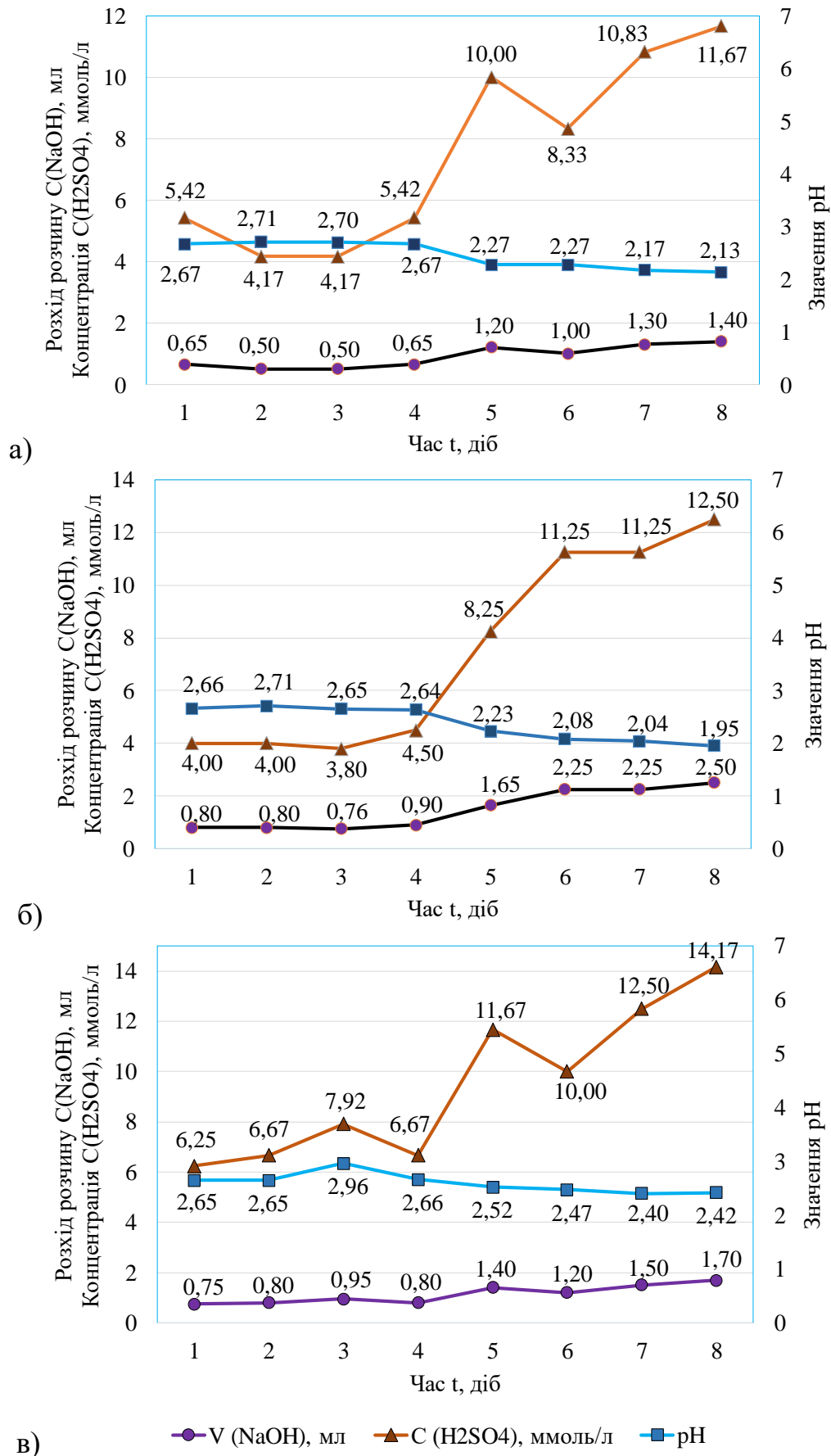


Рис. 1. Результати вилуговування сірки з порід (S^{2-}) та утворення сірчаної кислоти (H_2SO_4) внаслідок активності бактерій *Acidithiobacillus ferrooxidans*: а) експеримент 1; б) експеримент 2; в) експеримент 3

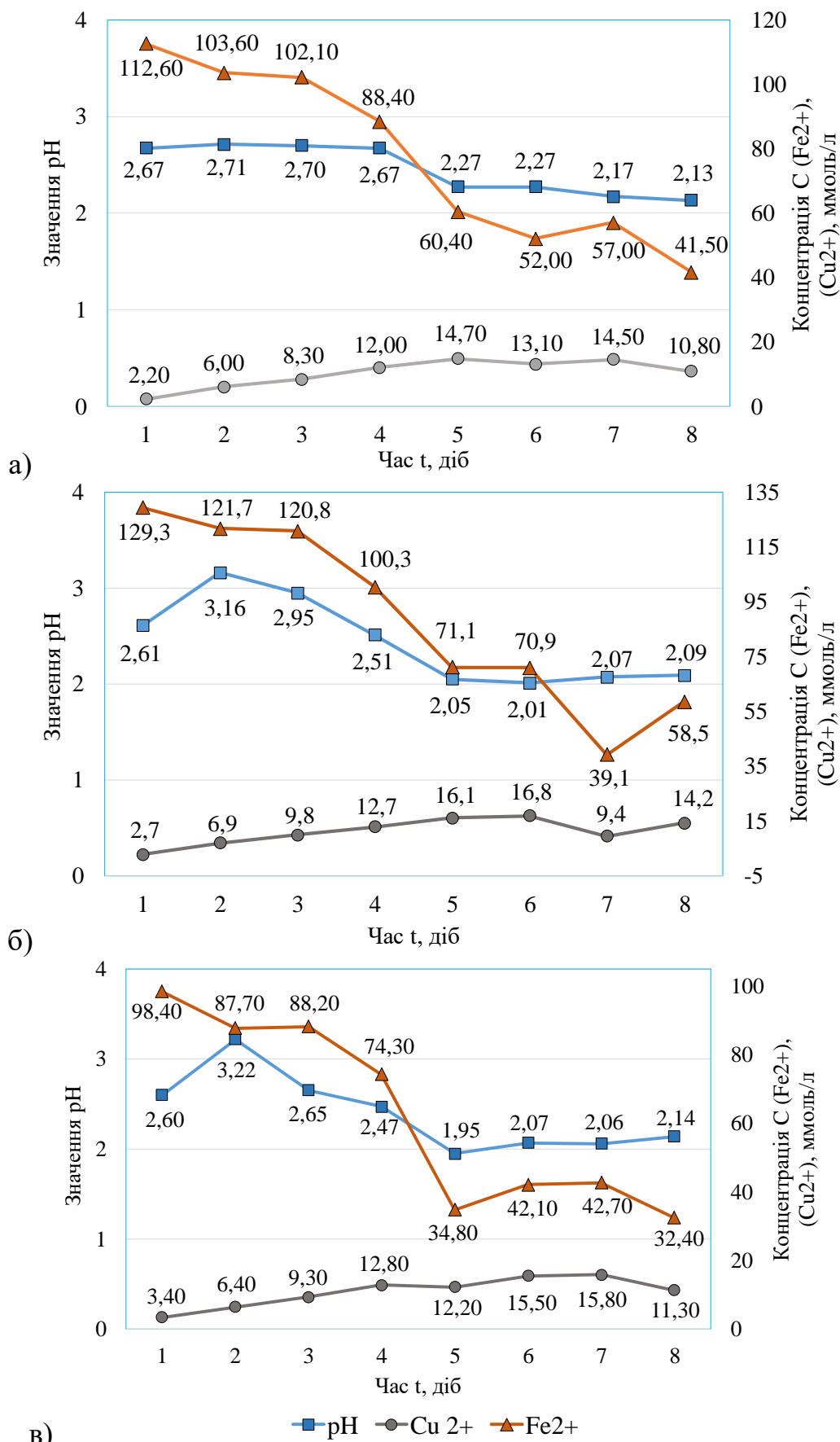


Рис. 2. Результати поглинання заліза (Fe²⁺) та вилуговування міді (Cu²⁺) внаслідок активності бактерій *Acidithiobacillus ferrooxidans*: а) експеримент 1; б) експеримент 2; в) експеримент 3

Встановлено, що внаслідок бактеріальної активності спостерігається поступове зниження рН в середовищі з плином часу через ріст культури *A. ferrooxidans*. При цьому на початковому етапі спостерігається дещо підвищення рН, що свідчить про адаптацію культури бактерій до нового середовища. За 12 днів досліду концентрація заліза за рахунок його поглинання бактеріями зменшується в середньому з 113,42 до 44,13 ммоль/л, концентрація міді збільшується з 2,77 до 12,1 ммоль/л, рН розчину знижувався в середньому з 2,63 до 2,12, одиниць.

Висновки. В статті представлено результати дослідження процесів біопоглинання та біовилуговування важких металів з субстратів, що базуються на явищі кислотного шахтного дренажу внаслідок активності ацидофільних бактерій. Проаналізовано хімічні процеси кислотного шахтного дренажу в гірничих породах.

Встановлено, що під час зростання бактерій *A. ferrooxidans* на елементарній сірці в експерименті з плином часу спостерігалось збільшення концентрації H_2SO_4 , відповідне зниження рН розчину. При цьому концентрація сірчаної кислоти за 12 днів підвищилася в 2,5-3 рази, рН розчину знижувався в середньому з 2,66 до 2,17, а об'ємні витрати NaOH для нейтралізації H_2SO_4 у розчині збільшилися з 0,73 до 1,83 мл.

Також виявлено, що внаслідок бактеріальної активності в середовищі з міддю спостерігається поступове зниження рН з плином часу через ріст культури *A. ferrooxidans*. При цьому на початковому етапі відзначено дещо підвищення рН, що свідчить про адаптацію культури бактерій до нового середовища. За 12 днів досліду концентрація заліза за рахунок його поглинання бактеріями зменшується в середньому з 113,42 до 44,13 ммоль/л, концентрація міді збільшується з 2,77 до 12,1 ммоль/л, а рН розчину знижувався в середньому з 2,63 до 2,12, одиниць.

Слід зазначити, що на гірничовидобувних територіях інтенсивність кислотного дренажу поверхні шахтних порід визначається множинними факторами, а саме: вмістом піритної сірки у відвальній масі, умовами і тривалістю експлуатації відвалу, фізико-хімічними характеристиками відвальних порід, впливом біотичних (мікроорганізми) і абіотичних (вітер, вологість, атмосферні опади) факторів середовища.

Подяка. Автори висловлюють подяку Німецькій службі академічних обмінів (DAAD, Deutscher Akademischer Austauschdienst) за можливість провести представлені вище дослідження в рамках спільного освітнього проекту «EcoMining: Development of Integrated PhD Program for Sustainable Mining & Environmental Activities» між Технічним університетом Фрайберзька гірнича академія (TU Bergakademie Freiberg) та НТУ «Дніпровська політехніка».

Також автори висловлюють щиру подяку д-ру Штефану Кашабеку та співробітникам Інституту біонаук Технічного університету Фрайберзька гірнича академія за сприяння у проведенні вищеописаних лабораторних досліджень з екологічної мікробіології.

Перелік посилань

1. Hammarstrom, J. M., Sibrell, P. L., & Belkin, H. E. (2003). Characterization of limestone reacted with acid-mine drainage in a pulsed limestone bed treatment system at the Friendship Hill National Historical Site, Pennsylvania, USA. *Applied Geochemistry*, 18(11), 1705-1721. doi:10.1016/S0883-2927(03)00105-7.

2. Marquez, J. E., Pourret, O., Faucon, M. P., Weber, S., Hoàng, T. B. H., & Martinez, R. E. (2018). Effect of cadmium, copper and lead on the growth of rice in the coal mining region of Quang Ninh, Cam-Pha (Vietnam). *Sustainability*, *10*(6), 1758. doi:10.3390/su10061758.
3. Sharma, S., Lee, M., Reinmann, C. S., Pumneo, J., Cutright, T. J., & Senko, J. M. (2020). Impact of acid mine drainage chemistry and microbiology on the development of efficient Fe removal activities. *Chemosphere*, *249*, 126117. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126117.
4. Gomes, P., Valente, T., Geraldo, D., & Ribeiro, C. (2020). Photosynthetic pigments in acid mine drainage: Seasonal patterns and associations with stressful abiotic characteristics. *Chemosphere*, *239*, 124774. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.124774.
5. Pei, H., Wang, C., Wang, Y., Yang, H., & Xie, S. (2019). Distribution of microbial lipids at an acid mine drainage site in China: Insights into microbial adaptation to extremely low pH conditions. *Organic Geochemistry*, *134*, 77-91. doi:10.1016/j.orggeochem.2019.05.008.
6. Liu, M., Iizuka, A., & Shibata, E. (2019). Acid mine drainage sludge as an alternative raw material for M-type hexaferrite preparation. *Journal of cleaner production*, *224*, 284-291. doi:10.1016/j.jclepro.2019.03.224.
7. García-Valero, A., Martínez-Martínez, S., Faz, A., Rivera, J., & Acosta, J. A. (2020). Environmentally sustainable acid mine drainage remediation: Use of natural alkaline material. *Journal of Water Process Engineering*, *33*, 101064. doi:10.1016/j.jwpe.2019.101064.
8. Sharma, S., Lee, M., Reinmann, C. S., Pumneo, J., Cutright, T. J., & Senko, J. M. (2020). Impact of acid mine drainage chemistry and microbiology on the development of efficient Fe removal activities. *Chemosphere*, *249*, 126117. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126117.
9. Giordani, A., Rodriguez, R. P., Sancinetti, G. P., Hayashi, E. A., Beli, E., & Brucha, G. (2019). Effect of low pH and metal content on microbial community structure in an anaerobic sequencing batch reactor treating acid mine drainage. *Minerals Engineering*, *141*, 105860. doi:10.1016/j.mineng.2019.105860.
10. Haigh, M. J. (2000). Erosion control: Principles and some technical options. *Reclaimed land. Erosion control, soils and ecology*, 75-110.
11. Madigan, M. T., & Martinko, J. M. (2010). *Brock biology of microorganisms* (11th ed.). Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.

АННОТАЦИЯ

Цель. Исследовать в лабораторных условиях особенности процессов биовыщелачивания тяжелых металлов бактериями вида *Acidithiobacillus ferrooxidans* как явления кислотного шахтного дренажа.

Методика исследования заключается в изучении закономерностей химических процессов кислотного шахтного дренажа в горных серосодержащих породах в результате активности ацидофильных бактерий вида *A. ferrooxidans*. Исследован процесс выщелачивания серы и меди в искусственно подготовленных культуральных средах. Количественное определение содержания ионов меди в пробах культуральной среды выполнено колориметрическим методом. Для детальной оценки изменений концентраций железа и меди в пробах и детального микроэлементного анализа применен метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС).

Результаты исследования. Выполнен ряд экспериментов по биопоглощению и биовыщелачиванию тяжелых металлов в культуральных средах с бактериями *A. ferrooxidans*. Установлено, что в результате бактериальной активности наблюдается постепенное снижение pH в

культуральних средах вследствие роста бактерий, в результате чего тяжелые металлы выщелачиваются в раствор.

Научная новизна. Установлены новые зависимости по биовыщелачиванию и биопоглощению тяжелых металлов в культуральных средах вследствие роста ацидофильных бактерий. Так, за 12 дней эксперимента в среде с элементарной серой концентрация серной кислоты повысилась в 2,5-3 раза, pH раствора снизился в среднем с 2,66 до 2,17, а объемные расходы NaOH для нейтрализации H₂SO₄ в растворе увеличились с 0,73 до 1,83 мл. На среде с сульфидом меди Cu₂S концентрация железа за счет его поглощения бактериями уменьшилась в среднем с 113,42 до 44,13 ммоль/л, концентрация меди увеличилась с 2,77 до 12,1 ммоль/л, а pH раствора снизился в среднем с 2,63 до 2,12 единиц.

Практическое значение. Результаты исследований позволяют разрабатывать действенные меры по устранению кислотного шахтного дренажа из породных массивов, содержащих сульфиды тяжелых металлов.

Ключевые слова: кислотный шахтный дренаж, биовыщелачивание, тяжелые металлы, культуральная среда, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС).

ABSTRACT

Purpose. To investigate in laboratory conditions the peculiarities of bioleaching of heavy metals by bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* sp. as the phenomenon of acid mine drainage.

Methodology. The research methodology deals with the study of the patterns of acid mine drainage chemical processes in mine sulfur-containing rocks due to the activity of acidophilic bacteria of the *A. ferrooxidans*. The process of leaching of sulfur and copper from artificially prepared culture media is investigated. The quantitative determination of the copper ions in the samples of the culture medium was performed by the colorimetric method. A detailed method of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was used to evaluate in detail the changes in iron and copper concentrations in the media samples and the detailed microelement analysis.

Findings. A number of experiments have been performed on the bioabsorption and bioleaching of heavy metals in culture media with *A. ferrooxidans*. Bacterial activity has been shown to result in a gradual decrease in pH in culture media due to the growth of *A. ferrooxidans* resulting in heavy metals leaching into the solution.

Originality. New dependencies on bioleaching and bioabsorption of heavy metals in culture media due to the growth of acidophilic bacteria have been established. Thus, during the 12 days of the experiment in the medium with elemental sulfur, the concentration of sulfuric acid increased by 2.5-3 times, the pH of the solution decreased from 2.66 to 2.17 in average, and the volume flow of NaOH to neutralize H₂SO₄ in the solution increased from 0.73 to 1.83 ml. On medium with copper sulfide Cu₂S the concentration of iron due to its absorption by bacteria decreased from 113.42 to 44.13 mmol/l in average, the concentration of copper increased from 2.77 to 12.1 mmol/l, the pH of the solution decreased from 2.63 to 2.12 units.

Practical implications. The results of the research allow develop effective measures to eliminate acid mine drainage phenomenon from rock mass containing heavy metal sulfides.

Keywords: acid mine drainage, bioleaching, heavy metals, culture medium, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).