

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Національний технічний університет

«ДНІПРОВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»



Co-funded by
the European Union



О.С. КОВРОВ, І.І. КЛІМКІНА

БІОМАЙНІНГ

МОНОГРАФІЯ

Дніпро
Журфонд
2025

УДК 502:504

K56

Рекомендовано до видання вченою радою НТУ «Дніпровська політехніка» як монографія для фахівців і студентів спеціальностей 101 «Екологія», 183 «Технології захисту навколишнього середовища» (протокол № 3 від 13.03.2025 р.).

Рецензенти:

В.В. Попович, д-р техн. наук, т.в.о. проректора з науково-дослідної роботи, професор кафедри екологічної безпеки Львівського державного університету безпеки життєдіяльності;

Є.Ю. Черниш, д-р техн. наук, доцент кафедри екології та природозахисних технологій Сумського державного університету;

С.І. Чеберячко, д-р техн. наук, професор кафедри аерології та цивільної безпеки Національного технічного університету «Дніпровська політехніка».

Ковров О.С.

K56 Біомайнінг: монографія / О.С. Ковров, І.І. Клімкіна; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка». – Дніпро: Журфонд, 2025. – 164 с.

ISBN 978-966-934-674-2

В монографії наведено ґрунтовний аналіз існуючих екологічних технологій біомайнінгу з фокусом на механізми біовилуговування металів з руд та гірничих відходів. Розглянуто сучасні технології фіторемедіації забруднених важкими металами земель із застосуванням методів фітоекстракції, фітостабілізації, фітодеградації, фітодесалінізації.

Монографія є результатом наукових досліджень і частиною дисциплін «Біотехнології в гірництві» та «Інноваційні екологічні технології в ЄС та Україні» розроблених та впроваджених в навчальний процес в рамках освітнього проєкту «Стандарти Європейського Союзу щодо екологічної реабілітації гірничопромислових земель» (EUSERML 101085715), який реалізовано в НТУ «Дніпровська політехніка» за підтримки програми Європейського Союзу Еразмус+.

Funded by the European Union. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Education and Culture Executive Agency (EACEA). Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

Фінансується Європейським Союзом. Однак висловлені погляди та думки належать лише авторам і не обов'язково відображають погляди Європейського Союзу чи Європейського виконавчого агентства з освіти та культури (EACEA). Ні Європейський Союз, ні орган, що надає гранти, не можуть нести за них відповідальності.

ISBN 978-966-934-674-2

© О.С. Ковров, І.І. Клімкіна, 2025

© Національний технічний університет «Дніпровська політехніка», 2025

© Журфонд

ЗМІСТ

| | |
|--|----------|
| ВСТУП..... | 6 |
| РОЗДІЛ 1. БІОМАЙНІНГ – СУЧАСНИЙ НАПРЯМ ГІРНИЧИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ ПЕРЕРОБКИ МІНЕРАЛЬНОЇ СИРОВИНИ..... | 8 |
| 1.1. Концепція біомайнінгу в гірничих біотехнологіях..... | 8 |
| 1.2. Альтернативні методи вилуговування металів із вторинної мінеральної сировини..... | 9 |
| 1.2.1. Масштаби застосування процесу біовилуговування..... | 10 |
| 1.2.2. Роль сульфідних мінералів у процесах окислювального біовилуговування..... | 15 |
| 1.3. Хімічні принципи бактеріального вилуговування металів із мінеральної сировини..... | 18 |
| 1.3.1. Принцип біовилуговування..... | 18 |
| 1.3.2. Механізми окислення сульфідних мінералів ацидофільними мікроорганізмами..... | 20 |
| 1.3.3. Шляхи біовилуговування кислотонерозчинних та кислоторозчинних сульфідних мінералів..... | 22 |
| 1.3.4. Тіосульфатний шлях окислення піриту..... | 23 |
| 1.3.5. Полісульфідний шлях окислення більшості сульфідів металів..... | 24 |
| 1.3.6. Анаеробний процес біологічного вилуговування ацидофільними мікроорганізмами..... | 26 |
| 1.4. Мікробіологічні особливості видобування металів із мінеральної сировини..... | 27 |
| 1.5. Позаклітинні полімерні речовини (EPS) та їх роль в утворенні біоплівки при біовилуговуванні сульфідних мінералів..... | 32 |
| 1.6. Умови та параметри контролю ефективності біовилуговування сульфідних мінералів на промисловому рівні..... | 34 |
| 1.6.1. Забезпечення киснем та вуглекислим газом..... | 35 |
| 1.6.2. Зрошення..... | 35 |
| 1.6.3. Мікроорганізми..... | 36 |
| 1.6.4. Вимоги до поживних речовин і культуральних середовищ.... | 38 |
| 1.6.5. Значення рН і окислювально-відновного потенціалу (Eh) в процесі біологічного вилуговування..... | 39 |
| 1.6.6. Концентрація твердої фази..... | 40 |
| 1.6.7. Гранулометричний склад та розмір частинок..... | 41 |
| 1.6.8. Толерантність мікроорганізмів до хлоридів..... | 42 |
| 1.6.9. Токсичність іонів металів при біовилуговуванні сульфідних мінералів у кислотному середовищі..... | 44 |
| 1.7. Прикладне застосування мікробних процесів у гірничовидобувній промисловості..... | 45 |
| 1.7.1. Біовилуговування золота..... | 45 |

| | |
|---|------------|
| 1.7.2. Біовилуговування міді..... | 48 |
| 1.7.3. Біовилуговування урану..... | 51 |
| 1.8. Дослідження процесу вилуговування сірки та міді з халькоциту (Cu ₂ S) за допомогою культури <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> | 55 |
| Перелік літературних джерел до розділу 1..... | 61 |
| РОЗДІЛ 2. ЕКОТЕХНОЛОГІЇ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ ЗЕМЕЛЬ..... | 80 |
| 2.1. Роль важких металів в навколишньому середовищі..... | 80 |
| 2.2. Шкідливий вплив важких металів на здоров'я людини..... | 81 |
| 2.3. Фіторемедіація – зелене рішення проблеми забруднення довкілля..... | 82 |
| 2.3.1. Фітоекстракція..... | 84 |
| 2.3.2. Фітофільтрація..... | 85 |
| 2.3.3. Фітостабілізація..... | 85 |
| 2.3.4. Фітоволатилізація..... | 86 |
| 2.3.5. Фітодеградація..... | 86 |
| 2.3.6. Ризодеградація..... | 86 |
| 2.3.7. Фітодесалінізація..... | 87 |
| 2.3.8. Використання штучно побудованих водно-болотних угідь для фіторемедіації..... | 88 |
| 2.4. Критерії підбору рослин для технологій фіторемедіації..... | 88 |
| 2.4.1. Гіперакумуляція та гіпертолерантність..... | 88 |
| 2.4.2. Критерії підбору рослин: біодоступність важких металів у ґрунті..... | 90 |
| 2.5. Основні рослини-гіперакумулятори та спектр забруднювачів для вилучення рослинами з твердих субстратів..... | 91 |
| 2.5.1. Уловлювачі металів..... | 91 |
| 2.5.2. Металеві індикатори..... | 91 |
| 2.5.3. Гіперакумулятори металів..... | 92 |
| 2.5.4. Кількісне визначення ефективності фітоекстракції..... | 94 |
| 2.6. Технології утилізації фітоекстракторів..... | 95 |
| 2.6.1. Подальше використання рослин після фітоекстракції..... | 95 |
| 2.6.2. Фітомайнінг..... | 96 |
| 2.6.3. Механізм поглинання та переміщення важких металів і їх толерантність..... | 97 |
| 2.6.4. Роль фітохелатинів та металотіонеїнів у фітоекстракції..... | 98 |
| 2.7. Обмеження та майбутні тенденції у фіторемедіації | 98 |
| Перелік літературних джерел до розділу 2..... | 100 |
| РОЗДІЛ 3. ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ ДЕГРАДОВАНИХ ТА ЗАБРУДНЕНИХ ЗЕМЕЛЬ..... | 108 |
| 3.1. Аналіз сучасних технологій фіторемедіації для відновлення техногенно порушених територій..... | 108 |
| 3.2 Прикладні аспекти щодо технологій фіторемедіації та рекультивації деградованих земель і техногенних територій..... | 111 |

| | |
|---|------------|
| 3.3. Обґрунтування способу і технології фітореMediaції породного відвалу вугільної шахти..... | 117 |
| 3.4. Дослідження перспектив використання композитних брикетів з відходів кави для технологій фітореMediaції деградованих земель | 123 |
| 3.5. Дослідження впливу важких металів на ростові показники рослин-фітореMediaнтів..... | 130 |
| 3.6. Використання технологій вермікультивування і отримання біогумусу для поліпшення якості ґрунтів..... | 139 |
| 3.7. Перспективи фіторекультивації деградованих земель композитними біогумусовими брикетами..... | 148 |
| Перелік літературних джерел до розділу 3..... | 154 |
| ВИСНОВКИ..... | 161 |
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ..... | 162 |

ВСТУП

Біомайнінг (біогірництво), або біотехнології у гірництві – комплексна міждисциплінарна галузь знань, яка базується на ряді фундаментальних і прикладних наук таких, як екологія, біотехнологія, хімія, мікробіологія. Вона орієнтована на інноваційні технології видобутку, збагачення та переробки корисних копалин на основі використання живих організмів. В цілому, біомайнінг відображає специфічне використання біотехнології для вирішення екологічних проблем, що виникають у навколишньому середовищі під впливом гірничо-металургійних виробництв. Одним з перспективних напрямків біомайнінгу є використання мікроорганізмів для вилуговування корисних компонентів, зокрема металів, які становлять економічний інтерес, з гірничих порід, відвалів, стічних вод, продуктів флотації тощо.

Постійно зростаючий попит на метали, виснаження природних ресурсів, великі запаси низькосортних металевих руд і утворення значної кількості металевих відходів у процесі видобутку та збагачення призвели до розвитку та комерційного впровадження біомайнінгу. Ключовим етапом процесу біовилуговування є окислювально-відновна реакція, а також здатність мікроорганізмів до утворення органічних або неорганічних кислот і вивільнення комплексоутворювачів. Біомайнінг успішно використовується для вилучення металів із низькосортних руд, шахтних хвостосховищ та відходів, звалищ твердих побутових відходів, золи сміттєспалювальних установок, електронних відходів, сланців тощо. Таким чином, біомайнінг перешкоджає вивільненню важких металів із різних типів відходів у навколишнє середовище та виділення токсичних газів із муніципальних звалищ твердих відходів та застарілих відходів.

Мобілізація важких металів шляхом розробки родовищ корисних копалин та процесінгу мінеральних руд призводить до вивільнення цих елементів у навколишнє середовище. На відміну від органічних речовин, важкі метали не піддаються біодеградації і тому накопичуються у навколишньому середовищі. Накопичення важких металів у ґрунтах та природних водах становить небезпеку для навколишнього середовища та біоти, що суттєво впливає на біопродуктивність екосистеми в цілому.

Важливим напрямом біомайнінгу, окрім біологічного вилуговування, є розробка фітотехнологій, включаючи фіторемедиацію та інші технології фітомайнінгу.

Фіторемедиація – це використання рослин та пов'язаних з ними ґрунтових мікроорганізмів для зменшення концентрації або токсичного впливу забруднень у навколишньому середовищі. Це відносно недавня технологія і сприймається як економічно доцільна, ефективна, екологічно чиста технологія, яка схвально сприймається громадськістю. Наразі досліджуються нові ефективні рослини-гіперакумулятори металів для застосування в технологіях фіторемедиації.

Біотехнології з використанням вищих та нижчих рослин дозволяють оцінювати перспективи екосистемного відновлення техногенних ландшафтів,

біологічної рекультивациі відвалів гірничих порід та відходів гірничо-металургійної промисловості, фітоаккумуляції важких металів та інших фітотехнологій у біоремедіації, що є вкрай необхідним для забезпечення стійкого функціонування маргінальних територій та техногенних екосистем.

В монографії наведено ґрунтовний аналіз існуючих екологічних технологій біомайнінгу з фокусом на механізми біовилуговування металів з руд та гірничих відходів. Розглянуто сучасні технології фіторемедіації забруднених важкими металами земель із застосуванням методів фітоекстракції, фітостабілізації, фітодеградації, фітодесалінізації.

Монографія є результатом наукових досліджень і частиною дисциплін «Біотехнології в гірництві» та «Інноваційні екологічні технології в ЄС та Україні», розроблених та впроваджених в навчальний процес в рамках освітнього проекту «Стандарти Європейського Союзу щодо екологічної реабілітації гірничопромислових земель» (EUSERML 101085715), який реалізовано в НТУ «Дніпровська політехніка» за підтримки програми Європейського Союзу Еразмус+.

РОЗДІЛ 1. БІОМАЙНІНГ – СУЧАСНИЙ НАПРЯМ ГІРНИЧИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ ПЕРЕРОБКИ МІНЕРАЛЬНОЇ СИРОВИНИ

1.1. Концепція біомайнінгу в гірничих біотехнологіях

Сучасна гірнича біотехнологія – це комплексна наука про сукупність технологій, що передбачають використання живих організмів та біологічних процесів у гірництві [1]-[4]. Біотехнології в гірництві базуються на комплексному застосуванні принципів біології та інженерії для вивчення процесів біохімічної реакції між мікроорганізмами та мінералами з метою покращання ролі мікробів у видобуванні та збагаченні корисних копалин. Синонімами терміну «гірнича біотехнологія», які також широко використовуються у науковій світовій та вітчизняній науці, є такі, як «біомайнінг» (від англ. *biomining*), «біогеотехнологія металів», «біогідрометалургія», «біотехнологія збагачення руд» тощо [5]. При цьому, слід відзначити, що біотехнології відіграватимуть дедалі важливішу роль не лише у переробці первинних руд і концентратів [6], але й у прагненні до циркулярної економіки [7], [8], при рекультивації порушених гірничими роботами земель [9], [10]; та переробці хвостосховищ [2], [11]-[13], електронних та інших відходів [14], бізнесірученні вугілля й нафти [15], [16], біосорбції металів із розчинів [17]-[19], а також як потенційний допоміжний засіб у таких процесах, як флотація [20]-[22].

Через зростання попиту на мінеральні ресурси в сучасній промисловості доводиться видобувати корисні копалини з низьким вмістом цільового металу (так звані *бідні руди*), дрібнодисперсні та важкі для обробки [3], [23], [24].

Бідною називається руда, в якій концентрація корисного компонента значно нижча від середнього його вмісту в родовищах, які розробляються [25]. Бідні руди розробляють за умови вичерпання запасів багатих руд [8]. Як правило, бідні руди *збагачують* [26]. Процес обробки руди (корисної копалини) з метою підвищення вмісту корисного компонента, виділення його в чистому вигляді, видалення домішок, розділення мінералів у багатокомпонентних рудах тощо, називається *збагаченням* [27]. До збагачення корисних копалин належать: видалення магнітних мінералів за допомогою магнітної та електромагнітної сепарації; розділення мінералів за щільністю (гравітаційне збагачення), розділення за змочуванням поверхонь (флотація) тощо [22], [28], [29]. Процес збагачення корисних копалин здійснюється на збагачувальних фабриках та комбінатах. У результаті одержують концентрат (збагачений продукт) та *хвости* (від англ. *tailings*) [30], [31].

Хвости (хвостосховища) – це відходи збагачення корисних копалин, в яких вміст цінного компонента нижчий, ніж у вихідній породі настільки, що неможливо отримати концентрат (за існуючого рівня технології). Крупність частинок у таких відходах змінюється, як правило, в межах від 3-6 мм до 0,1 мкм [32]. У хвостосховищах рудних корисних копалин збагачувальних підприємств вміст металу складає 0,1-0,8 %, а хвости вуглезбагачення мають значну зольність (70-80% і більше) [33], [34]. Такі породи використовуються для

закладання виробленого простору у гірничих виробках [35], намівання дамб [36], як матеріал-наповнювач при виробництві бетонів [37] тощо. У зв'язку з розробкою і впровадженням нових технологій хвостосховища поступово стають важливою *вторинною мінеральною сировиною* для перезбагачення корисних копалин [38].

Збільшення витрат на збагачення корисних копалин вимагає постійних досліджень і розробки нових технологій для більш економічної переробки мінералів з низьким вмістом цільового компоненту. Крім того, зростаюча вартість вилучення та переробки металів з руд, поряд із виснаженням запасів високоякісної мінеральної сировини та посиленням природоохоронних заходів, сприяє розвитку нових технологій у гірничовидобувній та металургійній промисловостях. Такими альтернативними технологіями переробки вторинної мінеральної сировини є застосування сучасних гірничих *біотехнологій* [39]-[44].

Основними видами сучасної гірничої біотехнології є:

- 1) мікробне вилуговування, яке поділяється на вилуговування сульфідної руди та вилуговування несульфідної руди [45], [46];
- 2) біосорбція та осадження металів у розчині [18], [47], [48];
- 3) біологічна флотація – це метод переробки корисних копалин, який поєднує мікробну технологію з традиційним процесом флотації [20], [49].

Біовилуговування є привабливою альтернативою традиційним фізичним і хімічним методам збагачення руд завдяки зниженню ресурсовмісності при використанні технології та менш згубному впливу на навколишнє середовище. Біологічне вилуговування базується на використанні мікроорганізмів для вилучення металів, що становлять економічний інтерес, із гірських руд або відходів видобування мінеральної сировини. Технології біовилуговування також можна використовувати для очищення ґрунтів та стічних вод, забруднених металами.

1.2. Альтернативні методи вилуговування металів із вторинної мінеральної сировини

Технології видобутку металів включають видобуток руд, екстракцію металів із руд, їх очищення та обробку [50]. Гідрометалургія – вилучення металів з мінеральної сировини (руд, концентратів, рудних або промислових відходів) за допомогою водних розчинів, коли пірометалургія збиткова [51].

Гідрометалургію поділяють на три основні групи робіт: 1) вилуговування, 2) концентрування та очищення розчинів, та 3) вилучення металів з розчинів.

Вилуговування – хімічний спосіб (процес) вилучення розчинного компонента (компонентів) з твердої мінеральної сировини за допомогою реагенту-розчинника. Вилуговування/розчинення металів може бути економічно вигідним навіть при їх низькій концентрації (1 % і менше). Інтенсивність вилуговування залежить від хімічного та мінералогічного складу оброблюваного

матеріалу, складу розчину, його рН, окислювально-відновного потенціалу та температури [52].

Розрізняють три основні типи промислового вилуговування: 1) купове, 2) вилуговування у рудному тілі «на місці» (*in situ*) або підземне вилуговування, і 3) чанове або реакторне (agitated leaching або tank leaching).

Купове вилуговування, в свою чергу, розподіляється на *відвальне* (dump leaching) та *безпосередньо купове* (heap leaching). Відвальне вилуговування схоже на купове вилуговування, однак у випадку відвального вилуговування руду беруть безпосередньо з шахти і без дроблення складають на вилуговувальний майданчик, де зрошують спеціальним розчином, який просочується крізь руду для розчинення цільового металу. Відвальне і купове вилуговування часто вибирають для багатьох маргінальних низькосортних рудних тіл, як правило, для руд міді, урану і нікелю. Цей процес, як правило, пов'язаний зі значно меншими капітальними та операційними витратами, хоча і з меншим вилученням металу. У деяких випадках відвали вихідної сировини вже існують у вигляді хвостосховищ [53].



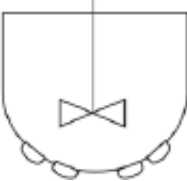
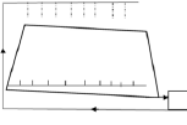
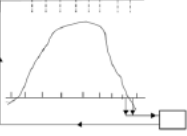
Одним з важливих альтернативних напрямів гідрометалургійного вилуговування стало *біовилуговування* – процес вилуговування, що включає спрямоване застосування мікроорганізмів як каталізаторів або спеціалізованих агентів біохімічних процесів руйнування руди, окислення сульфідів або заліза і, в цілому, розчинення мінеральних сполук [54]-[57].

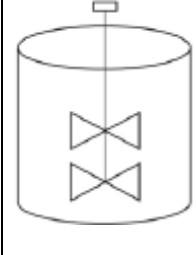
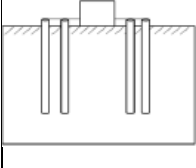
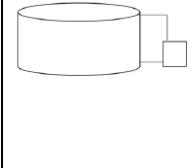
Біологічне вилуговування стало загальноприйнятою технологією у гірничовидобувній промисловості, і за останні роки розширилися дослідження щодо його подальшого застосування. За останні десятиліття значно розширилися знання про різноманітність ацидофільних залізо- і сіркоокислювальних бактерій і архей та їхню взаємодію з сульфідними мінералами з точки зору механізмів окислення, хімічних шляхів, значення позаклітинних полімерних речовин в утворенні біоплівки. Хоча досі недостатньо відомо про детальну взаємодію клітин з мінералами та між собою, однак, використання сучасних методів на молекулярному рівні буде сприяти отриманню корисних даних за допомогою генних мереж та еволюційних ознак, високопродуктивної протеоміки, розробки рекомбінантних штабів та синтетичної біології. З цими знаннями стануть можливими кілька нових застосувань процесів біологічного вилуговування з використанням ацидофілів як «зеленої» біотехнології [58], [59].

1.2.1. Масштаби застосування процесу біовилуговування

Операції біовилуговування поділяються на три категорії, включаючи малий масштаб (вилуговування у колбі зі струшуванням в умовах лабораторії), середній масштаб (колонний реактор, реактор з мішалкою) і великий масштаб (вилуговування у купках, резервуарах з перемішуванням, промислових чанах та підземне вилуговування) (табл. 1.1).

Таблиця 1.1 – Масштаби застосування процесу біовилуговування

| Метод вилуговування | Характеристики | | Посилання |
|--|--|--|------------|
| | (i) розмір частинок; (ii) концентрація твердої фази (w/v, тобто вага/об'єм); (iii) матеріали | | |
| Малий масштаб (Small scale) | | | |
| Вилуговування у колбі зі струшуванням (Shake flask) |  | (i) 120мкм-2мм; (ii) 0,1-20 %; (iii) бідні поліметалічні руди, відвали та хвостосховища, відходи металургії (шлами та пил), відпрацьований хімічний каталізатор, летюча зола, відходи електричного та електронного обладнання (ВЕЕО), забруднені ґрунти, мул стічних вод | [42], [55] |
| Середній масштаб (Intermediate scale) | | | |
| Колонний реактор (Column reactor) |  | (i) 0,1-30 мм; (ii) співвідношення тверда/рідка фази: 3-1800; (iii) те саме | [60], [61] |
| Вилуговування у реакторах з мішалкою (Stirred reactor) |  | (i) < 1 мм; (ii) концентрація твердої фази: до 20 %; (iii) відпрацьований хімічний каталізатор, відвали та хвостосховища, відходи металургії, забруднені ґрунти, ВЕЕО | [61], [62] |
| Великий масштаб (Large scale) | | | |
| Купове вилуговування (Heap leaching) |  | (i) 10-25 мм; (ii) 1 тис.-180 тис. т (iii) бідні руди | [54], [63] |
| Відвальне вилуговування (Dump leaching) |  | (i) 5 мм – 2 м; (ii) 120 тис.-500 тис. т і більше; (iii) відвали гірничовидобувної промисловості | [64] |

| | | | |
|--|---|---|-----------|
| Вилуговування у резервуарах з перемішуванням (Agitated tank) |  | (i) <1 мм; (ii) тверда фаза до 20 %, ємність 900-1500 м ³ ; (iii) подрібнена руда, флотаційний концентрат, тугоплавкий концентрат золота | [65]-[67] |
| Підземне вилуговування «на місці» (In-situ) |  | (i) - (ii) - (iii) мінеральне родовище | [68] |
| Чанове вилуговування (Vat) |  | (i) 1-10 мм; (ii) - (iii) мідні оксидні руди, золотий концентрат | [23] |

На лабораторному рівні більшість досліджень проводять у колбі зі струшуванням, щоб усунути можливі ускладнення процесу та отримати цінну інформацію про процес біологічного вилуговування. В колбі-шейкері можна оптимізувати такі параметри процесу, як рН, концентрація джерела енергії, концентрація інокулянту і твердої речовини, швидкість перемішування та ін. Однак, цього недостатньо для розуміння кінетики вилуговування, що є вкрай необхідним для проектування промислових реакторів комерційного масштабу.

Промислове використання методів біовилуговування здебільшого застосовуються на місці, а саме: у відвалах, купах, чанному реакторі та при підземному вилуговуванні. В табл. 1.2 приведені основні характеристики промислових методів біологічного вилуговування.

Відвал і купа мають схожу конструкцію, однак різниця полягає в тому, що для спорудження купи металовмісні матеріали піддаються подрібненню до розміру менше ніж 25 мм і розміщуються на майданчиках для вилуговування на спеціальну ізолюючу основу. *Купове* вилуговування використовується для обробки оксидних і низькосортних вторинних сульфідних руд, що містять до 2% цільового металу. Руда подрібнюється до однорідного розміру частинок (зазвичай 10-25 мм), часто агломерується, а потім укладається у великі купи з плоскою вершиною контрольованим чином. Потім здійснюється обробка розчинами відвалів руд (частіше некондиційних) або купи подрібненого і окомкованого рудного матеріалу, розташованого на майданчику з гідроізоляцією [63]. Купове вилуговування міді практикувалося з XVI століття в Угорщині і Німеччині. З середини XX століття цей спосіб у промислових масштабах застосовують для вилучення міді, золота і урану [74].

Вилуговування у рудному тілі «на місці» (*in situ*) відносять до підземного вилуговування корисних копалин. Даний метод видобутку корисних копалин здійснюється вибірковим їхнім розчиненням хімічними реагентами в рудному

тілі на місці залягання з вилученням на поверхню і застосовується для видобутку кольорових металів та рідкісних елементів.

Таблиця 1.2 – Промислові методи біологічного вилуговування

| Метод | Характеристика | Посилання |
|-----------------------------------|--|------------------------|
| Відвальне вилуговування | <ul style="list-style-type: none"> - Найдавніша техніка. - Висота відвалів коливається в межах 25-400 метрів. - Відвал зрошується зверху. - В якості зрошувача використовується вода, кислота або кислий розчин залізного купоросу. | [69] |
| Купове вилуговування | <ul style="list-style-type: none"> - Процедура купового вилуговування схожа на процедуру відвального вилуговування. - Ця технологія зазвичай використовується для дрібнозернистих руд. - У відвалах також забезпечується подача кисню, щоб забезпечити достатню кількість кисню в глибших частинах. | [44], [54], [56] |
| Підземне вилуговування | <ul style="list-style-type: none"> - Це метод вилуговування на місці (<i>in-situ</i>). - Технологія підземного вилуговування зазвичай застосовується в покинутих шахтах і на рудних родовищах з надто низьким вмістом цільових компонентів, які неможливо видобути звичайними методами. | [68], [70], [71] |
| Чанове та реакторне вилуговування | <ul style="list-style-type: none"> - Дані методи є коштовними, але швидкість вилучення металу є вищою. - Реакторне вилуговування визнано найефективнішим підходом для біологічного вилуговування рудних концентратів. - В основному використовується для попередньої біоокислювальної обробки і вилуговування металів тугоплавких флотаційних концентратів дорогоцінних металів (золота) і кольорових металів (міді, кобальту, нікелю і цинку). | [65], [66], [72], [73] |

При цьому, родовище розкривається системою свердловин, через які подають розчинник, який, фільтруючись пластом, вилуговує корисні компоненти. Продуктивний розчин відкачується через інші свердловини. У разі підземного біотехнологічного вилуговування проводиться закачування розчину, що містить кислоту, наприклад окисник (Fe^{3+}), що генерується мікроорганізмами, а також клітини мікроорганізмів безпосередньо в місце залягання руди [70].

Чанове і/або реакторне вилуговування (збагачення) корисних копалин відбувається у спеціальних ємностях – чанах (реакторах). На відміну від купового процес вилуговування у чанах більш інтенсивніший за рахунок збільшення швидкості підведення розчинника до руди і відведення продуктів розчинення. Вилуговування в біореакторах передбачає проведення окислення подрібненої сировини в чанах з перемішуванням [66]. Порівняно з підземним та куповим біовилуговуванням, чанове забезпечує переробку сировини з більшою швидкістю, але вимагає набагато більших капітальних та експлуатаційних витрат. Тому купове біовилуговування застосовується, для переробки бідних руд кольорових металів, тобто нікелю, кобальту, цинку, але насамперед міді [75], а чанове – для переробки сульфідних концентратів золотовмісних руд [76].

Стосовно купового видобутку міді, то за даними [75] Чилі стала беззаперечним світовим лідером з виробництва міді, за нею йдуть Перу, Китай, Демократична Республіка Конго та США. Усі п'ять провідних країн щорічно виробляють понад 1 млн т, але Чилі безперечно лідирує з виробництвом у 2020 році, яке наближається до 6 млн т, що становить майже одну третину загального світового виробництва. Частина даного видобутку припадає на біовилуговування. Світові масштаби використання процесу купового біовилуговування міді відображено у таблиці 1.3 [77].

Таблиця 1.3 – Світові масштаби використання процесу біовилуговування міді [77]

| Країна | Шахта | Компанія | Процес біо-вилуговування | Отримання міді, тис.т./рік |
|-----------|--------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Австралія | Whim Creek | Venturex | Купове | 4 |
| Австралія | Ladt Annie | CST Mining | Купове | 20 |
| Чилі | Tres Valles | Vale SA | Купове | 18 |
| Чилі | Andina Division | Codelco | Відвальне/ Купове | 25 |
| Чилі | Escondida Sulfide Lea | BHP Billiton Group | Відвальне/ Купове | 180 |
| Чилі | Ivan Zar | Cia Minera Vilpo SA | Купове | 10 |
| Чилі | Los Bronces | Anglo American Plc | Купове | 50 |
| Чилі | Quebrada Blanca | Teck Resources Ltd | Купове | 85 |
| Чилі | Spence | BHP Billiton Group | Купове | 120 |
| Чилі | Radomiro Tomic | Codelco | Купове | 100 |
| Чилі | Collahuasi | Xstrata Plc | Купове | 60 |
| Чилі | Cerro Colorado | BHP Billiton Group | Купове | 100 |
| Чилі | Andacollo | Teck Resources Ltd | Відвальне | 10 |

| | | | | |
|--------|------------------|-----------------------------|----------------------|-----|
| Чилі | Zaldivar | Barrick Gold Corp | Купове | 140 |
| Чилі | Chuquicamata | Codelco | Купове | 20 |
| Китай | Zijinshan Copper | Zijin Mining Group Co Ltd | Купове | 12 |
| Китай | Huogeqi | Local Government | Купове | 20 |
| М'янма | Monyva | Rio Tinto, State of Myanmar | Купове | 9 |
| Перу | Cerro Verde | Freeport-McMoran | Купове | 66 |
| США | Morenci | Freeport-McMoran | Відвальне/ Купове | 230 |

Слід зазначити, що великі мідні шахти, включаючи Quebrada Blanca, Cerro Verde і Morenci в Чилі, Перу та США відповідно, повідомляють про переваги покращення аерації та оптимізацію зрошення відвалу з одночасним моніторингом хімічних речовин, що вказує на мікробну активність та окислення заліза та сірки.

В цілому, за приблизними оцінками станом на 2021 р. близько 5% світового виробництва міді забезпечується куповим біовилуговуванням [54].

1.2.2. Роль сульфідних мінералів у процесах окислювального біовилуговування

Найбільш цілісну картину про роль бактерій та архей у процесах окислювального біологічного вилуговування сульфідних мінералів у світовій науковій літературі наведено про розчинення *сульфідів металів*.

Сульфіди металів є найважливішими рудними мінералами. З ними пов'язані основні світові запаси кольорових металів, таких як мідь, кобальт, нікель, цинк, свинець та ін. У ролі катіонів можуть виступати типові сидерофільні елементи (елементи групи заліза періодичної системи): Fe, Co, Ni, Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt, або типові халькофільні елементи (мають специфічну спорідненість до сірки): Se, Cu, Ag, Zn, Cd, Hg, Ga, In, Tl, Pb, As, Sb, Bi, а також Au, Ge, Sn. З такими катіонами сірка легко утворює комплексні аніони – (XS), (XS₃), (XS₄) та ін., що призводить до виникнення змішаних сполук – сульфоарсенідів, сульфоантимонідів, сульфовісмутидів, а також сульфосолей.

При окисленні на поверхні Землі сульфіди металів легко переходять у сульфати, а потім у гідроокисли, карбонати та ін. солі кисневих кислот, рідше – у самородні елементи (наприклад, Cu, Ag). Так, сульфіди заліза, такі як пірит або піротин утворюють сірчану кислоту при окислювальному розчиненні [43]. З

одного боку, це може бути корисним для вилучення металів шляхом вилуговування, а з іншого – шкідливим при кислотному дренажі відвалів або гірських порід.

Під час окислювального розчинення сульфідів металів утворюються різні сполуки сірки зі проміжним ступенем окислення між сульфідом (-2) і сульфатом (+6). Відомими окисниками сульфідів металів, а також проміжних сполук сірки, є іони Fe^{3+} і молекулярний кисень [78]. Залізо- та сіркоокислювальні бактерії і археї ферментативно прискорюють більшість реакцій хімічного окислення, які описані як «непряме» біологічне вилуговування для ацидофілів, що живуть при низькому $pH < 3$ [78]-[80].

Окислювально-відновні перетворення сірки поширені в природі, хоча здебільшого вони спрямовані на асиміляцію елемента (наприклад, в амінокислоти або сульфатні ефіри), а дисиміляційні процеси (використання видів сірки прямо чи опосередковано як донорів або акцепторів електронів) обмежені лише деякими видами прокаріотичних мікроорганізмів. Кінцевими продуктами окислення сірки є сульфат- або бісульфат-аніони (HSO_4^-).

Якщо дисиміляційне утворення сульфату перевищує здатність місцевого середовища зрівноважувати чисту кислотність, яка створюється даною реакцією, то pH знизиться, а види прокаріотичних мікроорганізмів, що є посередниками реакції, також зміняться від нейтрофілів до помірних екстремофілів і, зрештою, до екстремальних ацидофілів.

Важливим джерелом відновленого вмісту сірки, яке може служити джерелом надзвичайно кислого середовища, є місця концентрації сульфідних мінералів, наприклад в металевих рудних тілах.

Сульфідні мінерали, які піддаються біологічному вилуговуванню ацидофільними мікроорганізмами, приведені в таблиці 1.4 [81].

Зазвичай використання мікроорганізмів при вилученні металів переслідує одну з двох цілей: перетворення (або окислення) нерозчинних сульфідів металів на розчинні сульфати або створення умов для кращої взаємодії хімічних речовин з поверхнею мінералу та розчинення необхідного металу. Прикладом першого процесу є перетворення таких нерозчинних сполук міді, як ковелін (CuS) або халькоцит (Cu_2S) у розчинні сульфати.

Прикладом другого процесу служить вилучення заліза, миш'яку і сірки з золотоносного арсенопіриту ($FeAsS$), в результаті чого золото, що залишилося, легше видаляється за допомогою ціанування. Обидва ці процеси є окислювальними.

Якщо видобутий метал переводиться в розчин, йдеться про *біовилуговування*. Коли ж метал залишається у руді – про *біоокислення* (рис. 1.1). Проте термін «біовилуговування» часто використовується в обох випадках [1], [75].

Схематичне пояснення відмінностей у розумінні термінів «біовилуговування» та «біоокислення» наведено на рис. 1.1 [82].

Таблиця 1.4 – Сульфідні мінерали, які використовуються для біовилуговування

| Елемент | Формула сульфідного мінералу | Назва мінералу | |
|----------|------------------------------|----------------|--|
| Залізо | FeS_2 | Пірит | |
| | $Fe_{1-x}S$ | Піротин | |
| Свинець | PbS | Галеніт | |
| Цинк | ZnS | Сфалерит | |
| Кобальт | $CoAsS$ | Кобальтин | |
| Мідь | CuS | Ковелін | |
| | Cu_2S | Халькоцит | |
| | $CuFeS_2$ | Халькопірит | |
| | $CuFeS_4$ | Борніт | |
| Кадмій | CdS | Ґринокіт | |
| Миш'як | $FeAsS$ | Арсенопірит | |
| | AsS | Реальгар | |
| | As_2S_3 | Орпімент | |
| Нікель | NiS | Мілерит | |
| | $NiAs$ | Нікелін | |
| | $(Fe, Ni)_9S_8$ | Пентландит | |
| Ртуть | HgS | Кіновар | |
| Молібден | MoS | Молібденіт | |
| Вольфрам | WS_2 | Вольфраміт | |

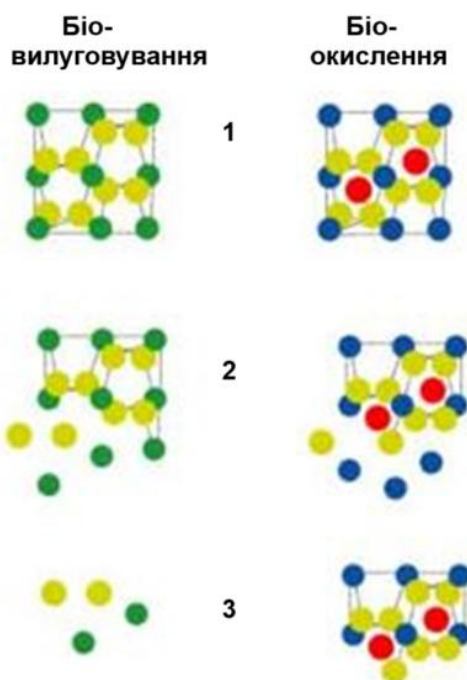


Рис. 1.1 – Відмінності у процесах та значеннях термінів «біоокислення» й «біовилуговування» [82]

На рис. 1.1 схематично представлено два види сульфідних руд (1). Ліворуч сірка (жовтий колір) пов'язана з металом (зелений колір), наприклад, міддю. Праворуч сірка (жовтий колір) пов'язана з металом (синій колір), наприклад, залізом. Елементарний метал (червоний колір), наприклад золото, укладено/вловлено/розміщено в сульфідній матриці праворуч. Біовилуговування та біоокислення є процесами окислення та призведуть до руйнування сульфідно-металевої матриці (2). Під час *біовилуговування* цінний метал (тут мідь) вимивається у водну фазу. Потім метал відновлюється з розчину. Під час *біоокислення* цінний метал (тут золото) залишається більш збагаченим у твердій фазі та може бути додатково оброблений, наприклад, ціануванням.

1.3. Хімічні принципи бактеріального вилуговування металів із мінеральної сировини

1.3.1. Принцип біовилуговування

Біовилуговуванням називають стійкий метод вилуговування металів з первинних і вторинних ресурсів за допомогою різних мікроорганізмів [77], [78]. Найпоширенішими мікроорганізмами для біологічного вилуговування є ацидофіли, які також часто є хемолітоавтотрофами і сприяють вилуговуванню шляхом окислення заліза та відновлених неорганічних сполук сірки (ВНСС від *англ.* RISCs – reduced inorganic sulfur compounds) з утворенням ліксивіанту (вилуговуючого агенту). Ацидофільні гетеротрофні мікроорганізми також часто зустрічаються у процесах біологічного вилуговування. Ці ацидофіли, що складаються з бактерій та архей, оптимально розвиваються при значеннях рН нижче 3,0 і температурах від 15°C до 80°C [40].

На рис. 1.2 схематично зображено процес біологічного вилуговування. Біовилуговування, як процес розчинення руди або іншого твердого матеріалу за допомогою хімічних реакцій, що каталізуються мікроорганізмами, можна диференціювати та описати на основі таких хімічних процесів:

1) *Окислювальне* біологічне вилуговування, яке відбувається за допомогою редокс-лізису та ацидолізу, що каталізуються ацидофільними бактеріями або археями, здатними окислювати залізо або сірку (рис. 1.2 а). Залізо можна додавати або отримувати з залізовмісних відходів. Окислювальне біологічне вилуговування *промислово* застосовується для вилучення металів із *сульфідів металів*;

2) *Відновлювальне* біологічне вилуговування відбувається або в анаеробних умовах з додаванням сірки як донора електронів для дисиміляційного відновлення двовалентного заліза мікроорганізмами, або в аеробних умовах при дуже низькому рН (<1,0), де проміжні продукти, що утворюються під час мікробіологічного окислення сірки, виступають в якості відновника для двовалентного заліза (рис. 1.2, б). В обох випадках в результаті окислення сірки мікроорганізмами утворюється сірчана кислота.

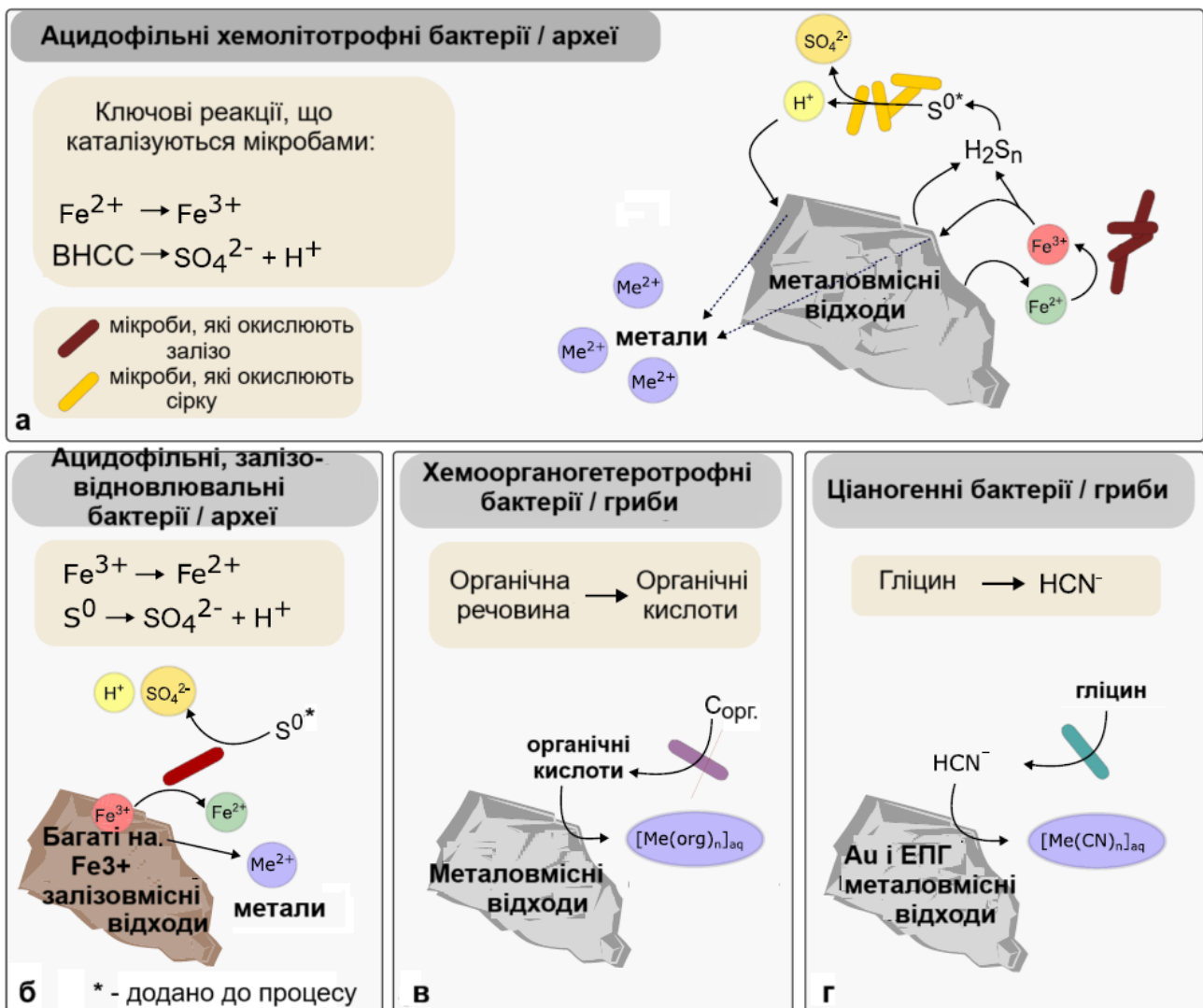


Рис. 1.2 – Огляд різних механізмів біологічного вилуговування та мікроорганізмів, що беруть участь у біологічному вилуговуванні металовмісних відходів [40]: а) вилуговування ацидофільними хемолітотрофними бактеріями або археями; б) вилуговування ацидофільними залізівідновлювальними бактеріями або археями; в) вилуговування хемоорганогетеротрофними бактеріями або грибами; г) вилуговування ціаногенними бактеріями або грибами. *Примітка:* ВНСС – відновлені неорганічні сполуки сірки; ЕПГ – елементи платинової групи.

Відновлювальне біологічне вилуговування – це розчинення руди або іншого твердого матеріалу шляхом хімічної реакції відновлення, що каталізується мікроорганізмами. Основною реакцією є дисиміляційне відновлення іонів Fe^{3+} [83]. Найяскравішим прикладом є відновне біологічне вилуговування оксидних руд, таких як лімонітові латерити [84]. Однак, оскільки елементарна сірка додається як відновник, а також як джерело сірчаної кислоти, відрізнити його від біовилуговування кислотою у випадку латеритного біовилуговування є досить складно [75]. Оскільки деякі мікроорганізми, включаючи ацидофілів, здатні поєднувати окислення водню з відновленням іонів Fe^{3+} , водень може

розглядатися як перспективний відновник у майбутніх дослідженнях відновлювального біовилуговування [83].

3) Біологічне вилуговування металів. Воно досягається за допомогою *комплексного лізису з органічними кислотами*, виробленими гетеротрофними мікроорганізмами в окислювальних умовах (рис.1.2, в);

4) Розчинення металів *ціаногенними бактеріями*, що утворюють ціанід з комплексоутворювачами, головним чином з Au і елементами платинової групи (ЕПГ), в окислювальних умовах (рис. 1.2г).

Враховуючи, що в результаті біохімічних реакцій, перерахованих вище, утворюються сульфатна або органічні кислоти, а також ціаніди, то кажуть про *кислотне вилуговування*.

Кислотне вилуговування застосовується в гідрометалургії з використанням неорганічних кислот для розчинення руд, наприклад, оксидних руд, таких як вапнякові латерити. Як показано вище, сульфатна кислота може вироблятися біогенним шляхом, а саме сіркоокислювальними бактеріями або археями, якщо елементарна сірка додається до процесу, або у випадку наявності сульфідів металів – із сірчаної частини мінералу, що окислюється.

Для сульфідів металів *кислотне* біологічне вилуговування можна навряд чи відрізнити від *окислювального біовилуговування*, оскільки в процесах їх розчинення беруть участь як іони Fe^{3+} , що утворюються в результаті реакції окислення, так і протони (кислота).

Гетеротрофні бактерії та гриби виробляють органічні кислоти, які дозволяють вилучати метали з твердих речовин за рахунок зниження рН середовища (підвищення кислотності), а також на основі комплексоутворення металів. Такий вид біологічного вилуговування отримав назву «гетеротрофне біологічне вилуговування». Однак даний термін вводить в оману, оскільки ці мікроорганізми є гетеротрофами, а біологічне вилуговування не є процесом, який може відбуватися виключно за рахунок діяльності гетеротрофних мікроорганізмів за відсутності хемолітотрофів або відповідних джерел вуглецю. Його можна краще описати як *кислотне біовилуговування гетеротрофами* [78].

1.3.2. Механізми окислення сульфідних мінералів ацидофільними мікроорганізмами

Біологічне вилуговування може бути застосоване до руд, що містять залізо і відновлені форми сірки. Роль мікроорганізмів у біовилуговуванні досі не з'ясована до кінця. Сільверман та Ерліх у 1964 р. зробили першу спробу пояснити механізм біовилуговування, запропонувавши «прямий» та «непрямий» шляхи [85]. Вони припустили, що *пряме бактеріальне* вилуговування спостерігається безпосередньо при фізичному контакті бактеріальних клітин з поверхнею мінералу в кілька стадій, які каталізуються ферментами. При цьому відбувається

пряме перенесення електронів від мінералу сульфїду до сполук клітинної поверхні (наприклад, цитохромів), і далі до молекулярного кисню.

Пряме перенесення електронів між мінералами та бактеріальними клітинами було продемонстровано для нейтрофільного, органотрофного, відновника іонів заліза(III) *Geobacter sulfurreducens*, який має на поверхні клітин електрон-транспортні пілі (нанодроти), що дозволяють переносити електрони до оксидів заліза. Таким чином, він розчиняє їх шляхом хімічного відновлення [86]. Однак такі пілі не були знайдені на клітинах ацидофілів [87]. Крім того, процес «беззалізного» біовилуговування не може взагалі відбуватися. Тому, зараз вважається, що «прямий» механізм ферментативного окислення сірчаної частини сульфїдів важких металів для ацидофільних мікроорганізмів, залучених до біологічного вилуговування, не існує [88]-[90].

«Непрямий» механізм, тобто неферментативне окислення сульфїду металу іонами Fe(III) у поєднанні з ферментативним (повторним) окисленням отриманих іонів Fe(II), залишається і широко використовується для пояснення процесу біовилуговування [69], [77], [78], [91].

На відміну від «прямого» механізму біовилуговування в сучасній літературі описані два режими біологічного вилуговування: «контактне» та «безконтактне» [78], [91]. «Безконтактне» вилуговування здійснюється в основному вільними (планктонними) бактеріями, які окислюють іони Fe(II) у розчині. Утворені іони Fe(III) вступають у контакт з поверхнею мінералу, де вони відновлюються, а сульфїдна частина окислюється. Таким чином, іони Fe(II) можуть знову увійти в цикл. У точному розумінні це фактично визначений раніше «непрямий» механізм [92].

«Контактне» вилуговування означає, що більшість клітин прикріплюється до поверхні сульфїдних мінералів. При цьому, електрохімічні процеси, що призводять до розчинення сульфїдних мінералів, відбуваються на межі між бактеріальною клітиною та поверхнею мінерального сульфїду. Цей простір заповнений *позаклітинними полімерними речовинами* (англ. *EPS* від *extracellular polymeric substances*), тобто сумішшю полісахаридів, білків, ліпідів і нуклеїнових кислот («біоплівка»).

Проте, ще залишається багато відкритих питань. Наприклад, досі предметом дискусій є з'ясування ролі мікроорганізмів, які як при контактному, так і безконтактному вилуговуванні, сприяють розчиненню мінералу шляхом утворення окисника, а саме іонів Fe(III), і яким шляхом відбувається подальше окислення вивільнених сполук сірки, що утворюються з сульфїду металу, до сірчаної кислоти. З метою уникнення впливу інших металів, що входять до складу сульфїдів і які навіть у слідових концентраціях можуть спричинити дефекти або нестабільність кристалічної решітки, для систематичних досліджень механізмів розглядається можливість використовувати синтетичні мінерали, отримані у строго визначених умовах [93]. Залишаються незрозумілими системи міжклітинного зв'язку між вільними клітинами, які контролюють розвиток біоплівки [94], [95]. Детальне дослідження взаємодій між мікроорганізмами в середовищах вилуговування, включаючи з'ясування механізмів взаємодії та

ідентифікацію ще невідомих сигнальних систем комунікацій в системі «клітина-клітина», може бути майбутнім варіантом для подальшої оптимізації процесу [60], [78], [91].

Узагальнюючи вищенаведене, іони Fe(II), а також сполуки сірки як продукти неповного окислення сірчаного фрагменту сульфідів металів можуть бути окислюваними як вільними (планктонними) клітинами, так і прикріпленими до мінералів клітинами. Для цих процесів застосовуються терміни «*безконтактне вилуговування*» і «*контактне вилуговування*» відповідно, а також для обох процесів разом, було запропоновано термін «*кооперативне вилуговування*» [82]. Однак ці терміни скоріше описують розташування клітин біологічного вилуговування, але вони нічого не пояснюють про основні хімічні механізми біологічного розчинення сульфідів металів.

Таким чином, технології бактеріального вилуговування сульфідних руд та концентратів базуються на застосуванні окисника, утвореного аеробними хемолітотрофними мікроорганізмами в процесі отримання для своєї життєдіяльності енергії електрона від іонів Fe²⁺ у розчині сірчаної кислоти за участю кисню. Визначено, що при біоокисленні мікроорганізмами утворюються іони Fe³⁺ і сполуки із ними, аналогічні при дії хімічних реагентів [81]. Такі уявлення не пояснюють експериментально встановлені відмінності властивостей бактеріального розчину від розчину сульфату заліза, наприклад, а також значну окислювальну активність біорозчину [79]. Встановлено, що при окисленні залізоокислюючими бактеріями утворюється з'єднання іонів Fe³⁺ з позаклітинними полісахаридами, кислотними залишками глюкуронової кислоти – екзополісахаридами (EPS) [94], [95].

1.3.3. Шляхи біовилуговування кислотонерозчинних та кислоторозчинних сульфідних мінералів

Окиснення сульфідів металів можна описати двома різними шляхами. Для *кислотонерозчинних* мінералів пірит (FeS₂), молібденіт (MoS₂) і вольфраміт (WS₂) було запропоновано *тіосульфатний* механізм, а для *кислоторозчинних* мінералів, таких як галеніт (PbS), сфалерит (ZnS), халькопірит (CuFeS₂), гауерит (MnS₂), орпімент (As₂S₃), реальгар (As₄S₄) та ін., – *тіосульфідний* механізм окислення сульфідів металів (рис. 1.3) [78], [79], [81], [84]. Ці механізми здатні пояснити виникнення всіх неорганічних сполук сірки, які були виявлені у середовищах біологічного вилуговування. Утворення проміжних сполук сірки в обох реакційних шляхах залежить від мінералогії сульфідів металу та геохімічних умов навколишнього середовища, головним чином від рН і присутності різних окисників [77].

Мікроорганізми відіграють вирішальну роль в окисленні проміжних сполук сірки, які утворюються при хімічному розчиненні сульфідів металів. У кисневих і кислотних умовах, необхідних для біовилуговування, мікроорганізми окислюють Fe²⁺ до іонів Fe³⁺, які слугують окисниками для сульфідів металів і

для більшості проміжних сполук сірки. Крім того, мікроорганізми можуть каталізувати окислення проміжних сполук сірки до сірчаної кислоти [77].

Першою ізольованою та найкраще вивченою ацидофільною хемолітотрофною бактерією, яка широко використовується для біологічного вилуговування сульфідних мінералів, визнана *Acidithiobacillus ferrooxidans* [55]. Вона належить до типу *Pseudomonadota* (раніше *Proteobacteria*) і класу *Acidithiobacillia*.

Ця грамнегативна бактерія оптимально росте при рН 2,0 і температурі 30°C [96]. *A. ferrooxidans* є факультативно анаеробною хемолітоавтотрофною бактерією, яка використовує O₂ як акцептор електронів для фіксації атмосферного CO₂ за допомогою циклу Кальвіна-Бенсона-Бешема (the Calvin–Benson–Bassham (CBB) cycle) [97]–[99]. Вона отримує енергію за рахунок аеробного окислення Fe²⁺ або відновлених неорганічних сполук сірки (RISCs) [40, 78, 100]. Крім того, вона може виживати в анаеробних умовах, де Fe³⁺ є акцептором електронів, а RISC – донором електронів, завдяки дисиміляційному відновленню заліза [101], [102].

Водень, мурашина кислота, уран та електричний струм визнані альтернативними джерелами енергії для росту та дихання *A. ferrooxidans* [80], [103]. *A. ferrooxidans* можна знайти в природних середовищах, багатих на залізо та RISCs, таких як вугільні пласти, сульфідні руди, морська вода та кислі шахтні дренажі [104], що робить значний внесок у біогеохімічний кругообіг металів та поживних речовин. *A. ferrooxidans* відіграє вирішальну роль у промисловому біологічному вилуговуванні або біомінералізації металосульфідних мінералів.

Крім того, *A. ferrooxidans* може виживати в умовах, подібних до марсіанських, що робить його цікавим модельним організмом для астробіологічних досліджень [4], [105], [106]. Дана бактерія процвітає в екстремально кислому середовищі і зазвичай використовується як модельний організм для вивчення адаптації. Вивчення *A. ferrooxidans* також допомагає в розумінні екстремофільних мікроорганізмів.

В процесах біогеотехнології з метою біологічного вилуговування використовуються й інші види мікроорганізмів, які були виявлені як у природних, так і в промислових умовах, наприклад, поблизу сірчаних геотермальних джерел та у рудничних водах [64], [107].

1.3.4. Тіосульфатний шлях окислення піриту

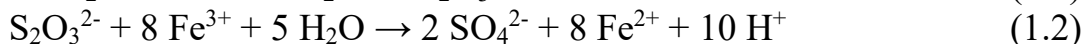
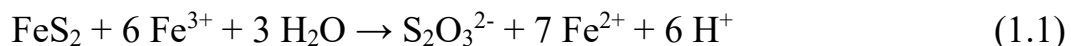
Тіосульфатний шлях окислення піриту та інших кислото-нерозчинних сульфідів металів схематично зображено на рис. 1.3 [78].

Пірит (FeS₂) складається з іона заліза (Fe²⁺) та іона S₂⁻¹ зі співвідношенням Fe/S 1:2. Відхилення (<1%) від цього стехіометричного співвідношення є досить поширеним явищем [108].

Після початкової атаки іона окисника Fe³⁺ сірчаний фрагмент піриту окислюється до розчинних проміжних продуктів сірки. При цьому, в результаті

реакції розчинення FeS_2 іонами Fe^{3+} зв'язки між S_2^{1-} і Fe^{2+} розриваються, і утворюються гідратовані іони двовалентного заліза та тіосульфат. Таким чином, утворений *тіосульфат* є першим розчинним проміжним продуктом сірки. Потім розчинний проміжний тіосульфат окислюється до тетратіонату [79]. Після цього тетратіонат розкладається на елементарну сірку, сульфід, тритіонат і пентатіонат [78]. Зрештою, ці сполуки сірки повністю окислюються в розчині до сульфатів у хімічних та/або біологічних реакціях.

Загалом, шлях утворення тіосульфатів можна узагальнити наступними рівняннями:



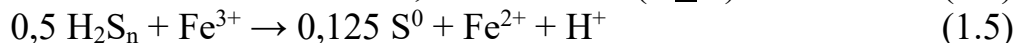
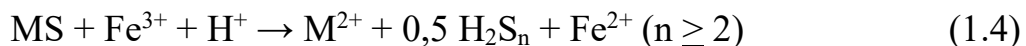
Стехіометрія тіосульфатного шляху була підтверджена в експериментах з біовилуговуванням *Acidithiobacillus ferrooxidans*, у яких стабільні ізотопи кисню та сірки визначали в продуктах реакції окислення піриту [109].

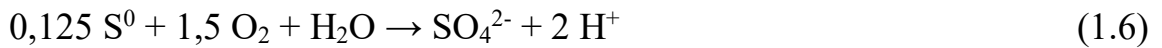
Визначено, що молекула O_2 та іони Fe^{3+} є двома найважливішими окисниками для окислення піриту. Так, швидкість окислення піриту в насиченому розчині Fe^{3+} є на два порядки вищою, ніж за рахунок розчиненого кисню за умови низького рН [110]. При цьому, визначається домінуюча роль бактерій, яка полягає в окисленні іонів Fe^{2+} до іонів Fe^{3+} , що каталізує наступну реакцію (1.3) [109]:



1.3.5. Полісульфідний шлях окислення більшості сульфідів металів

На відміну від окислення FeS_2 , зв'язки метал-сірка в кислоторозчинних сульфідах металів можуть бути розщеплені ще до початку окислення сульфідної сірки (рис. 1.3). Тобто, такі сульфіди металів, як As_2S_3 (орпімент), As_4S_4 (реальгар), CuFeS_2 (халькопірит), FeS (троїліт), Fe_7S_8 (піротин), MnS_2 (гауерит), PbS (галеніт) і ZnS (сфалерит), можуть бути розчинені протонами. При низьких значеннях рН сірчана частина цих сульфідів металів окислюється переважно до елементарної сірки [84, 99]. Ряд реакцій для кислоторозчинних сульфідів металів за своєю суттю пояснює утворення елементарної сірки через полісульфіди [75], які були виявлені під час розчинення, наприклад, Fe_7S_8 [111], PbS [112] і CuFeS_2 [95]. Отже, механізм окислення кислоторозчинних сульфідів металів був названий полісульфідним механізмом [92]. Хоча елементарна сірка хімічно інертна в природних умовах, вона може біологічно окислюватися до сірчаної кислоти. Загалом полісульфідний механізм може бути описаний такими рівняннями [78, 92]:





Полісульфідний шлях узгоджується з результатами експериментів з біовилуговування *Acidithiobacillus ferrooxidans*, у яких стабільні ізотопи кисню та сірки визначено в продуктах окислення халькопіриту та сфалериту [109].

В обох шляхах, як тіосульфатному, так і полісульфідному, основна роль бактерій-вилуговувачів полягає у регенерації іонів заліза(III) – найважливіших окисників у кислих біотопах (рис. 1.3) [112]. Таким чином, ацидофільні окисники заліза(II) контролюють окислювально-відновний потенціал у своєму середовищі, який визначається, головним чином співвідношенням заліза(III)/заліза(II) у вилуговувальних розчинах. Крім цього, ацидофільні окисники сірки сприяють перетворенню проміжних сполук сірки в сірчану кислоту [78].

У випадку елементарної сірки окислення здійснюється виключно мікроорганізмами, оскільки цей вид сірки є інертним до абіотичного окислення в кислому середовищі. Отже, елементарна сірка може накопичуватися в процесі розчинення сульфіду металу, якщо мікроорганізми, що окислюють сірку, відсутні або пригнічені. Загалом, виробництво сірчаної кислоти з відновлених сполук сірки є необхідним для регенерації протонів, спожитих початковими процесами вилуговування через полісульфідний шлях (рис. 1.3, Б).

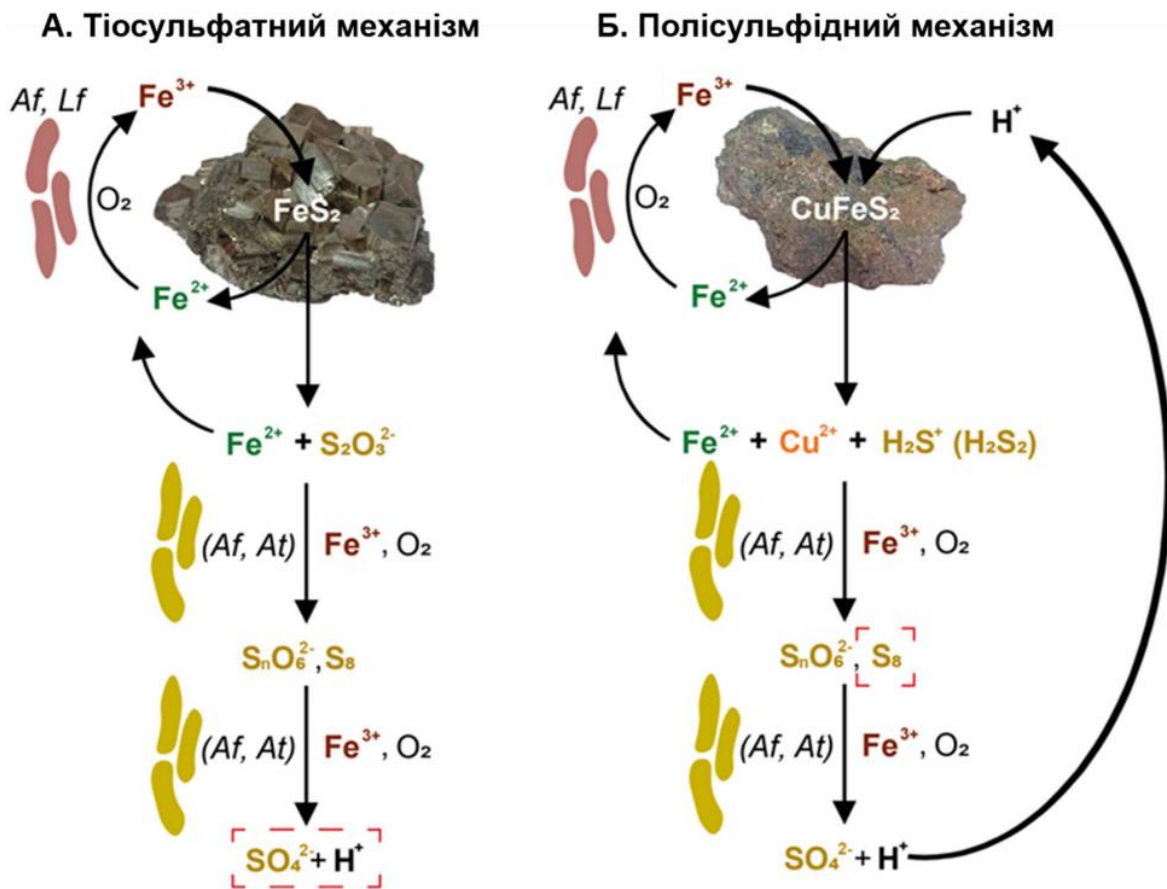


Рис. 1.3 – Схематичне порівняння тіосульфатного (А) та полісульфідного (Б) шляхів при біовилуговуванні сульфідів металів [78]

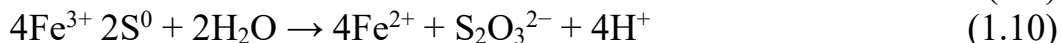
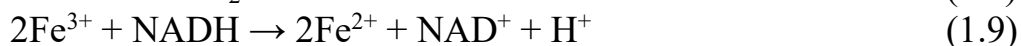
На рис. 1.3 показано, що при тіосульфатному шляху біовилуговуванні кислотонерозчинних сульфідів металів (А) іони Fe^{3+} атакують сульфід металів (MeS) і внаслідок окислювально-відновної реакції забирають електрон і таким чином відновлюються до іонів Fe^{2+} . В результаті мінерал сульфиду металу вивільняє катіони металу (Me^{2+}) і водорозчинні проміжні сполуки сірки. Залізо(II)-окислювальні бактерії, такі як *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*Af*) і *Leptospirillum ferrooxidans* (*Lf*), каталізують повторне окислення Fe^{2+} до іонів Fe^{3+} в кислих розчинах.

У випадку кислоторозчинних сульфідів металів (Б) додаткова атака здійснюється протонами, які можуть зв'язувати електрони валентної зони цих сульфідів металів. Вивільнені сполуки сірки окислюються абіотично та за допомогою бактерій, що окислюють сполуки сірки, таких як *A. ferrooxidans* та *Acidithiobacillus thiooxidans* (*At*). У випадку переважно абіотичних реакцій внесок окисників сполук сірки вказано в дужках. Основні акцептори електронів реакцій окислення, відмінні від початкової атаки іонів Fe^{3+} на сульфід металу, наведені праворуч від стрілок. Основні продукти реакції, які накопичуються за відсутності окисників сульфурвмісних сполук – це сульфатна кислота (А) та елементарна сірка (Б). Наведені рівняння не є стехіометричними.

Визначено, що окисники сірки можуть певним чином впливати на кінетику вилуговування. Елементарна сірка може перебувати у вигляді вільних агрегатів і кристалів або утворювати шар на поверхні сульфиду металу [112]. В останньому випадку можуть змінюватися електрохімічні властивості поверхні сульфиду металу та/або утворюватися бар'єр, що зменшує швидкість дифузії іонів і кисню. Обидва явища негативно впливають на кінетику вилуговування. Зниження швидкості вилуговування шарів сірки спостерігалось на кислото-розчинному сфалериті при низьких окислювально-відновних потенціалах за відсутності окисників сірки [109]. Подібні проблеми відомі для халькопіриту [65]. Навпаки, за високих значень окисно-відновних потенціалів (близько 750 мВ проти стандартного водневого електрода) не спостерігалось жодних інгібуючих шарів сірки ні з кислоторозчинними, ні з кислотонерозчинними сульфідами металів [65], [109], [112]. Хоча елементарна сірка також утворювалася в останніх двох випадках, вона, ймовірно, існувала лише у вигляді вільного агрегату, який не зменшує швидкості вилуговування в умовах, контрольованими рН [78].

1.3.6. Анаеробний процес біологічного вилуговування ацидофільними мікроорганізмами

За відсутності кисню *A. ferrooxidans* зазнає анаеробного зростання, здійснюючи відновне розчинення оксигідроксиду тривалентного заліза (Fe^{3+}) шляхом окислення елементарної сірки (S^0 до $S_2O_3^{2-}$). Ця реакція набуває ключового значення в процесі «Ferredox», прикладом якого є вилучення нікелю з латеритних руд [113]. Основні поєднані реакції, залучені в анаеробний метаболізм, можна підсумувати наступним чином:



Отже, в процесі «Ferredox» було використано здатність факультативно анаеробної ацидофільної бактерії *Acidithiobacillus ferrooxidans* поєднувати окислення елементарної сірки з відновленням тривалентного заліза у гетитовій фракції лімонітової нікелевої руди при 30°C. Нікель та інші метали (Co, Cr і Mn) ефективно розчинялися та підтримувалися в розчині завдяки низькому рН (1,8) розчину для вилуговування. Отримані авторами результати підкреслюють потенціал для біовилуговування окислених, багатих залізом руд з використанням підходу, який є енергозберігаючим та екологічно безпечним у порівнянні з металургійними процесами, які зараз застосовуються для вилучення Ni з латеритних руд [46], [101], [102], [113].

1.4. Мікробіологічні особливості видобування металів із мінеральної сировини

З'ясування ролі мікроорганізмів у процесі зміни та перетворення корисних копалин є одним із основних завдань геологічної мікробіології. В окисних умовах земної кори сульфідні багаті цінні метали, таких як мідь, цинк, нікель, молібден та ін., під впливом різних окисних агентів перетворюються на сульфати. Більшість сульфатів добре розчиняються у воді. Тому окислення сульфідів у родовищах супроводжується їх вилуговуванням [54], [69]. Крім того, бактеріальні процеси, що протікають у сульфідних родовищах, можуть бути використані для інтенсифікації гідрометалургійної переробки сульфідних руд [78].

Тривалентне залізо є одним з найбільш сильних окисників сульфідів, при взаємодії з якими воно відновлюється в двовалентний стан, тому бактеріальна регенерація тривалентного заліза з двовалентної форми має, безсумнівно, велике значення у загальному процесі окислення та вилуговування сульфідних мінералів [1], [78].

Мікроорганізми, що використовуються для біовилуговування. Перші згадування про роль бактеріального фактору в окисленні та вилуговуванні сульфідів були отримані у 1947 р. Колмером і Хінклом [114], [115]. Вони встановили, що інтенсивне окислення іонів двовалентного заліза в тривалентний стан, що спостерігається в кислих дренажних водах піритиносних вугільних родовищ, обумовлене участю бактерій *Thiobacillus ferrooxidans* (у 2000 р. перейменована на *Acidithiobacillus ferrooxidans*).

Мікроорганізми, які використовуються для біовилуговування, переважно відносяться до груп хемолітотрофів, які для зростання окислюють неорганічні сполуки (перш за все залізо та сірку), і хемоорганотрофів, які окислюють відновлені органічні сполуки [2], [60].

Хемолітотрофи також зазвичай є ацидофілами, оскільки вони живуть при низьких значеннях рН. Залежно від оптимальних температур росту їх можна далі класифікувати як мезофіли, помірні термофіли та термофіли [106]. Серед хемолітотрофів розрізняють хемолітотрофних автотрофів, які використовують неорганічну речовину, і хемолітотрофних гетеротрофів, які використовують органічний вуглець як джерело енергії. Ацидофіли є найбільш використовуваною групою мікроорганізмів для застосування у біовилуговуванні.

Окрім ацидофілів широкого використання набувають також гетеротрофні бактерії та гриби, що метаболізують органічні сполуки і таким чином сприяють біологічному вилуговуванню шляхом утворення органічних кислот, сидерофорів або ціанідів, які забезпечують біологічне вилуговування металів за рахунок кислотності або комплексоутворення [41], [116]. Ці організми є нейтрофілами або алкаліфілами і працюють при більш високих та помірних температурах навколишнього середовища [117], [118].

Серед ацидофільних мікроорганізмів, переважно бактерій та архей, найбільш поширеними є бактерії *Acidithiobacillus ferrooxidans* і *Acidithiobacillus thiooxidans*, які часто використовують для вилучення металів із сульфідних руд, наприклад, піриту [3], [119]. Ці мікроорганізми окислюють двовалентне залізо (Fe^{2+}) та/або сполуки сірки з утворенням тривалентного заліза (Fe^{3+}) і сірчаної кислоти (H_2SO_4), які є ефективними окисниками для розчинення металів. Наприклад, *A. ferrooxidans* окислює двовалентне залізо та сполуки сірки, *A. thiooxidans* окиснює лише елементарну сірку, а *Leptospirillum ferrooxidans* і *L. ferriphilum* використовують лише двовалентне залізо як джерело енергії. В табл. 1.5 показані приклади груп мікроорганізмів, розділених за здатністю окислювати Fe^{2+} та/або сполуки сірки з утворенням Fe^{3+} і H_2SO_4 [120], [121].

Різноманітність мікроорганізмів при біовилуговуваннях визначається параметрами процесу, такими, як температура, рН, доступність кисню, джерело вуглецю та мінеральна складова.

За помірних температур (25-40°C) у мікробних співтовариствах біовилуговування домінують здебільшого мезофільні роди, поширені серед Pseudomonadota (*Acidithiobacillus*, *Acidiphilium*, *Acidiferrobacter*, *Ferrovum*) та Nitrospirae (*Leptospirillum*). При помірно високих температурах (від 40°C до 60°C) зустрічаються Firmicutes (*Alicyclobacillus*, *Sulfobacillus*) і Actinobacteria (*Ferrimicrobium*, *Acidimicrobium*, *Ferrithrix*). У всіх групах можна знайти як мезофільні, так і помірно термофільні мікроорганізми [6].

Археї, що вилуговуються, здебільшого належать до Sulfolobales, групи надзвичайно термофільних окисників сірки та заліза(II), включаючи такі роди, як *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera* та *Sulfurisphaera* [122]. Крім того, в межах Thermoplasmatales відомі два види, що окислюють залізо(II), *Ferroplasma acidiphilum* [123] і *Ferroplasma acidarmanus* [124].

Таблиця 1.5 – Мікроорганізми, здатні окислювати Fe²⁺ та/або сполуки сірки

| Організм | t°C* | pH* | Виділені з | |
|---|-------|---------|------------|-------------|
| | | | відвалів | біореактора |
| Окисники Fe²⁺ | | | | |
| <i>Ferrovum myxofaciens</i> | | > 2 | | |
| <i>Ferrimicrobium acidiphilum</i> | 32 | 1,7-1,8 | + | |
| <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> | 37 | 1,5-1,7 | + | + |
| <i>Leptospirillum ferriphilum</i> | 39 | 1,4-1,8 | + | + |
| <i>Ferroplasma acidiphilum</i> | 40 | 1,6-1,8 | + | + |
| <i>Ferrithrix thermotolerans</i> | 40 | 1,8 | | |
| <i>Acidimicrobium ferrooxidans</i> | 49 | 2,0 | + | + |
| Окисники Fe²⁺ та S | | | | |
| <i>Acidithiobacillus ferrivorans</i> | 28-33 | 2,5 | | |
| <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> | 30 | 2,0-4,0 | + | + |
| <i>Thiomonas arsenivorans</i> | 20-30 | 4,0-7,5 | | |
| <i>Thiomonas intermedia</i> | 30 | 3,5 | | |
| <i>Sulfobacillus benefaciens</i> | 38-39 | 1,5 | + | + |
| <i>Sulfobacillus thermotolerans</i> | 44-46 | 1,3-1,5 | + | + |
| <i>Sulfobacillus acidophilus</i> | 48 | 1,7-1,9 | + | + |
| <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> | 50-52 | 1,6-1,8 | + | + |
| <i>Sulfobacillus sibiricus</i> | 52 | 1,4-1,6 | | + |
| <i>Acidithiomicrobium spp.</i> | 50 | 1,7-2,0 | | + |
| <i>Metallosphaera hakonensis</i> | 65 | 2,5-3,0 | | |
| <i>Acidianus brierleyi</i> | 70 | 1,5 | | + |
| <i>Sulfolobus metallicus</i> | 71 | 2,0 | + | + |
| <i>Acidianus sulfidivorans</i> | 74 | 0,8-1,4 | | |
| <i>Metallosphaera sedula</i> | 74 | 2,0 | | + |
| Окисники S | | | | |
| <i>Acidiphilium acidophilum</i> | 25-30 | 3-3,5 | + | |
| <i>Acidithiobacillus albertensis</i> | 25-30 | 3,5-4 | + | |
| <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> | 33 | 1,5-2,0 | + | + |
| <i>Acidithiobacillus caldus</i> | 49-52 | 1,8-2,2 | + | + |
| <i>Acidicaldus organivorans</i> | 50 | 2,5 | | |
| <i>Hydrogenobaculum acidophilum</i> | 65 | 3-4 | | |
| <i>Metallosphaera prunae</i> | 75 | 1,0-4,5 | | + |
| <i>Sulfolobus tokodaii</i> | 75 | 2,0 | | |
| <i>Sulfolobus shibatae</i> | 75-80 | 3,0-4,0 | | + |
| <i>Acidianus infernus</i> | 88 | 2,5 | | + |
| <i>Acidianus ambivalens</i> | 80 | 2,5 | | |

*Дані взяті з баз даних DSMZ щодо опису видів мікроорганізмів та середовищ для їхнього культивування (<https://mediadive.dsmz.de/strains> та <https://bacdive.dsmz.de/strain/16654>)

Дані мультилокусного аналізу генетичних послідовностей 21 штаму Fe(II)-окислювальних *Acidithiobacillus* з використанням п'яти філогенетичних маркерів показали, що дана група бактерій складаються щонайменше з чотирьох різних підгруп, які можуть відповідати різним видам [125]. Одна з цих підгруп включає штами *Acidithiobacillus ferrivorans* [99], здатних до психрофільного росту. Крім того, їхня рухливість призводить до того, що вони становляться домінуючими мікроорганізмами у низькотемпературному середовищі вилуговування [126]. Застосування молекулярних методів дозволило також віднести штам m-1, що тривалий час належав до *A. ferrooxidans*, до нового роду *Acidiferrobacter* серед протеобактерій, який тісно пов'язаний з алкаліфільними *Echothiorhodospira* spp. Було показано, що цей штам є «помірним осмофілом» [127].

Виявлено велику різноманітність шляхів асиміляції вуглецю серед бактерій-вилуговувачів. *Acidithiobacillus* spp. і *Leptospirillum* spp. можуть рости тільки хемолітоавтотрофно, в той час як *Acidiphilium acidophilum* і *Acidimicrobium ferrooxidans* здатні рости як автотрофно з відновленими сполуками сірки та іонами заліза(II), так і гетеротрофно з глюкозою або дріжджовим екстрактом і міксотрофно з усіма цими субстратами [128]. Крім того, окремі види *Acidiphilium* spp. і *Acidisphaera rubrifaciens* мають пігменти, що надає їм змогу проводити фотосинтетичну активність [129], [130].

A. ferrooxidans наділений надзвичайно широкою метаболічною здатністю. Як було вже показано раніше, цей вид живе за рахунок окислення іонів заліза (II) та/або відновлених неорганічних сполук сірки і, крім того, здатний окислювати молекулярний водень, мурашину кислоту та іони інших металів. Анаеробне зростання можливе шляхом окислення сполук сірки або водню у поєднанні з відновленням заліза(III) [46]. Крім того, один штам продемонстрував здатність відновлювати елементарну сірку в ході анаеробного окислення водню [131]. У бактерії *A. ferrooxidans* використання акцепторів електронів, крім кисню, обумовлюється наявністю різних компонентів транспорту електронів. Наприклад, щонайменше 11 різних цитохромів типу *c* були ідентифіковані в геномі *A. ferrooxidans* [98]. На підставі транскриптомних та протеомних досліджень припущено, що відновлення заліза при анаеробному рості *A. ferrooxidans*, коли сірка використовується як донор електронів, можна частково пояснити непрямим механізмом, при якому сірка перетворюється на H₂S і сульфат. Отже, утворений H₂S може бути відповідальним за відновлення іонів заліза(III) у кислих умовах. Також було припущено наявність альтернативного механізму, ймовірно, пов'язаного з передачею електронів від сірки до іонів заліза(III) через дихальний ланцюг, що пояснює їхнє відновлення при використанні H₂ як донора електронів [101].

Той факт, що багато вилуговуючих бактерій контролюють повні аеробні та анаеробні цикли сірки та заліза, може мати особливо велике значення для боротьби з дренажем кислотних шахтних вод (AMD – від «acid mine drainage») [129], [132]. Якщо природне біовилуговування у породних відвалах і хвостосховищах зупинити шляхом затоплення або за допомогою органічних покриттів (обидва заходи поширені для боротьби з AMD, які створюють

безкисневе середовище), вилуговуючі бактерії можуть залишатися активними завдяки своїм анаеробним можливостям. Визначено, що деякі інші ацидофіли зростають шляхом дисиміляційного відновлення іонів заліза(III) за допомогою неорганічних донорів електронів, як у випадку з *A. ferrooxidans* [131], [133] або органічних донорів електронів у випадку з *Acidiphilium* і *Ferroplasma* [123], [124].

Велика різноманітність грампозитивних штамів, пов'язаних з *Acidimicrobium* і *Ferrimicrobium*, була знайдена в збагачувальних культурах із відвалів сульфідних шахт [64], [84].

Було продемонстровано, що «анаеробне біовидобування» сульфідів металів при низькому рН можливо за допомогою *A. ferrooxidans* для біовилуговування нікелевих лімонітів, де метал пов'язаний з оксигідроксидами заліза, такими як гетит (FeOOH) [134]. Ця концепція біовідновного вилуговування може бути застосована для оксидних руд і вже була використана для процесу під назвою «Ferredox» [113].

Більшість відомих ацидофільних окисників заліза інгібуються високими концентраціями хлоридів, що є актуальною проблемою для гірничодобувних робіт, які проводяться в пустельних районах, таких як Чилі та Австралія, де ресурси прісної води обмежені. Повідомляється про спроби отримати біовилуговування при високих концентраціях солі, а також про дослідження реакції організмів, що вилуговують, на підвищену кількість хлорид-іонів [135]. Так, мікробіологічне дослідження хвостосховищ сульфідних шахт на півночі Чилі виявило існування галотолерантних, ацидофільних окисників заліза, активних у концентраціях до 1 М NaCl. Це відкриття може надати можливість для розробки процесів біовидобування з використанням таких галотолерантних видів [136].

При застосуванні спектроскопічних і біохімічних методів, а також аналізу “omics” (який фокусується не на окремих генах, а на повному геномі і охоплює геноміку, транскриптоміку та протеоміку), проводили аналіз окислювально-відновних ланцюгів аеробних таких бактерій, як *A. ferrooxidans* і *L. ferrooxidans* [100], [137]. З'ясувалось, що системи окислення заліза(II) ацидофільних залізоокислювальних бактерій відрізняються за використовуваними окислювально-відновними компонентами.

Існує щонайменше 14 родів, здатних окислювати іони заліза(II) за допомогою молекулярного кисню як акцептора електронів. Не дивно, що в межах такого розмаїття мікробних груп існують різні механізми переносу електронів в електрон-транспортних системах бактерій [138]. Було припущено, що ці біохімічні відмінності в дихальних ланцюгах можуть визначати, чи є *A. ferrooxidans* або *L. ferrooxidans* домінуючими бактеріями в різних гірничодобувних біотопах, таких як відвали вилуговування, рудні тіла або біореактори. З'ясування окислювальних систем у ацидофільних бактерій має важливе промислове значення, оскільки це може вплинути на підвищення ефективності використання мікроорганізмів, а також при проектуванні установок для біологічного вилуговування [133], [139].

1.5. Позаклітинні полімерні речовини (EPS) та їх роль в утворенні біоплівки при біовилуговуванні сульфідних мінералів

Колонізація твердих поверхонь мікроорганізмами є дуже складним процесом, який здебільшого залежить від виробництва позаклітинних молекул. Біосинтез EPS відображає не тільки процес прикріплення та агрегації, але й забезпечує оптимальне середовище для обміну генетичним матеріалом між клітинами.

Відомо, що більшість ацидофільних бактерій ростуть прикріпленими до поверхні мінеральних сульфідів. При цьому, процес прикріплення переважно опосередковується EPS, що оточує клітини [78], [140]. За наявності штаму *A. ferrooxidans* R1 і FeS₂ визначено, що EPS складаються з цукрів глюкози, рамнози, фукози, ксилози, манози, насичених жирних кислот C₁₂-C₂₀, глюкуронової кислоти та іонів заліза(III) [94], [95], [141].

Загальна схема утворення біоплівки показана на рис. 1.4.

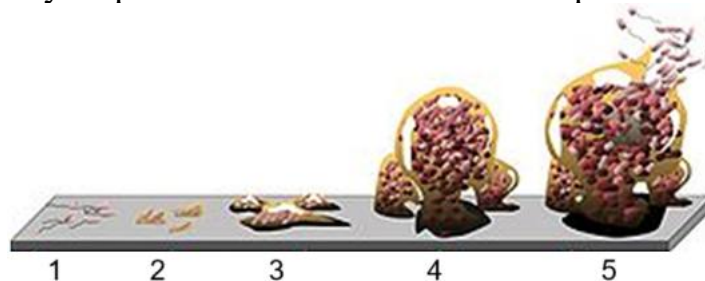


Рис. 1.4 – Основні стадії розвитку біоплівки на твердій поверхні

Як видно, виділяють п'ять основних стадій розвитку біоплівки: (1) первинне прикріплення мікроорганізмів до поверхні (адгезія, сорбція); стадія оборотна; (2) остаточне (необоротне) прикріплення (або фіксація). Мікроби виділяють позаклітинні полімери, що забезпечують міцну адгезію; (3) дозрівання, тобто клітини, що прикріпилися до поверхні, полегшують прикріплення таких клітин, позаклітинний матрикс утримує всю колонію. Накопичуються поживні речовини, клітини починають ділитися; (4) зростання, – утворена зріла біоплівка, і тепер вона змінює свій розмір та форму. Позаклітинний матрикс є захистом клітин від зовнішніх загроз; (5) дисперсія (викид бактерій): в результаті розподілу періодично від біоплівки відриваються окремі клітини, здатні через деякий час прикріпитися до поверхні та утворити нову колонію.

Вважається, що первинне прикріплення відбувається переважно шляхом електростатичної взаємодії між позитивно зарядженими клітинами (фактично, EPS, що оточує клітини, в якому ймовірно 2 моль негативно заряджених залишків глюкуронової кислоти утворюють комплекс з 1 моль позитивно заряджених іонів заліза(III), що призводить до сумарного позитивного заряду) з негативно зарядженою поверхнею піриту (при рН 2,0 у розчині сірчаної кислоти) [78]. Крім того, гідрофобні взаємодії певною мірою сприяють прикріпленню до поверхні сульфідів металів [94], хоча це особливо стосується дуже гідрофобних поверхонь, наприклад, елементарної сірки. Гідрофобні взаємодії, а також ковалентні зв'язки,

схоже, опосередковують вторинне (щільне) поверхнєве прикріплення. Клітини, вирощені на елементарній сірці, не прикріплюються до FeS₂ через значно змінений склад EPS порівняно з клітинами, вирощеними на піриті. EPS, утворені клітинами на сірці містять значно менше цукрів і уронових кислот, але набагато більше жирних кислот, ніж EPS з клітин, вирощених на піриті [140]. Найважливішою відмінністю, однак, є повна відсутність комплексних іонів заліза(III) або інших позитивно заряджених іонів. Отже, для прикріплення клітин *A. ferrooxidans* до сірки мають значення виключно гідрофобні взаємодії [94]. Молекулярні механізми, які використовуються бактеріями-вилуговувачами для адаптації складу та кількості їх EPS відповідно до субстрату росту (клітини планктону, вирощені на розчинних субстратах, наприклад, сульфаті заліза(II), майже не продукують EPS), ще потребують детального з'ясування. Залишаються відкритими питання щодо місця прикріплення та виявлення/відчуття цього місця клітинами [78].

Визначено, що прикріплення клітин до сульфідів металів відбувається не випадково. Так, зображення атомно-силової мікроскопії (AFM – *atomic force microscopy*), а також конфокальної лазерної мікроскопії (CLSM – *confocal laser microscopy*) демонструють, що більш ніж 80 % клітин *A. ferrooxidans* прикріплюються до ділянок з видимими дефектами поверхні (розлами, виїмки тощо) [78]. Крім того, для прикріплення клітини надають перевагу ділянкам з низьким ступенем кристалізації, а «сидячі» (нерухомі) клітини орієнтуються вздовж кристалографічних осей, у напрямку яких поширюються фронти окислення [78].

Прилипання (адгезія) клітин до виїмок можна пояснити простим збільшенням площі контакту, у той час як ділянки з низькою кристалізацією та кристалографічною віссю не пов'язують зі змінами рельєфу поверхні [142]. Таким чином, прикріплення до певних ділянок на поверхні мінералу в основному пов'язане з різними атрактантами, швидше за все, спричиненими дисбалансом зарядів на поверхні, викликаним, наприклад, процесами окиснення. Було показано, що деякі штами *A. ferrooxidans* і *L. ferrooxidans* мають хемосенсорну систему (хемотаксис), яка позитивно реагує на градієнти іонів заліза(II)/(III), тіосульфату тощо [143]. Ці сполуки обов'язково виникають під час розчинення сульфідів металів (рис. 1.3).

Визначено, що клітини *L. ferrooxidans*, які прикріплені до поверхні піриту, мають більш негативний заряд (близько 100-200 мВ), ніж навколишня поверхня мінералу (тобто, витягують електрони з піриту). У дослідях з визначенням місць прикріплення сульфат-відновлюючих бактерій на сталевих поверхнях встановлено, що бактерії прикріплюються в безпосередній близькості (нанометровий діапазон) до анода. Останній заряджається негативно до тих пір, поки не відбудеться вивільнення іонів заліза(II). Внаслідок прикріплення бактерій анод і катод чітко проявляються і починається розчинення сталі [144]. Таке спостереження є актуальним і для біологічного вилуговування сульфідів металів. Таким чином, клітини притягуються до тимчасових (електрично заряджених) ділянок розчинення своїми сенсорними системами хемотаксису, що

призводить до того, що на поверхні сульфїду металу проявляються аноди і катоди. Процес розчинення відбувається в шарі EPS. Цей шар заповнює порожнечу між зовнішньою мембраною клітин і поверхневим шаром сульфїду металу і, таким чином, може розглядатися як реакційний простір. Визначено, що ця відстань становить 10-100 нм [142]. Наприклад, товщина EPS для клітин *A. ferrooxidans*, вирощених на Fe^{2+} і досліджених за допомогою AFM *in vivo*, становила $28,7 \pm 13,5$ нм. Крім того, розрахунки щільності полімеру показали, що ця бактерія має від 51 тис. до 105 тис. молекул екзополімеру на своїй зовнішній поверхні, що в 20-30 разів менше, ніж у *Escherichia coli* [145]. Значення товщини EPS для клітин, вирощених на сірці або піриті, ще є приводом до дискусій. Імовірно, вони будуть набагато більшими, ніж вищезгадані, оскільки вже відомо, що при утворенні бактеріальної біоплівки виробництво EPS зростає [142]. Причому, встановлено, що зростання утворення біоплівки на мінералі відбувається в присутності D-галактози та D-глюкози [140]. Наприклад, досліди показали, що додавання D-галактози в культуру *L. ferrooxidans* збільшувало виробництво EPS. Вважається, що присутність даного вуглевода у малих концентраціях у середовищі вилуговування може стимулювати вироблення EPS планктонними та «сидячими» клітинами [146].

1.6. Умови та параметри контролю ефективності біовилуговування сульфідних мінералів на промисловому рівні

Процес біологічного вилуговування, який за своєю суттю залежить від мікроорганізмів, знаходиться під значним впливом біологічних, екологічних, фізичних та хімічних умов, які відіграють ключову роль у визначенні ефективності видобутку корисних копалин. Для оптимізації даного процесу необхідно ретельно створювати ідеальні умови для сприяння росту залучених мікроорганізмів, враховуючи такі фактори, як наявність джерел енергії, поживних речовин, вологості, рН і температури тощо (табл. 1.6) [56].

Одним з найважливіших факторів, що визначає успішність процесу біологічного вилуговування, є природа рудного матеріалу [62]. Наприклад, у випадках, коли середовище є лужним, можуть утворюватися осади, що перешкоджають нормальному просочуванню вилуговувального розчину через відвал [54, 118]. Тому ретельне вивчення характеристик рудного матеріалу є обов'язковим для забезпечення високої ефективності процесу [32].

Наявність поживних речовин у руді є ще одним критичним фактором, що впливає на процес біологічного вилуговування. Хоча деякі поживні речовини, необхідні для росту мікроорганізмів, можуть бути присутніми в руді, інші, такі як фосфор і азот, можуть бути дефіцитними [147].

Дефіцит таких елементів може вплинути на ефективність процесу вилуговування, що зумовлює необхідність їх додавання, якщо це економічно доцільно [120].

Таблиця 1.6 – Ключові параметри, що впливають на біологічне вилуговування сульфідів металів

| Визначальні фактори | Параметри |
|------------------------------|---|
| Мінералогічні характеристики | Розмір частинок мінералу, площа поверхні, склад, поширення, тип мінералу, утворення вторинних мінералів, гідрофобно-гальванічні взаємодії тощо. |
| Фізико-хімічні умови | Концентрація CO ₂ і O ₂ , концентрація твердої фази, густина розчину, температура, рН, доступність поживних речовин, окислювально-відновний потенціал тощо. |
| Біологічні умови | Мікробна активність, мікробне різноманіття, просторовий розподіл мікроорганізмів, прикріплення до частинок руди, стійкість до металів тощо. |

Таким чином, для забезпечення оптимального функціонування процесу біологічного вилуговування необхідно ретельно підтримувати складний баланс біологічних і факторів навколишнього середовища [148].

1.6.1. Забезпечення киснем та вуглекислим газом

Аерація системи вилуговування, яка постачає як O₂, так і CO₂, виділяється як критичний фактор, що впливає на ефективність процесу біовилуговування. При цьому необхідно враховувати, що більшість бактерій, залучених до вилуговування сульфідних мінералів, є факультативними анаеробами та хемолітотрофами [78], [99], [149]. Достатня кількість вуглекислого газу в повітрі як джерело вуглецю сприяє утворенню біомаси, тим самим прискорюючи реакції біоокислення [80]. Кисень необхідний як акцептор електронів в електрон-транспортному ланцюзі і значним чином впливає на мікробну активність та ефективність [86], [88], [90], [98]. Зазвичай повітря подається в систему через мережу труб біля їх основи, використовуючи для нагнітання потужні повітродувки низького тиску або вентилятори.

1.6.2. Зрошення

Зрошення – ще один ключовий фактор, який суттєво впливає на процес біологічного вилуговування відвалу. Хоча існують різні думки щодо типу зрошення (безперервного чи періодичного), для розчинення мінеральної сировини, як правило, перевагу надають періодичному зрошенню. При цьому методі розчин для вилуговування періодично розбризкують на поверхню відвалу, дозволяючи йому просочитися перед нанесенням нового розчину. Такий підхід сприяє зворотному капілярному ефекту, особливо корисному для вилуговування грубих матеріалів. Отже, періодичне зрошення виявляється більш ефективним

для вилуговування грубих матеріалів порівняно з безперервним зрошенням [43], [54], [150].

1.6.3. Мікроорганізми

Мікроорганізми живуть у певних температурних діапазонах, причому оптимальні температури коливаються в межах 30-40°C для мезофілів, 40-55°C для помірних термофілів і вище 55°C для екстремальних термофілів. За межами даних діапазонів мікроорганізми стають неактивними або швидко руйнуються, що впливає на ефективність біовилуговування [120], [126]. Рівень рН також є вирішальною робочою умовою, переважно в діапазоні 1-2, що впливає як на дієздатність мікроорганізмів, так і на окислення сульфідів [99], [102].

Тривалий час безумовними лідерами у численних дослідженнях щодо процесів бактеріального вилучення металів застосовувались представники мезофільних хемолітотрофних бактерій роду *Acidithiobacillus*, зокрема *A. ferrooxidans*, здебільшого завдяки простоті підтримання чистих культур та накопиченню достатніх лабораторних і прикладних даних [55], [99]. Визначено достатньо детально, яким чином *Acidithiobacillus* можуть використовувати енергію окислення відновлених сполук сірки в сірчану кислоту для асиміляції вуглецю, побудови тіла клітини та інших життєвих функцій [55]. Проте, деякі сірчані бактерії можуть використовувати для своєї життєдіяльності, окрім окислення сірки, окислення інших сполук – органічних речовин або закисного заліза [117], [128]. Помірно термофільні бактерії, що поширені в мікробіоценозах природних руд і техногенних субстратів і виявляють здатність до вилуговування металів, відносяться до роду *Sulfobacillus*. Вони є унікальною групою ацидофільних бактерій, що знаходиться в сульфідних і поліметалевих рудах, термальних джерелах і зонах спонтанного розігріву руд [122]. *Sulfobacillus* spp. можуть рости як хемолітотрофи, міксотрофи та/або гетеротрофи в аеробних і анаеробних середовищах протягом принаймні коротких періодів часу, а їх здатність утворювати спори надає додаткову перевагу в умовах сульфідного вилуговування [151]. У минулому їхній внесок у біовилуговування здавався недооціненим. Аналогічно, ацидофільні види *Alicyclobacillus*, деякі з яких, як було показано, окислюють залізо(II) і RISC [152], все частіше ідентифікуються в сульфідних середовищах. Вони є гетеротрофами і, ймовірно, приносять користь біовилуговуючим організмам, розкладаючи органічні сполуки [91]. Як і *Sulfobacillus* spp., *Alicyclobacillus* spp. утворюють спори, які можуть сприяти їхньому виживанню в екстремальних умовах [151], [152].

Крім ацидофільних хемолітотрофних до складу мікробіоценозів геогенних та техногенних екологічних ніш входять типові гетеротрофні мікроорганізми – представники родів *Pseudomonas* та *Bacillus*, здатні відновлювати та сорбувати метали, руйнувати складні органічні речовини – похідні фенолу, бензапірену тощо [153]. Деякі представники гетеротрофних мікроорганізмів беруть участь у процесах руйнуванні кремнезему та різних силікатів. Останніми роками велику

увагу приділяють з'ясуванню ролі мікробних консорціумів у різних системах біологічного вилуговування [58], [121]. Наприклад, дослідження свідчать, що окислення сірки в присутності бактерій *A. thiooxidans*, або *L. ferrooxidans*, які в асоціаціях часто зустрічаються разом з *A. ferrooxidans*, протікає набагато швидше [121]. Не дивлячись на те, що *Leptospirillum* spp. використовують у якості джерела енергії лише залізо(II), це обмеження компенсується їхньою здатністю переносити нижчий рН розчину і більш високі концентрації заліза(III), ніж *A. ferrooxidans*, що дає їм перевагу при вилуговуванні у біореакторах (CSTR) для обробки піритних золотих концентратів [22], [30]. Аналогічно, завдяки вдосконаленій методології, що дозволяє відрізнити *A. caldus* від *A. thiooxidans*, поширеність і, в деяких випадках, домінування *A. caldus* в CSTR тепер більш широко визнана [84], [129]. В табл. 1.7 наведені приклади можливих спільних та змішаних культур, які застосовуються для біовилуговування міді з халькопіриту.

Таблиця 1.7 – Поодинокі, спільні та змішані культури мікроорганізмів для використання в експериментах з біовилуговування халькопіриту [58]

| Культура(и) мікроорганізмів | pH | t°C | Субстрат |
|---|-----|-----|-------------------------|
| Одиночні культури | | | |
| <i>Acidiferrobacter</i> sp. | 1,8 | 30 | CuFeS ₂ |
| <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> | 1,8 | 30 | CuFeS ₂ |
| <i>Acidithiobacillus ferrianus</i> | 1,8 | 30 | CuFeS ₂ |
| <i>Sulfobacillus benefaciens</i> | 2,0 | 37 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> | 1,8 | 37 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Sulfobacillus thermotolerans</i> | 2,0 | 40 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Sulfobacillus acidophilus</i> | 1,8 | 50 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Sulfobacillus sibiricus</i> | 2,0 | 50 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Metallosphaera sedula</i> | 2,0 | 70 | CuFeS ₂ |
| Со-культури | | | |
| <i>Ferrithrix thermotolerans</i> + <i>Acidithiobacillus caldus</i> | 1,8 | 37 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Ferroplasma acidiphilum</i> + <i>Acidithiobacillus caldus</i> | 1,8 | 40 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Acidianus brierleyi</i> + <i>Acidithiobacillus sedula</i> | 2,0 | 70 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| <i>Sulfuracidifex metallicus</i> + <i>Acidithiobacillus sedula</i> | 2,0 | 70 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| Змішані культури (МК) | | | |
| МК1 (<i>A. ferrooxidans</i> + <i>A. ferrianus</i>) | 2,0 | 25 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| МК2 (<i>S. thermotolerans</i> , <i>A. caldus</i> , <i>S. thermosulfidooxidans</i> , <i>F. acidiphilum</i>) | 2,0 | 37 | CuFeS ₂ + ДЕ |
| МК3 (<i>S. thermotolerans</i> , <i>S. acidophilus</i> , <i>F. acidiphilum</i>) | 2,0 | 49 | CuFeS ₂ + ДЕ |

*ДЕ – дріжджовий екстракт.

Авторами дослідження [58] запропоновано для більш масштабного тестування використовувати змішані мікробні спільноти, оскільки вони краще справляються зі змінами навколишнього середовища в екстремальних умовах. Також, змішані культури покращують біовилуговування завдяки синергічним взаємодіям, які можуть існувати між мікроорганізмами [155].

Крім того, визначено, що при застосуванні змішаної культури з домінуванням *Acidithiobacillus* spp. і *Sulfobacillus* spp. для біовилуговування халькопіриту при низькій температурі спостерігалась більша її ефективність у порівнянні з чистою культурою *A. ferrivorans* штам YL15 [154].

Електрохімічні дослідження показали, що у порівнянні з чистою культурою змішана посилює реакції розчинення, зменшує корозійний потенціал при одночасному збільшенні струму корозії, а також зменшує опір халькопіритового електроду. В цілому, показано, що змішана культура посилила ефективність біологічного вилуговування халькопіриту [154], [155].

1.6.4. Вимоги до поживних речовин і культуральних середовищ

Поживне культуральне середовище для виділення та росту бактерій, по суті, є сумішшю хімічних сполук для забезпечення всіх елементів, необхідних для виробництва клітинної маси, а також достатньої кількості енергії для біосинтезу та підтримання життєдіяльності [156]. Типове поживне середовище для культивування ацидофільних мікроорганізмів, в основному, складається з азоту, введеного у вигляді амонійної солі, фосфору у вигляді калієвої солі фосфорної кислоти, магнію у вигляді сульфату магнію та інших солей, таких як нітрат або хлорид кальцію. Для досліджень мікробіологічного вилуговування запропоновано низку поживних середовищ (табл. 1.8), які є похідними вищезгаданих сполук у різних кількостях.

Таблиця 1.8 – Порівняльний аналіз складових поживних середовищ, що використовуються в дослідженнях з біологічного вилуговування, для культивування ацидофільних хемолітотрофів

| Поживне середовище | (NH ₄) ₂ SO ₄ (г/л) | MgSO ₄ ·7H ₂ O (г/л) | KH ₂ PO ₄ (г/л) | KCl (г/л) | Ca(NO ₃) ₂ ·H ₂ O (г/л) |
|--------------------|--|---|--|--------------|--|
| 9K | 3,0 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 0,01 |
| T&K | 0,4 | 0,4 | 0,4 | - | - |
| ES | 0,2 | 0,4 | 0,1 | 0,1 | - |
| Leathen | 0,15 | 0,5 | 0,1 | 0,05 | 0,05 |
| Norris | 0,2 | 0,2 | 0,2 | - | - |

Примітка. Посилання: 9K [157]; T&K [158]; ES [159]; Leathen [160]; Norris [161].

Серед них найбільш цитованим і широко використаним є середовище 9K [157]. Одним з основних недоліків рідкого середовища 9K є можливе осадження фосфатів, калію та амонію у вигляді ярозитів через їх високі концентрації у середовищі [162].

При дослідженні впливу поживних середовищ для ацидофільних хемолітотрофів з використанням п'яти різних рецептур на біовилуговування

концентрату сульфїду металу змішаною культурою спостерїгали значно вищі екстракції металів (Zn, Cu та Fe) у середовищі 9К, ніж у середовищі Норріса [161]. Концентрація розчинених металів в інших трьох середовищах виявилась нижчою, ніж у середовищі Норріса [159].

Мінімальна концентрація солей у рідкому середовищі необхідна для підтримання бажаного рівня бактеріальної активності. Проте, можуть застосовуватися модифіковані поживні середовища 9К в залежності від особливостей культивування певних культур. Наприклад, при культивуванні бактерії *Sulfobacillus*, враховуючи її міксотрофний тип харчування, доречно додавати органічне джерело живлення (табл. 1.9) [163].

Таблиця 1.9 – Склад середовищ для виявлення ацидофільних хемолітотрофних бактерій

| Мінеральні компоненти | Концентрація мінеральних компонентів у поживних середовищах, г/л | |
|---|--|------------------------------|
| | 9К для <i>Acidithiobacillus</i> | 9К* для <i>Sulfobacillus</i> |
| NH ₄ (SO ₄) ₂ | 3,0 | 0,45 |
| KCl | 0,1 | 0,05 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,5 | |
| KH ₂ PO ₄ | - | 0,05 |
| MgSO ₄ | 0,5 | 0,5 |
| Ca(NO ₃) ₂ | 0,01 | 0,014 |
| Na ₂ SO ₄ | - | 0,15 |
| Екстракт дріжджів | - | 0,20 |
| Джерело енергії | | |
| Na ₂ S ₂ O ₃ | 5,0 | - |
| S ⁰ | 2,0 | - |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 44,5 | 30,0 |

Примітка. 9К* – модифіковане середовище 9К [163]

Слід відзначити, що більшість європейських лабораторій застосовує рекомендації DSMZ (Німецька колекція мікроорганізмів і клітинних культур GmbH <https://www.dsmz.de/>) для виготовлення поживних середовищ і особливостей культивування мікроорганізмів. Зокрема, для культивування залізоокислюючих ацидофілів на рідких і твердих середовищах використовують DSMZ Medium 882.

1.6.5. Значення рН і окислювально-відновного потенціалу (Eh) в процесі біологічного вилугування

Окислювально-відновний потенціал і рН безпосередньо впливають на мікробіологічну активність, розчинність металів і утворення осадових шарів, таких як ярозит [164]. Руди та тверді відходи часто містять кислотоспоживаючі

мінерали з високим вмістом натрію, калію, кальцію і магнію, що активно нейтралізують кислоту. Тому, при використанні ацидофілів ці високоактивні мінерали підвищують рН і пригнічують активність ацидофільних мікроорганізмів. Таким чином, рекомендується оптимізація рН [58, 165]. Оптимальний діапазон рН залежить від типів мікроорганізмів, що використовуються для біовилуговування (табл. 1.5). З метою уникнення низького виходу розчинення, рекомендується підтримувати рН на оптимальному рівні шляхом додавання сірчаної кислоти [165].

Окислювально-відновний потенціал вказує на активність ацидофільних мікроорганізмів і потік іонів від металовмісного матеріалу до середовища вилуговування [58], [133]. Визначено, що окислювально-відновний потенціал більш ніж 600 мВ є хорошим індикатором високого вмісту Fe^{3+} для *A. ferrooxidans* [166]. Іншими дослідженнями показано, що під час ацидофільного біовилуговування окислювально-відновний потенціал вище 400 мВ свідчить про високу концентрацію Fe^{3+} і високий ріст бактерій [62]. У роботі [167] приводяться дані про 100% розчинення урану з низькоякісної уранової руди з використанням *A. ferrooxidans*, коли окислювально-відновний потенціал становив 550 мВ.

Дослідження процесів вилуговування (гідрометалургії) міді за умов високого окислювально-відновного потенціалу (600 мВ) показали, що швидкість вилучення міді становила лише 12,7 %, в той час, коли за умов низького окислювально-відновного потенціалу (420 мВ) швидкість вилуговування міді збільшувалась до 60,9 % [168]. При біологічному вилуговуванні зв'язок між швидкістю вивільнення міді з Eh не демонструє чіткої тенденції [169]. Так, в експериментах з біовилуговування халькопіриту із застосуванням одиночних та змішаних культур бактерій та архей в діапазоні температур від 30° до 70°С протягом від 17 до 42 днів максимальне вилучення міді було отримано в більш широкому діапазоні Eh від 508 до 746 мВ [58]. Також, в експериментах з *A. ferrooxidans* визначено, що окислення заліза(II) можливо лише при окислювально-відновних потенціалах до +850 мВ, тоді як у *L. ferrooxidans* окислення заліза(II) може відбуватися при окислювально-відновних потенціалах до +950 мВ. Це може бути пов'язано з тим, що інгібуюча концентрація іонів заліза(III) для *A. ferrooxidans* є набагато нижчою (3,1 мМ), ніж для *L. ferrooxidans* (42,8 мМ) [141, 168]. Крім того, встановлено, що *L. ferrooxidans* має значно нижчу швидкість окислення та росту на іонах заліза(II), ніж *A. ferrooxidans* [170]. Така адаптація до високих окислювально-відновних потенціалів є досить неефективною з точки зору збереження енергії, проте, надає змогу пояснити домінування штамів *Leptospirillum*, виявлених в процесі біовилуговування [168].

1.6.6. Концентрація твердої фази

Концентрація твердої речовини вважається одним з найважливіших параметрів оптимізації процесу біологічного вилуговування [171]-[173]. Як й

інші параметри, різна щільність пульпи може впливати на ефективність вилуговування різних металів.

Концентрація твердої фази виражається через густину пульпи (% w/v, тобто % мас./об.). Низька концентрація твердої речовини (< 1%) забезпечує ефективне розчинення як для біовилуговування ацидофілами, так і для біовилуговування мікроскопічними грибами; однак це збільшує вартість експлуатації при великомасштабному застосуванні [61], [174]. Висока концентрація твердої речовини може спричиняти значний буферний ефект, тому для підтримання рН на сприятливому рівні під час біологічного вилуговування в культуру рекомендується додавати кислоту [165].

Проте, в експериментах з біовилуговування міді з халькопіритів з використанням більш високих концентрацій твердої речовини, а саме 1, 2 та 4 % (w/v) [175], 2, 5 і 15 % (w/v) [176], і 5, 10 і 20 % (w/v) [177], [178], визначено, що вилучення міді з халькопіриту має тенденцію до збільшення зі збільшенням щільності пульпи.

Безумовно, особливий інтерес представляє процес біологічного вилуговування при високих концентраціях твердих речовин через економічність процесу. Однак існують певні практичні обмеження щодо збільшення щільності пульпи [175], і робоча щільність пульпи часто обмежується пороговим рівнем 20 % твердих речовин за вагою в промисловій практиці біоокислення у резервуарах з перемішуванням [178].

Слід зазначити, що важливими факторами, окрім щільності пульпи, які суттєво впливають на ефективність розчинення міді з халькопіриту, визначені такі, як концентрація загального заліза (Fe), а також іонів Fe(II) і Fe(III), розмір частинок мінералу, рН середовища вилуговування і концентрація початкового інокуляту мікроорганізмів, особливо їх якісний склад і застосування змішаних культур [150], [175]-[178].

1.6.7. Гранулометричний склад та розмір частинок

Розмір частинок є важливим параметром для біологічного вилуговування з точки зору як впливу на ефективність вилуговування, так і визначення методу промислового застосування [32], [179]. Зі зменшенням розміру частинок збільшується доступна площа поверхні. Збільшення доступної площі поверхні забезпечує більш високий вихід біовилуговування і підвищує взаємодію мікроорганізмів з рудою/відходами [170], [178]. Однак, ступінь необхідного зменшення розміру частинок має практичне значення. Повне вивільнення цінних мінералів може бути не обов'язковим, враховуючи коштовний процес подрібнення, особливо до дрібнодисперсного стану.

Частинки під час біовилуговування можна класифікувати як дрібні та крупні. Дрібні частинки мають розмір менше 1 мм, а крупні – від 1 мм до більше ніж 25 мм залежно від типу методу вилуговування, що використовується: 1-10 мм (чанове вилуговування), 10-25 мм (купове вилуговування) і більше ніж 25 мм

(відвальне вилуговування) [54], [64]. Дрібні частинки мають вищий потенціал для закупорки, але цьому можна запобігти, використовуючи методи кислотної агломерації [2]. Крім того, дрібні частинки можуть мати сильніший буферний ефект. Більші розміри частинок можуть зменшити буферність, але також можуть призвести до зниження швидкості розчинення та більш тривалого періоду експлуатації через обмежений масообмін [60].

Дослідження впливу розміру частинок (>150 мкм, 76-50 мкм і <50 мкм) халькопіриту в експерименті з біовилуговування міді вказує на більшу ефективність саме дрібнодисперсної фракції (<50 мкм), в якій зафіксовано максимальне (82%) біорозчинення металу при застосуванні штаму роду *Sulfolobus* за умов рН 1,8, щільності пульпи 20 % і температурі 70°C [177]. Отримані результати корелювали з % міді, наявного в даній фракції, що становило 0,32%, тоді як у випадку крупних (>150 мкм) і середніх (76-50 мкм) частинок відсотки розчинення металу становили 0,17 % і 0,29 % відповідно [177]. Це також можна пояснити кращим проникненням вилуговувача для окислення сульфідів міді, присутнього в руді, і збільшенням площі поверхні [65]. Більш дрібні частинки дедалі все більше піддаються впливу вилуговувача, який розчиняє мідь із халькопіритової фази [43], [154]. Більше того, концентрація іонів заліза, окислених бактеріями, що беруть участь у біохімічному розчиненні металів, була набагато вищою у випадку вилуговування частинок дрібнодисперсної фракції (<50 мкм), ніж у випадку більш великих (>150 мкм) і середніх (76-50 мкм) частинок. Найнижчий рівень вилучення міді, а саме 67 % і 70 %, було зафіксовано для більш великих (>150 мкм) і середніх (76-50 мкм) частинок халькопіриту [177].

1.6.8. Толерантність мікроорганізмів до хлоридів

Більшість низькосортних руд містять попутні мінерали з аніонами, такими як хлорид і сульфат, які розчинюються і концентруються в технологічних водах. Розчинення попутних мінералів і високі темпи випаровування в жарких регіонах часто призводять до утворення солоних і солонуватих технологічних вод [180], що ще більше ускладнює проблему у разі повторного використання води у технологічній схемі виробництва. Біовилуговування широко застосовується до ряду сульфідних руд, які не можуть бути економічно використані традиційними методами [107], [181], [182]. Однак ефективність біовилуговування знижується в присутності солоної та солонуватої води, оскільки ацидофільні мікроорганізми зазвичай не переносять високий вміст солей, особливо аніонів хлориду [180], [183], [184]. Аніони хлориду (і сульфату) накопичуються і викликають підкислення цитоплазми мікробної клітини завдяки позитивному мембранному потенціалу [127], [185]-[187]. Позитивний заряд знижує рушійну силу протонів, змушуючи протони проникати в клітину та порушувати гомеостаз рН, що приводить до закислення цитоплазми і загибелі клітини [187]. Більшість мікроорганізмів використовують підхід «висолювання», коли внутрішній

осмотичний тиск збільшується шляхом накопичення або синтезу власних розчинених речовин для запобігання висиханню клітини [188], [189]. Так, *A. ferrooxidans* і *A. thiooxidans* використовують пролін і бетаїн як осмопротектори, які є поширеними розчинниками, що використовуються мікробами для підтримання осмотичного тиску всередині клітин [190]. Встановлено ферменти, що беруть участь у біосинтезі проліну. Вони експресуються в більших концентраціях, коли клітини *A. caldus* піддаються NaCl-стресовому впливу [191]. На додаток до захисту клітин від висихання, можливо, ці розчинники також відіграють роль у захисті білків від денатурації в солоному середовищі [192]. Виділено штам сіркоокислюючого *A. thiooxidans*, який потребує для росту NaCl і здатний переносити 20 г/л NaCl при рН 4. Однак найбільш перспективними ацидофільними і галотолерантними мікроорганізмами, виявленими на сьогоднішній день, є штами *Acidihalobacter prosperus*, які можуть окислювати як двовалентне залізо, так і сірку при рН 2,5 [193], [194]. Крім того, вони можуть окислювати двовалентне залізо з тією ж швидкістю, що й *A. ferrooxidans*, коли їм надається у якості джерела енергії відновлена сірка [193]. Штам *A. prosperus* V6 також може успішно біологічно вилуговувати мідь з руди, яка складається приблизно з 50 % CuFeS_2 , у солоному розчині (5 % w/v NaCl) в колонному ректорі при 35 °C [195].

Відома група галотолерантних видів, філогенетично споріднених з *Alicyclobacillus* spp. і виділених з морських відкладень. Вони найкраще окислюють залізо(II) у присутності 1 % NaCl [196]. Виявлено галофільні ізоляти з морського середовища, які потребують присутності хлориду натрію для росту і можуть окислювати залізо(II)- та/або RISC. Один з них (штам SH) здатний окислювати неорганічні сполуки сірки і дуже тісно пов'язаний з *A. thiooxidans* [192]. *Halothiobacillus* spp. є справжніми галофілами, які можуть окислювати RISC, але поєднання високої солоності та низького рН (високої кислотності) є надто серйозним викликом для бактеріальної фізіології [197]. Вони віддають перевагу рН >6 для росту, що є дещо вищим, ніж було б доречно у процесах біологічного вилучення металів.

При дослідженні можливостей адаптації до присутності хлоридів для змішаної мезофільної культури визначено, що такі можливості є обмеженими [181], [185]. Помірна концентрація NaCl у значеннях 0,7 % зменшувала реплікацію клітин на 50%, а при тривалому впливі такої концентрації значної адаптації або звикання культури не спостерігалось. Проте, пошуки галотолерантних видів продовжується [191], [195], [196], [198].

Вважається, що формування біоплівки на поверхні сульфідного мінералу, зокрема піриту (FeS_2), в присутності NaCl може відігравати більш важливу роль для реакцій на сольовий стрес, ніж для біовилуговування [199]. Це пов'язано з тим, що зростання у вигляді біоплівки можна вважати механізмом реакції на стрес, тому що ріст біоплівки дозволяє бактеріям збільшувати проліферацію, сприяти виживанню і розмноженню клітин [96].

В цілому, використання хлоридотолерантних штамів ацидофілів, що окислюють мінерали, разом із заходами щодо контролю концентрації хлоридів

на рівнях, нижчих за інгібуючий, може сприяти розвитку промислового біовидобування корисних копалин із солоних або солонуватих вод [184].

1.6.9. Токсичність іонів металів при біовилуговуванні сульфідних мінералів у кислотному середовищі

Мікроорганізмам, які використовуються в процесах біологічного вилуговування, властива стійкість до токсичної дії іонів металів, що розчиняються та вивільняються з руди/концентрату в середовище вилуговування. При цьому, певні концентрації деяких елементів у розчині можуть мати токсичний вплив на мікробів. Токсичність може проявитися як зниження здатності бактерій завершувати окислення субстрату. Різні штами бактерій виявляють різну чутливість до токсикантів.

Показано, що бактерія *A. ferrooxidans* здатна окислювати двовалентне залізо у присутності високих концентрацій (10 г/л) Zn, Ni, Cu, Co, Mn і Al, тоді як Ag та аніони Te, As і Se мають інгібуючий вплив на залізоокислювальну активність бактерій у концентраціях не більше 50-100 мг/л [200]. Тому, адаптація бактеріальних видів до певного середовища має важливе значення для пом'якшення інгібуючої дії іонів токсичних металів або підвищення концентрації металів, що вилуговуються. З даною метою створюються, наприклад, спеціально адаптовані штами *A. ferrooxidans* з толерантністю до металів; здатні здійснювати вилуговування при концентраціях міді та нікелю більш ніж 50 г/л [201].

В роботі [202] досліджено вплив максимальних концентрацій токсикантів, що відображає рівні толерантності для *A. ferrooxidans*. Результати показали, що чисті культури аборигенних *A. ferrooxidans* витримують високі концентрації Zn^{2+} на рівні близько 30 г/л, але мають меншу толерантність до Cd^{2+} і Co^{2+} (10 г/л і 110 ppm відповідно). Визначено наступний порядок токсичності для *A. ferrooxidans*: $Co^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}$. На підставі отриманих даних автори рекомендують використовувати виділені *A. ferrooxidans* для біовилуговування хвостосховищ з високим вмістом цинку та відносним меншим вмістом Cd і Co [202].

В іншій роботі [203] досліджено здатність *A. ferrooxidans* до адаптації впливу як окремих іонів металів Ni, Co, V, Mo, W, так і суміші перших чотирьох іонів. Встановлено, що *A. ferrooxidans* може переносити до 2,3 г/л нікелю, 1,4 г/л кобальту, 1,4 г/л ванадію, 0,045 г/л молібдену та 0,005 г/л вольфраму. У присутності мультиметалів, враховуючи суміш Ni-Co-V-Mo, бактерії були здатні переносити до 1,5 г/л нікелю, 0,8 г/л кобальту, 0,8 г/л ванадію та 0,05 г/л молібдену з кроком 50-100 мг/л для Ni, Co та V, тоді як для Mo та W з кроком збільшення концентрації 1-5 ppm, що пояснюється високою токсичністю цих двох металів для бактерій. При цьому, адаптацію бактеріального штаму проводили в періодичних культурах шляхом безперервного вирощування бактерій у середовищі, що містить зростаючі концентрації токсичного металу, таким чином, щоб культура, толерантна до токсичного металу, проліферувала. За такими показниками, як рН, Eh, концентрація клітин бактерій у розчині, а також

їхня стійкість до важких металів і концентрацій двовалентного та тривалентного заліза, визначено, що різні концентрації нікелю, кобальту і ванадію мали незначний вплив на окислення двовалентного заліза або ріст клітин *A. ferrooxidans*, тоді як іони молібдену і вольфраму сильно пригнічують здатність *A. ferrooxidans* окислювати Fe^{2+} [203].

1.7. Прикладне застосування мікробних процесів у гірничовидобувній промисловості

1.7.1. Біовилуговування золота

Вилучення золота з сульфідних тугоплавких золотих руд становить значну проблему через дрібне вкраплення та зчеплення золота з супутніми сульфідними мінералами. Так, у багатих миш'яком золотих концентратах частинки золота укладені в сульфідні мінерали, включаючи арсенопірит ($FeAsS$), пірит (FeS_2), реальгар (As_2S_2) і орпімент (As_2S_3) [204]. Традиційне ціанідне вилуговування в таких випадках неефективне, що спонукає до пошуку альтернативних методів, включаючи окислення під тиском, випалювання та біовилуговування [22], [29], [72], [205]. Особливо перспективним є біологічне вилуговування, при якому використовуються мікроорганізми для посилення біоокислення сульфідів і полегшення вилуговування. Зокрема, цей підхід дозволяє ефективно вилучати золото з хвостосховищ і низькосортних сульфідних руд, переробка яких традиційними методами є економічно недоцільною [30].

У процесі біовилуговування бактерії розщеплюють сульфідні мінерали шляхом окислювального розчинення. При цьому відбувається розчинення двовалентного заліза (Fe^{2+}), а золото потім легше піддається впливу ціанідного розчину [179]. Біоокислення є економічно вигідним і ефективним способом вилучення золота з тугоплавких руд [77].

Ряд пілотних досліджень продемонстрували, що біоокислення можна використовувати для видобутку золота [173], [206]-[208]. Показано збільшення вилучення золота на 75 % завдяки частковому бактеріальному окисленню сульфідних мінералів, зокрема арсенопіриту із застосуванням бактерій *A. ferrooxidans* [209].

Перший комерційний біогідрометалургійний процес видобутку золота в світі, запатентований як процес $BioX^{\circledR}$ (біоокислення), що включає попередню обробку тугоплавкого золотовмісного арсенопіриту, був розроблений компанією Gencor SA Ltd (нині BHP Billiton) в 1986 році на руднику Fairview у Південній Африці. Реактори $BioX^{\circledR}$ для біоокислення тугоплавкого золота на золотовидобувній шахті Fairview показані на рис. 1.5. Показано, що процес $BioX^{\circledR}$ збільшує вилучення золота до 95% [210], залежно від мінералогії та вмісту золота в кожній руді. Завод спочатку переробляв 10 т руди на день, пізніше був розширений до переробки 40 т на день з часом перебування у біореакторі 4 дні та рівнем вилучення 94 %.



Рис. 1.5 – Реактори Biox® для біоокислення тугоплавкого золота на золотовидобувній шахті Fairview (Барбертон, Південна Африка)

Інший біогідрометалургійний процес, який відбувається при температурах більш вищих, ніж у процесі Biox®, був розроблений і впроваджений у виробництво австралійською компанією Vastech на підставі технології Vasox™ (технологія бактеріального окислення) [172]. У 2001 році Vastech і Mintek побудували ще один завод з біологічного вилуговування на платному очисному заводі BioGold, розташованому поблизу міста Лайчжоу у провінції Шаньдун (КНР). Обидва ці заводи залишаються в експлуатації до сьогоднішнього дня [208]. Процеси Biox® і Vasox™ здійснюються в аерованих реакторах з перемішуванням [210], які є альтернативою процесам купового вилуговування.

Типова установка Biox® працює при концентрації твердої речовини 20 % і тривалості перебування близько чотирьох днів. Технологія Vastech подібна до Biox®, але працює при 50°C з використанням помірно термофільних бактерій [210].

Біоокислювальне купове вилуговування використовується компанією Newmont Gold Company в штаті Невада, США. Компанія Geobiotics Inc. побудувала демонстраційну установку в Південній Дакоті, США, яка базувалася на використанні відвалів вміщуючих порід, покритих рудним концентратом [211]. Було показано, що біоокислення руди за технологією Geobiotics збільшує вилучення золота від 55 % до 74 %. Однак вилучення металів шляхом біоокислення цілісних руд призводить до незначної економії [207], [211], [212].

Процес біоокислення має як переваги, так і недоліки, які впливають на його економічну привабливість. Переваги включають економічну доцільність над альтернативними методами, безпечність процесу щодо токсичності рідких відходів або газів, простоту експлуатації та ін. [75]. Проте, процеси біоокислення вимагають тривалих періодів вилуговування, починаючи від кількох днів у резервуарах з перемішуванням і закінчуючи місяцями при куповому вилуговуванні. Крім того, вони виявляють чутливість до якості води, особливо

щодо ціанідів і тіоціанатів, і можуть вимагати високих витрат на електроенергію та нейтралізацію [75].

Важливо відзначити, що біовилуговування сульфідних золотовмісних мінералів служить процесом попередньої обробки, спеціально розробленим для вивільнення заблокованих частинок золота і підготовки до таких операцій. У цьому контексті кислотні залишки біовилуговування, отримані в результаті біовилуговування, повинні пройти лужну обробку перед процесом ціанування [72], [213]. Наявність попереднього біовилуговування значно підвищує ефективність вилучення золота до більш ніж 95 %. За відсутності попереднього біовилуговування коефіцієнт вилучення золота може становити лише 6 % і ніколи не буде перевищувати 40 % [76], [173], [208].

Для процесу біоокислення, спрямованого на оптимальне вилучення золота, перевага надається резервуарам з перемішуванням великого об'єму, причому не одному, а серії реакторів, послідовно з'єднаних між собою [173]. Біовилуговування в резервуарах дозволяє контролювати такі фактори, як температура, аерація та рН. Такий підхід забезпечує вилучення базових мінералів перед золотом, що підкреслює важливість оптимізації конструкції резервуарних реакторів для біоокислення тугоплавких руд [173], [208].

У таблиці 1.10 наведено короткий опис процесів біологічного вилуговування золота з тугоплавких руд, а також технологій, які широко використовуються [59].

Таблиця 1.10 – Промислове біовилуговування золота з руд (Maaz and Quasir 2023)

| Країна | Район видобутку | Технологія | Об'єм видобутку (т/добу) |
|--------------|-----------------------|----------------------|--------------------------|
| Австралія | Beaconfield, Tasmania | BacTech Bacox™ | 70 |
| | Harbour Lights | Tank leaching; Biox® | 40 |
| | Wiluna | Tank leaching; Biox® | 158 |
| | Perseverance | Tank leaching | 126 |
| | Fosterville | BacTech Bacox™ | 211 |
| | Youanmi | Tank leaching | 120 |
| США | Carlin | Heap leaching | 10 |
| Бразилія | Sao Bento | Tank leaching; Biox® | 150 |
| Канада | Au Bridge | Tank leaching | 75 |
| Чилі | Laizhou | Tank leaching | 100 |
| | Jinfeng | Tank leaching; Biox® | 790 |
| Півд. Африка | Fairview | Tank leaching; Biox® | 62 |
| Узбекистан | Kokpatas | Tank leaching | 1069 |
| | Amantaytau | Tank leaching | 1158 |
| Уганда | Beaconsfield | Tank leaching | 68 |
| Казахстан | Suzdal | Tank leaching; Biox® | 175 |
| Гана | Bogoso | Tank leaching; Biox® | 211 |
| | Ashanti-Sansu, Obusai | Tank leaching; Biox® | 960 |
| Перу | Tamboraque | Tank leaching | 60 |

Найбільший у світі завод з біологічного вилуговування, розташований в Узбекистані, має переробну потужність приблизно 2163 т на добу для вилучення золота з металевих руд (піриту та арсенопіриту).

Пізніше було добавлено додатковий реактор з біоокислення для підвищення загальної продуктивності [214].

Дослідження показують, що капітальні витрати, пов'язані з установкою та експлуатацією установок біоокислення, на 50% менші, ніж традиційні методи попередньої обробки, такі як виплавка та рафінування [173], [213]. Таке зниження витрат пояснюється простотою біоокислювальних установок і меншою кількістю необхідних операцій порівняно з традиційними процесами.

Крім того, поєднання процесів біоокислення та біоціанування має потенціал для подальшого зниження капітальних витрат [72], [76], [208].

1.7.2. Біовилуговування міді

У 2006 році компанія BHP Billiton оголосила про запуск проекту біологічного вилуговування в Чилі з прогнозованою річною потужністю 180 тис. – 200 тис. т катодної міді. Для біовилуговування планувалось використовувати бідні сульфідні руди (хвостосховища), які накопичились та планувалось накопичити у результаті експлуатації кар'єрів Escondida та Escondida Norte загальним об'ємом 1,134 млрд. т із середнім вмістом міді 0,52%. На додаток до цієї низькоякісної сульфідної руди, Escondida Norte мала оцінений ймовірний запас 117 млн. т оксидної руди із середнім вмістом розчинної міді 0,77%, яку також планувалось переробляти за допомогою технології сульфідного вилуговування [171].

Згідно з проектом, сировина низькосортної руди повинна складатися на спроектовану площадку, розташовану на північний схід від кар'єру Escondida та на південний схід від майбутнього кар'єру Escondida Norte. Існуючі запаси Escondida, що містять 100 млн. т низькосортного сульфідного матеріалу також повинні бути повторно оброблені та розміщені на площадці вилуговування. На відміну від інших операцій з вилуговування у відвалах, цей майданчик вилуговування повинен бути герметично вкритий, а процес вилуговування буде відбуватися за допомогою впорскування повітря для контролю окислення сульфідів.

Загальний вид інженерного майданчика для купового біологічного вилуговування міді з халькопіриту родовища Escondida в Чилі представлено на рис. 1.6 [215]. Відвал шахти Escondida, представлений на рис. 1.6 вважається найбільшим «біореактором» у світі [150]. Загальна площа майданчика вилуговування становить приблизно 107 м², а руда укладається 18-метровими підйомниками до запланованої кінцевої висоти 125 м. З іншого боку, технологія також застосовується для невеликих родовищ в екстремальних кліматичних умовах, де майданчики для вилуговування менші, наприклад, 20-60×103 м², а висота підйомів нижча (3-10 м).



Рис. 1.6 –Купове біовилуговування міді (родовище Escondida, Чилі)

Прикладами є купове вилуговування міді на краю Великої Піщаної пустелі на північному заході Австралії [120, 150], купове вилуговування нікелю/міді в субарктичних умовах [216] або вилуговування міді в тропіках [217]. Типова норма поливу на квадратний метр поверхні знаходяться в діапазоні 5-10 л/рік [150]. На рис. 1.7 представлено інженерну мережу для зрошення поверхні відвалу при біовилуговуванні міді з халькопіриту родовища Escondida [150].

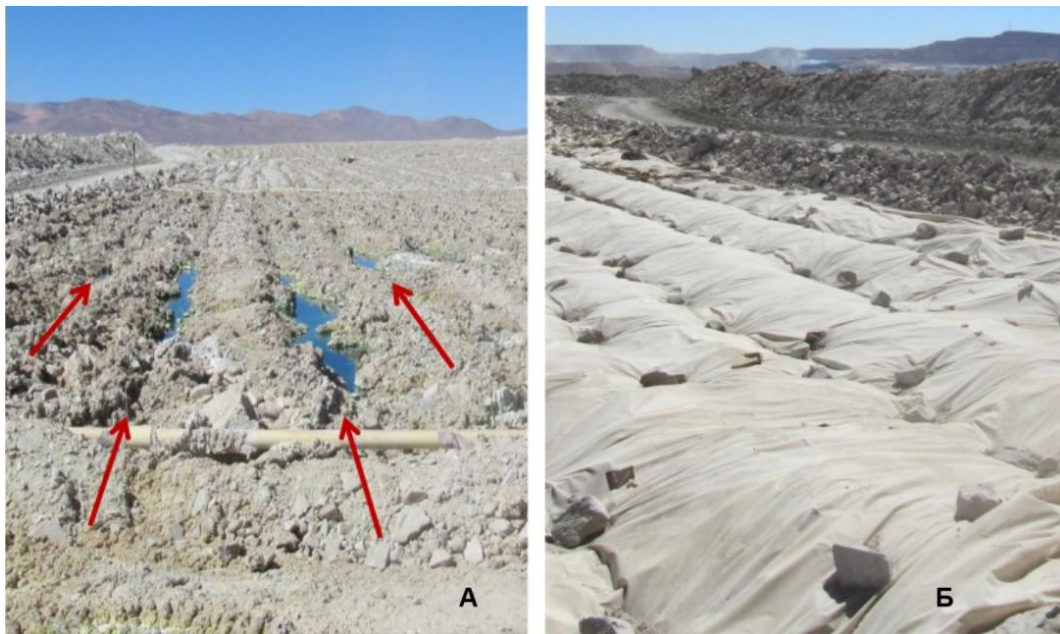


Рис. 1.7 – Відвал шахтного біологічного вилуговування в Escondida, Чилі [150]: (А) поверхня зі зрошувальними лініями і (Б) накриття для утримання тепла і вологи. Стрілки вказують на розподіл і напрямок зрошувальних ліній, про що також свідчать утворення поверхневих ставків.

При куповому вилуговуванні міді з подрібненого матеріалу хвостосховищ мідних рудників утворюють великі купи площею до кількох квадратних кілометрів і висотою від 6 до 10 метрів. Розчин сірчаної кислоти, названий рафінатом, розбризкують за допомогою системи крапельних ліній на вершині відвалу (рис. 1.8) [218]. Коли розчин просочується вниз через купу, він збагачується міддю, розчиненою з руди, утворюючи насичений розчин вилуговування. Потім цей розчин збирається біля основи купи за допомогою протифільтраційного покриття і перекачується на електролізну екстракційну установку, яка виробляє катодну мідь з чистотою 99,99 %. Залишковий розчин потім повертається у вигляді рафінату на верхню частину відвалу. Схема технології купового біовилуговуванні міді представлена на рис. 1.8 [218].

Наступним рівнем розвитку технології ВНР Billiton щодо біовилуговування стало використання біореакторів та продуктів флотації не тільки сульфідів міді, але й нікелю та цинку:

- BioCOP™ – процес окислення і вилуговування сульфідів міді у резервуарі з перемішуванням [214], [219];

- BioNIC™ – процес окислення і вилуговування сульфідів нікелю у резервуарі з перемішуванням [220];

BioZINC™ – процес окислення і вилуговування сульфідів цинку у резервуарі з перемішуванням [221]-[223].

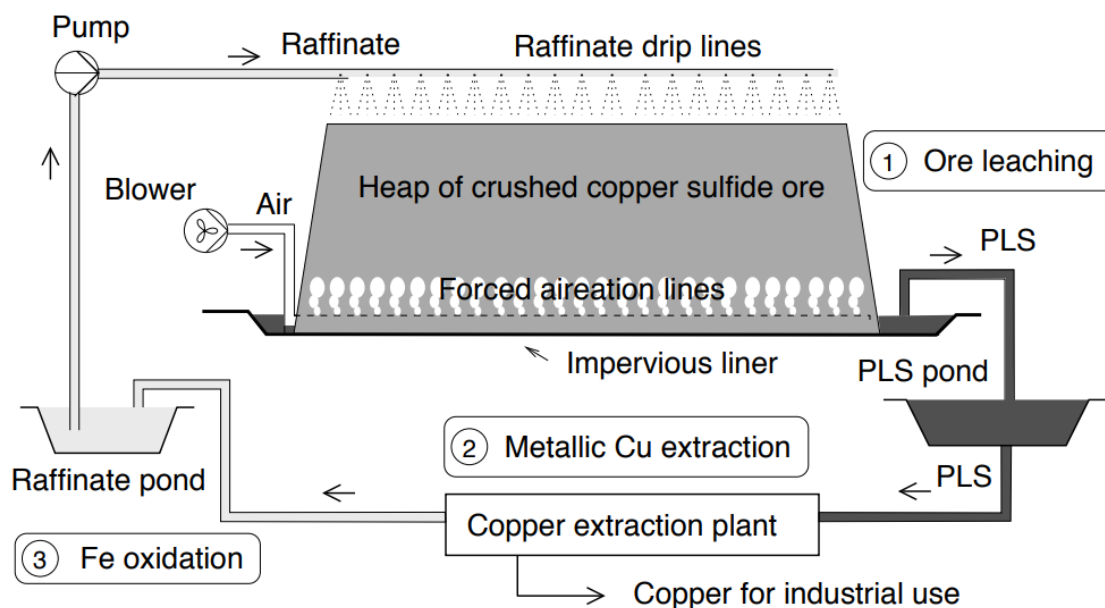


Рис. 1.8 – Процес купового біовилуговуванні міді згідно з технологією ВНР Billiton [218]: 1 – вилуговування руди; Heap of crushed copper sulfide ore – відвал подрібненої мідно-сульфідної руди; Forced aeration lines – лінії примусової аерації; Air – повітря; Blower – повітродувка; Raffinate pond – ставок рафінату; Pump – насос; Raffinate drip lines – крапельні лінії рафінату; PLS – насичений розчин вилуговування; PLS pond – ставок з насиченим розчином вилуговування; 2 – Видобуток металевої міді; Copper extraction plant – мідноекстракційний завод; Copper for industrial use – мідь для промислового використання; Fe oxidation – окислення заліза.

ВНР Billiton та Codelco у рамках спільного підприємства Alliance Copper Ltd. побудували демонстраційний завод у Чукікамата на півночі Чилі, який виробляв 20 тис. т катодної міді на рік, починаючи з 2003 року, використовуючи запатентований процес BioCOP™ компанії Billiton. Однією з цілей проекту було переробка «брудних концентратів», тобто тих, що містять високий вміст миш'яку (енаргіт, Cu_3AsS_4), які не бажано переробляти шляхом виплавки з екологічних міркувань.

VasTech Enviromet Corp. спільно з Mintek, розробили запатентовані технології високотемпературного вилуговування мідних концентратів. Працюючи спільно з Industrias Penoles SA de CV, однією з найбільших і найрізноманітніших гірничодобувних компаній Мексики, вони протягом 2001 року експлуатували демонстраційну установку біологічного вилуговування мідного концентрату потужністю 2,2 млн. т на добу в резервуарі з мішалкою в Монтерреї, Мексика. Наприкінці 2002 р. планувалось розширити виробництво до 25 тис. т катодної міді на рік.

У 1999 році компанія Kasese Cobalt в Уганді започаткувала проект з повторної обробки відкладених піритних хвостів шляхом біовилуговування з річним виробництвом кобальту 1 тис. т [224].

При куповому біовилуговуванні ацидофільні екстремофіли, що розвиваються в таких умовах, сприяють підвищеному вилученню металу з мінеральних сульфідів шляхом окислення Fe(II) та/або відновлених неорганічних сполук сірки (елементарна сірка, мінеральні сульфіди та ін.). Дані бактерії пристосовуються до достатньо високих концентрацій металів (Cu, Ni, Co, Zn, As). Коливання температур в сульфідних відвалах становлять найбільшу загрозу для ефективної бактеріальної колонізації. Великі маси руди у відвалах біологічного вилуговування означають, що високі температури, які виникають внаслідок окислення сульфідів, важко контролювати на початковому етапі, коли вміст сульфідів у руді є найбільшим. У цей період мезофільні та помірно термофільні бактерії помітно знижують свою чисельність та активність [150].

1.7.3. Біовилуговування урану

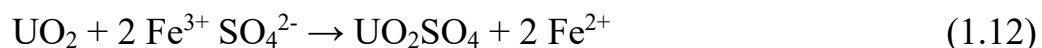
Тривале виснаження високоякісних уранових руд і зростання обізнаності щодо екологічних проблем, пов'язаних з традиційними методами, стало поштовхом до вивчення відносно простих, ефективних і менш забруднюючих біологічних методів видобутку та збагачення урану [225]-[227]. Уран може бути відновлений певними мікроорганізмами, які можуть каталізувати розчинення уранової руди [228], [229]. Наприклад, біологічний спосіб вилуговування урану з природних джерел було застосовано до урановмісних руд в районах Daejeon і Okcheon у Південній Кореї. Кількість урану в цих родовищах оцінюється в понад 100 млн т, а середній вміст U_3O_8 становить менше ніж 0,1 % за вагою [230].

Уран зустрічається в земній корі переважно у вигляді оксидних і силікатних мінералів, а також у фосфатних породах в асоціації з багатьма різними металами. Найпоширенішим мінералом економічного значення є ураніт, в ідеалі UO_2 , який зустрічається в різних геологічних умовах. З більш ніж 200 мінералів, що містять уран, лише приблизно 20 з них мають економічне значення [231]. Більшість з них перевірені на здатність до біовилуговування. Загальна формула вмісту урану в оксидних мінералах часто представлена як U_3O_8 (октооксид триурану). U_3O_8 є основним компонентом (70-90% мас./мас.) жовтого кеку, який є сумішшю гідроксиду уранілу ($UO_2(OH)_2 \cdot nH_2O$), уранілсульфату ($(UO_2)_x(SO_4)_y(OH)_2(x-y)$), п-уранату натрію ($Na_6U_7O_{24}$), пероксиду уранілу (UO_4), триоксиду урану (UO_3) і незначних кількостей інших оксидів урану [232]. Жовтий кек – це стабільна хімічна і фізична форма урану, з якою працюють уранові заводи і збагачувальні фабрики.

Уран зазвичай тонко розсіяний у рудних тілах, що робить вилуговування найбільш поширеним процесом для його вилучення замість збагачення руди для виробництва концентрату. Багато уранових руд, що переробляються методом біологічного вилуговування, містять значну кількість піриту та інших сульфідів заліза, які окислюються до кислого сульфату заліза. При гідролізі двовалентного заліза в розчинах біологічного вилуговування вивільнюються протони, які разом з біогенною сірчаною кислотою сприяють задоволенню потреби в кислоті.

Вилуговування U з низькоякісних руд і твердих відходів може здійснюватися хемоавтотрофними бактеріями, такими як *Acidithiobacillus ferrooxidans* [230], [233]. Здатність вилучати уран з розчину для вилуговування продемонстровано *Actinomyces* та іншими бактеріями. Сульфат- і залізівідновлювальні бактерії здатні ферментативно відновлювати U(VI) в анаеробних умовах [135], [234]. Проте, ці бактерії повинні конкурувати з бактеріями, які не беруть участь у відновленні U(VI), наприклад з метаногенними бактеріями.

Механізм вилучення урану, описаний як непряме окислення за участі *A. ferrooxidans*, відповідає наступним рівнянням [229]:



Уран малорозчинний у водному середовищі, коли він перебуває у ступені окислення +4. Однак, у кислому середовищі іон заліза(III) окислює U^{4+} до U^{6+} , який легко розчиняється. Як супутня реакція до окислення U^{4+} , іон заліза(III) відновлюється до іона заліза(II), і завдяки окиснювальній функції *A. ferrooxidans* він знову окислюється до стану Fe^{3+} , який потім здатний продовжувати окислювати U^{4+} до U^{6+} [230], [234]. Дійсно, в експерименті з біовилуговування південно-корейських уранових сланців за участі *A. ferrooxidans* кількість розчиненого урану зростала в міру окислення іонів Fe^{2+} , що вилуговуються зі сланцю. Так, найвища ефективність вилуговування урану зростала з 18 % за відсутності *A. ferrooxidans* до майже 80 % після внесення *A. ferrooxidans* [230]. Отримані результати свідчать про те, що при вилуговуванні урану з

низькосортної руди процес біологічного вилуговування перевершує хімічне вилуговування [227].

Бактерії *Clostridium* здатні відновлювати Fe(III) до Fe(II), Mn(IV) до Mn(II), U(VI) до U(IV), Pu(IV) до Pu(III) і Tc(VI) до Tc(IV) [235]. В анаеробних умовах (pH=6) комплекс урану з органічним лігандом (лимонною кислотою) відновлюється до уран(IV)-цитрату. Відновлений уран залишається в розчині у вигляді комплексу з лимонною кислотою. При цьому, вибір відповідного донора електронів (органічної сполуки) є важливим для біовідновлення та іммобілізації урану [235].

Серед процесів мікробного відновлення, які можуть визначати поведінку радіонуклідів у навколишньому середовищі, біосорбція урану та інших радіонуклідів має важливе стратегічне значення для біоремедіації [236]. Рентгенівський мікроаналіз свідчить про можливість зв'язування урану та торію з біомасою *Pseudomonas* шляхом витіснення клітинного калію через іонообмінний механізм, в якому важливу роль у зв'язуванні радіонуклідів відіграють карбоксильні групи [237].

Аналіз топографії клітин *A. ferrooxidans* ВМ1 до і після сорбції урану та торію за допомогою методу атомно-силового мікроскопа показав збільшення секреції позаклітинних полімерних речовин (EPS), що призводило до потовщення клітин і збільшення шорсткості поверхні. При цьому, склад EPS *A. ferrooxidans* ВМ1 виявився подібним до складу EPS, що секретується іншою бактерією роду *Pseudomonas* [238].

Найбільш стабільними формами урану при температурі навколишнього середовища є U_3O_8 і UO_2 . Однак UO_2 поступово переходить в U_3O_8 [231]. Біовідновлення U(VI) до U(IV) шляхом абіотичних і біотичних процесів істотно впливає на рухливість іонів урану в природному середовищі. Іони $[UO_2]^{2+}$ можуть бути ферментативно відновлені до UO_2 окрім *A. ferrooxidans* ще такими сульфатвідновлювальними бактеріями, як *Shewanella* [239], *Geobacter* [240] і *Desulfovibrio* [164]. Види *Shewanella* належать до відносно добре вивченої групи U(VI)-відновлювальних бактерій. Наприклад, *Shewanella putrefaciens* має складну систему перенесення електронів для відновлення іонів U(VI) [241]. Визначено, що після повного біовідновлення U(VI) бактерією *S. putrefaciens* наночастинки UO_2 розташовуються в периплазмі або позаклітинно [242]. Локалізація частинок UO_2 дозволяє припустити, що U(VI) може бути відновлений у периплазмі та експортований з клітини за допомогою активних або пасивних процесів. Швидкість відновлення U(VI) визначається геохімічними умовами, в яких відбувається відновлення U(VI), а також фізіологічним станом мікроорганізмів, що використовуються. Наприклад, присутність іонів Ca^{2+} може пригнічувати біовідновлення U(VI) [242]. Швидкість біовідновлення U(VI) також залежить від концентрації лактази, співвідношень кількості клітин до субстрату U(VI) і лактази, а також температури. Отримані дані результати свідчать про те, що обережна маніпуляція з додаванням донора електронів (лактази) може призвести до осадження UO_2 [242].

Іони урану можуть адсорбуватися також вуглецевими нанотрубками (пілями). Ізотерми адсорбції урану(VI), переважно іонів UO_2^{2+} та UO_2OH^+ на поверхні вуглецевих нанотрубок були представлені Schierz та Zanker [243]. Спостерігалось збільшення сорбції іонів урану з 18 ммоль/г до 193 ммоль/г при рН 5. Така поведінка зумовлена збільшенням кількості функціональних груп на модифікованій поверхні вуглецевих нанотрубок.

При дослідженні біовилуговування урану з низькосортної уранової руди з високим вмістом фтору у колонному реакторі з місцевим мезофільним консорціумом екстракція U становила 95,69%, включаючи кислотне попереднє вилуговування (65,53%) і біовилуговування (30,16%), протягом 124-денного періоду процесу вилуговування. Виявлено, що склад і різноманітність бактеріального співтовариства суттєво змінюються спочатку на етапі кислотного попереднього вилуговування і потім при біологічному вилуговуванні. Роди бактерій, що домінують в твердих зразках і включають *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Clostridium_sensu_stricto*, *Bacillus*, *Clostridium* XI, а також рід *Acidithiobacillus*, були повсюдно присутні в колоні для вилуговування, що сприяло вилученню урану [226], [244].

Таким чином, узагальнюючи усе вищенаведене, можна відзначити, що зростаючий глобальний попит на мінеральні ресурси в поєднанні з виснаженням родовищ з високим вмістом корисних копалин зумовлює необхідність переходу до переробки бідних руд [1], [245]. Водночас прагнення промисловості до мінімізації впливу на навколишнє середовище сприяє значному прогресу в застосуванні біотехнології [246], [247].

На сьогодні, біотехнологічні підходи охоплюють усі аспекти гірничовидобувної промисловості, від видобутку та збагачення корисних копалин до управління якістю навколишнього середовища [20], [48], [182]. Біовилуговування стало ключовим процесом у вилученні корисних копалин із низькосортних і відпрацьованих руд для промислового отримання міді, золота, урану, кобальту, цинку, нікелю та інших металів [45], [184], [249].

Біологічне вилуговування охоплює різні методи, в тому числі вилуговування у відвалах, біореакторах, купах і вилуговування на місці, адаптовані до конкретних типів і сортів мінералів [44], [248]. Купове вилуговування, особливо із залученням бактерій, виділяється як економічно ефективний метод вилучення міді з низькосортних вторинних сульфідних мінералів, таких як халькоцит і первинний міднорудний мінерал (халькопірит) [218]. Застосування купового біологічного вилуговування, особливо для халькопіриту, є перспективним для зменшення як витрат, так і впливу на навколишнє середовище, пов'язаного з виробництвом міді [56]. Застосування біореакторів виявилось корисною технологією для обробки тугоплавких руд/концентратів золота, що демонструє позитивні результати у вилученні золота за допомогою попередньої обробки біоокисленням [173]. При цьому, *Acidithiobacillus ferrooxidans* є широко застосовуваною бактерією для вилуговування сульфідних мінералів [133], [141], [250]. Успіх біологічного вилуговування залежить від таких важливих факторів, як концентрація бактерій, активність, ріст і швидкість реакцій біологічного

окислення, причому активність ацидофілів залежить від швидкості окислення і рівня рН/Eh [150], [178]. Окрім біовилуговування міді та золота, бактерії, що окислюють залізо та сірку, відіграють ключову роль у розчиненні металів із сульфідів, розвиваючись як автотрофні, гетеротрофні або міксотрофні мікроорганізми [99].

Отже, біотехнологія має багатогранне застосування у гірничовидобувній промисловості не тільки для видобутку і збагачення корисних копалин, але і заслужено поширює свій вплив на екологічний контроль при здійсненні гірничих робіт, вирішуючи в тому числі такі проблеми, як утворення шахтного кислотного дренажу, біосорбція важких металів зі стічних вод, біоремедиація земель тощо.

1.8. Дослідження процесу вилуговування сірки та міді з халькоциту (Cu_2S) за допомогою культури *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Відновлені сполуки сірки, такі як сірководень, сульфід металів, полісульфіди, тіосульфат, сульфід і навіть елементарна сірка, можуть служити донорами електронів і, таким чином, джерелом енергії для багатьох прокариотів. Такі хемолітотрофні організми об'єднували в так звані «безбарвні сірчані бактерії», групу організмів, яка пізніше виявилася надзвичайно гетерогенною з точки зору морфології та систематики. Безбарвні сірчані бактерії не є фототрофними організмами і використовують кисень, а в деяких випадках альтернативно нітрат, нітрит або Fe^{3+} , як акцептори електронів [86, 88, 90, 98]. Ще одна домінуюча риса — автотрофність, тобто здатність використовувати вуглекислий газ як єдине джерело вуглецю [80]. Хоча, деякі представники мають здатність до міксотрофного росту і використовують невеликі органічні сполуки для створення біомаси [78], [99], [149].

Рід *Acidithiobacillus* включає групу грамнегативних, полярних джгутикових, переважно аеробних бактерій, які здатні окислювати сірку, нерозчинні сульфідні та тіосульфат. Як і у більшості інших безбарвних сірчанних бактерій, кінцевим продуктом цих перетворень є сульфат або сірчана кислота. Остання може призвести до надзвичайного підкислення певних середовищ існування. Представники *Acidithiobacillus*, особливо *A. thiooxidans* і *A. ferrooxidans*, є ацидофільними і оптимально адаптованими до дуже низьких значень рН (рН 1-3). Додатковою особливістю *A. ferrooxidans* є здатність використовувати залізо(II) як донор електронів і окислювати його до тривалентного заліза [1], [78], [101].

Як здатність утворювати сірчану кислоту, так і здатність окислювати залізо(II) знаходять прикладне застосування [182]. У процесі біологічного вилуговування руд природні популяції ацидофільних окисників заліза і сірки (переважно *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*) використовуються для перетворення сульфідних руд на водорозчинні сульфати важких металів. Вилуговування низькосортних руд використовується для вилучення міді, цинку, молібдену, урану та ін. елементів [23]. У найпростішому випадку рідина (розчин сірчаної кислоти з ацидофільними мікроорганізмами)

циркулює через високі шари подрібненої рудоносної породи. Порода часто містить пірит (FeS_2) і пов'язані з ним сульфіди металів, такі як Cu_2S (халькоцит, мідний колчедан), CuS , ZnS , NiS , MoS_2 , Sb_2S_3 , CoS і PbS . З часом у фільтраті накопичуються сульфати потрібних металів через процеси окислення мікробіологічного та хімічного походження [78].

Сульфати можна виділити з фільтрату, наприклад, осадженням, як у випадку з міддю шляхом «цементації». Крім металу, що вилуговується, в розчині для вилуговування накопичуються сірчана кислота, зокрема іони заліза(II) та заліза(III). У той час як сірчана кислота забезпечує низьке значення рН, необхідне для росту *Acidithiobacillus*, іони заліза(III) відіграють важливу роль як окисник у процесі вилуговування руди. Іони заліза(III) окислюють сульфіди металів у суто хімічному процесі, утворюючи елементарну сірку або сульфат і розчинні іони металів. При цьому вони самі відновлюються до двовалентного заліза. Цей процес також відомий як «непряме вилуговування» і відіграє набагато важливішу роль, ніж суто мікробне вилуговування. Тим не менш, бактерії і тут відіграють вирішальну роль, оскільки (ре)окислення заліза(II) до заліза(III) в умовах високої кислотності можливе лише за допомогою мікроорганізмів [194].

Реакції, відповідальні за процес вилуговування руди, відбуваються всюди, де рудовмісна порода контактує з водою та киснем. Це також часто відбувається у хвостосховищах, що містять порожню породу, і на старих шахтах після закінчення гірничих робіт. «Кислотний дренаж шахти» є результатом такої неконтрольованої мікробної діяльності, що спричиняє значну екологічну проблему через вміст кислоти та важких металів.

Враховуючи високу здатність ацидофільних сіркобактерій до розчинення сульфідних мінералів, метою даної роботи було дослідити процес біовилуговування халькоциту. Це дозволить моделювати процес біовилуговування, який залежить від мікробного окислення заліза(II), а також визначати роль ацидофільних бактерій у спричиненні кислотного шахтного дренажу внаслідок своєї активності.

Об'єкти та методи досліджень. Для експериментів з біовилуговування використовували бактерію штаму *Acidithiobacillus ferrooxidans*, яку спочатку зрощували на елементарній сірці, а потім культивували у рідкому середовищі 882 (DSMZ Medium 882) з додаванням халькоциту. У якості контролю слугували абіотичні (без *A. ferrooxidans*) стерильні розчини води (рН=7) і культуральне середовище 882 (рН=2). Концентрацію розчиненої міді визначали колориметрично. Протягом експерименту вимірювали значення рН і окислювально-відновлювального потенціалу за допомогою багатопараметричного приладу WTW inoLab pH/ION/Cond 750.

Метод культивування A. ferrooxidans на елементарній сірці. Мікроорганізми вирощували в стерилізованих 500-мл-колбах Ерленмейера, заповнених середовищем, вказаним в табл. 1.11.

Таблиця 1.11 – Середовище для зростання *A. 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-метру. 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 таких зразків.

Метод вилуговування халькозиту (Cu_2S) за допомогою *A. ferrooxidans*. Бактерії вирощували в стерилізованих 500-мл-колбах Ерленмейєра, заповнених культуральним середовищем (табл. 1.12).

Таблиця 1.12 – 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-метру, 400 мкл зразка переносили в чисту 1,5-мл-пробірку Еппендорф і зберігали

в морозильній камері (-20°C) для подальшого колориметричного визначення розчиненої з халькоциту міді.

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 діцилогексанона) – 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:

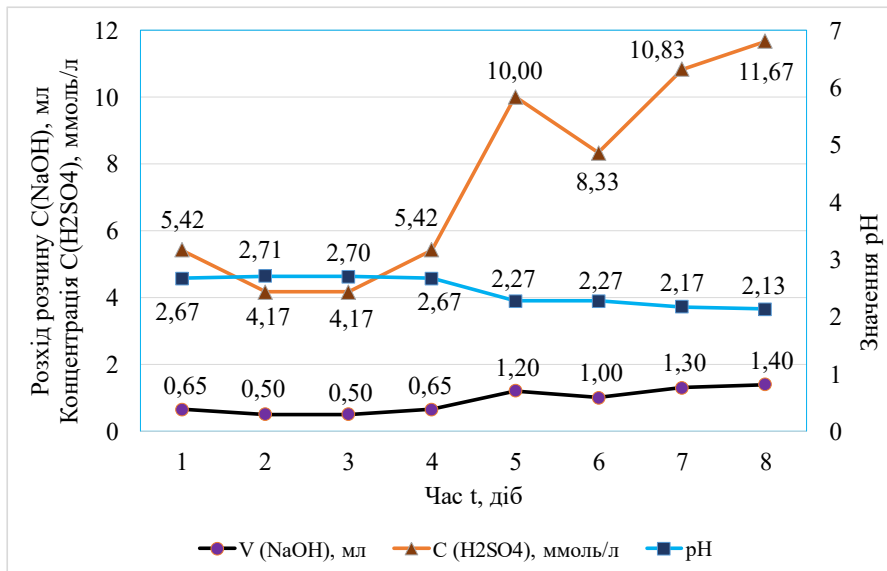
$$\text{Cu}^{2+} [\text{ммоль л}^{-1}] = 0,0607 \cdot A_{595} - 0,0004.$$

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

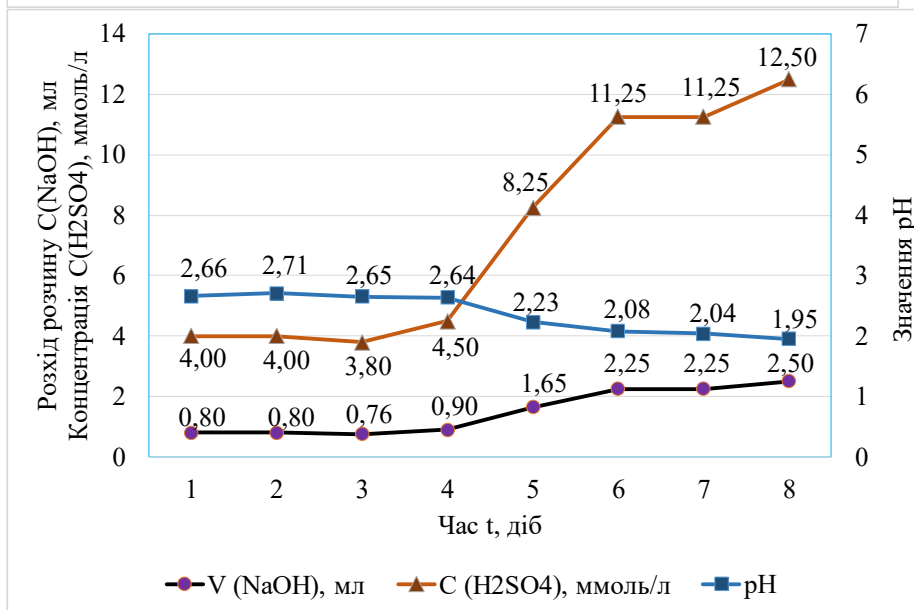
Результати дослідження. Експерименти щодо біопоглинання та біовилуговування важких металів в культуральних середовищах з бактеріями *A. ferrooxidans* виконувались у трьох повторностях. Встановлено, що розвиток бактерій *A. ferrooxidans* середовищі з елементарною сіркою в експерименті з плином часу спостерігалася зміна рівня рН, зміна витрати NaOH і концентрації сірчаної кислоти, що показано на рис. 1.9.

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. 1.10.

а)



б)



в)

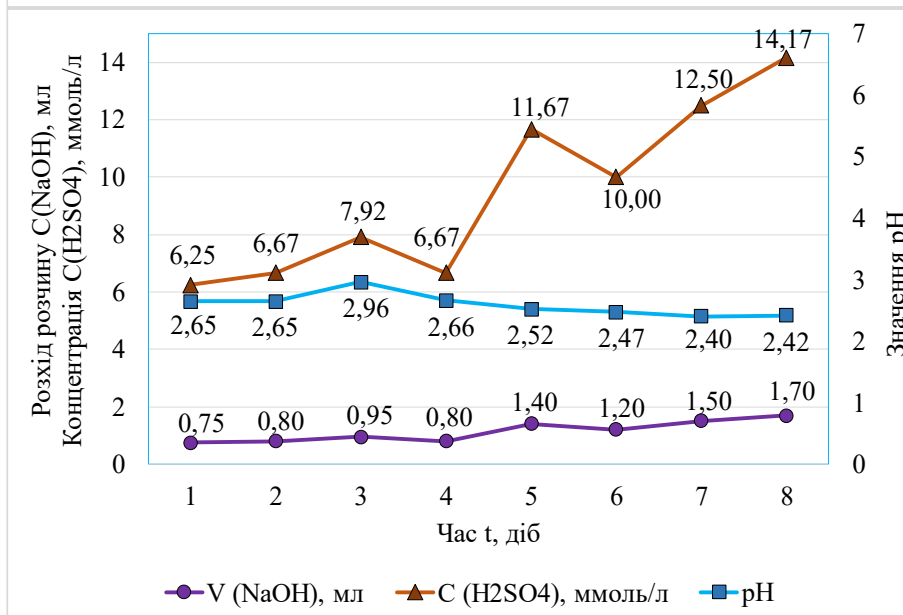


Рис. 1.9. Результати вилуговування сірки з порід (S^{2-}) бактеріями *Acidithiobacillus ferrooxidans*: а) експеримент 1; б) експеримент 2; в) експеримент 3

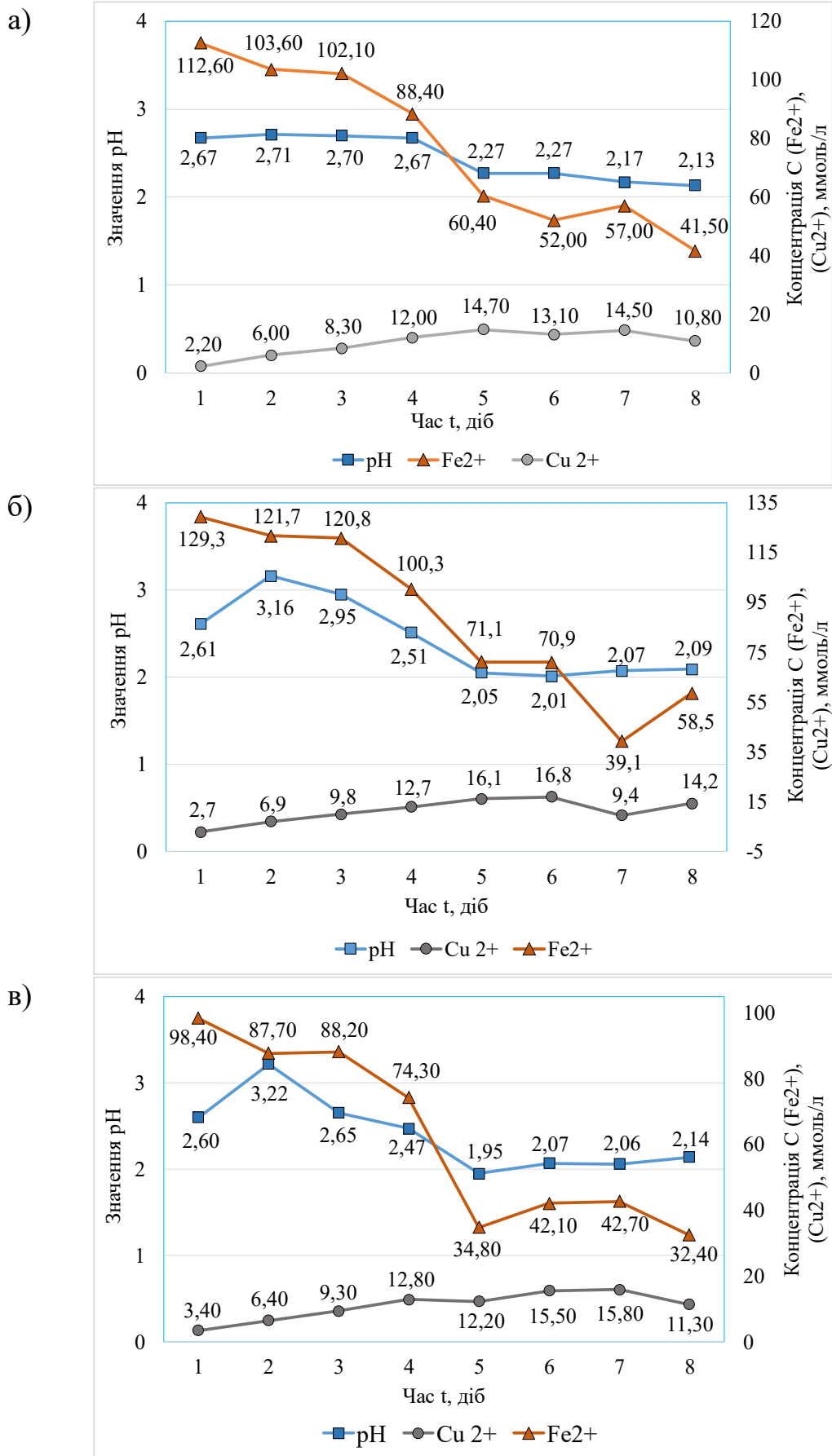


Рис. 1.10. Результати поглинання заліза (Fe²⁺) та вилугування міді (Cu²⁺) внаслідок активності бактерій *Acidithiobacillus ferrooxidans*: а) експеримент 1; б) експеримент 2; в) експеримент 3

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. 1.10.

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.

Таким чином, представлені результати дослідження свідчать про ефективність процесів біовилуговування важких металів з субстратів, що базуються на явищі кислотного шахтного дренажу внаслідок активності ацидофільних бактерій. Проаналізовано хімічні процеси кислотного шахтного дренажу в гірських породах.

Встановлено, що під час зростання бактерій *A. ferrooxidans* на елементарній сірці в експерименті з плином часу спостерігалася 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.

Перелік літературних джерел до розділу 1

1. Johnson D. Barrie (2014). Biomining – biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. *Current Opinion in Biotechnology*, 30: 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.04.008>.

2. Srichandan H., Mohapatra R.K., Parhi P.K. and Mishra S. (2019). Bioleaching approach for extraction of metal values from secondary solid wastes: a critical review. *Hydrometallurgy*, 189: 105122. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2019.105122>.

3. Mikoda B., Potysz A. and Kmiecik E. (2019). Bacterial leaching of critical metal values from Polish copper metallurgical slags using *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Journal of Environmental Management*, 236: 436-445. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.032>.
4. Santomartino R., Zea L. and Cockell C.S. (2022). The smallest space miners: principles of space biomining. *Extremophiles*, 26:7. <https://doi.org/10.1007/s00792-021-01253-w>.
5. Jerez C.A. (2017). Biomining of metals: how to access and exploit natural resource sustainably. *Microbial Biotechnology*, 10(5):1191-1193. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12792>.
6. Clark M.E., Batty J.D., van Buuren C.B., Dew D.W. and Eamon M.A. (2006). Biotechnology in minerals processing: Technological breakthroughs creating value. *Hydrometallurgy*, 83(1-4): 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.046>.
7. Cisternas L.A., Ordóñez J.I., Jeldres R.I. and Serna-Guerrero R. (2022). Toward the Implementation of Circular Economy Strategies: An Overview of the Current Situation in Mineral Processing. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 43(6): 775-797. <https://doi.org/10.1080/08827508.2021.1946690>.
8. Adewuyi S.O., Anani A. and Luxbacher K. (2024). Advancing sustainable and circular mining through solid-liquid recovery of mine tailings. *Process Safety and Environmental Protection*, 189: 31-46. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.06.086>.
9. Ikhajagbe B., Anoliefo G.O., Igiebor F.A. and Musa S.I. (2022). Enhancement of Bioprocesses for the Reclamation of Impacted Environment. Chapter in the book “Bioenergy and Environmental Biotechnology for Sustainable Development”. 24 pp. ISBN [9781003180289](https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.06.086).
10. Subbulakshmi G., Debbarma A., Sinha A. and Panda S. (2021). Bioremediation of xenobiotic compound: Reclamation approach for environmental sustainability – A review. *Materialstoday Proceedings*, 47(4): 1108-1113. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.07.144>.
11. Nkuna R., Ijoma G.N., Matambo T.S. and Chimwani N. (2022). Accessing Metals from Low-Grade Ores and the Environmental Impact Considerations: A Review of the Perspectives of Conventional versus Bioleaching Strategies. *Minerals*, 12(5): 506. <https://doi.org/10.3390/min12050506>.
12. Abbadi A. and Mucsi G. (2024). A review on complex utilization of mine tailings: Recovery of rare earth elements and residue valorization. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(3): 113118. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.113118>.
13. Schueler T.A., Schippers A. and Goldmann D. (2024). Bioleaching for metals removal from mine tailings flotation fractions. *Hydrometallurgy*, 225: 106286. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2024.106286>.
14. Arab B., Hassanpour F., Arshadi M., Yaghmaei S. and Hamedi J. (2020). Optimized bioleaching of copper by indigenous cyanogenic bacteria isolated from the landfill of e-waste. *Journal of Environmental Management*, 261: 110124. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110124>.
15. Ishfaq H.A., Banerjee A. and Qamar S. (2021). Bio-Desulfurization of Coal Using Biotechnological Approach, Making Coal a Less Harmful Fuel. Chapter in book “Clean Coal Technologies: Beneficiation, Utilization, Transport Phenomena and Prospective”, pp. 161-179. https://doi.org/10.1007/978-3-030-68502-7_7.
16. Çelik P.A., Aksoy D.Ö., Koca S., Koca H. and Çabuk A. (2019). The approach of biodesulfurization for clean coal technologies: a review. *International Journal of*

Environmental Science and Technology, 16: 2115-2132. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02232-7>.

17. Ojima Y., Kosako S., Kihara M., Miyoshi N., Igarashi K. and Azuma M. (2019). Recovering metals from aqueous solutions by biosorption onto phosphorylated dry baker's yeast. *Scientific Reports*, 9: 225. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36306-2>

18. Olawale S.A. (2020). Biosorption of heavy metals from aqueous solutions: an insight and review. *International Journal of Ground Sediment & Water*, 14: 835-891. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4957836>.

19. Syeda H.I., Sultan I., Razavi K.S. and Yap P.-S. (2022). Biosorption of heavy metals from aqueous solution by various chemically modified agricultural wastes: A review. *Journal of Water Process Engineering*, 46: 102446. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102446>

20. Asgari K., Huang Q., Khoshdast H. and Hassanzadeh A. (2022). A Review on Bioflotation of Coal and Minerals: Classification, Mechanisms, Challenges, and Future Perspectives. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 45(1): 46-76. <https://doi.org/10.1080/08827508.2022.2121919>.

21. Phong Vo H.N., Danaee S., Hai H.T.N., Huy L.N., Nguyen T.A.H., Nguyen H.T.M., Kuzhiumparambil U., Kim M., Nghiem L.D. and Ralph P.J. (2024). Biomining for sustainable recovery of rare earth elements from mining waste: A comprehensive review. *Science of The Total Environment*, 908: 168210. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168210>.

22. Askarova G., Shautenov M. and Nogaeva K. (2020). Flotation enrichment of resistant gold ores. *E3S Web of Conferences* 168: 00005. DOI:[10.1051/e3sconf/202016800005](https://doi.org/10.1051/e3sconf/202016800005)

23. Kara I.T., Kremser K., Wagland S.T. and Coulon F. (2023). Bioleaching metal-bearing wastes and by-products for resource recovery: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 21:3329-3350. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01611-4>.

24. Potysz A. and Kierczak J. (2019). Prospective (Bio)leaching of Historical Copper Slags as an Alternative to Their Disposal. *Minerals*, 9(9): 542. <https://doi.org/10.3390/min9090542>.

25. Yilmaz E., Koohestani B. and Cao S. (2023). Recent practices in mine tailings' recycling and reuse. Chapter 13. *Managing Mining and Minerals Processing Wastes: Concepts, Design and Applications*. Pages 271-304. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91283-9.00013-4>.

26. Can İ.B., Özsoy B. and Ergün Ş.L. (2019). Developing an optimum beneficiation route for a low-grade chromite ore. *Physicochem. Probl. Miner. Process.*, 55(4): 865-878. ISSN 1643-1049, <https://www.journalssystem.com/ppmp/>.

27. Norgate T. and Jahanshahi S. (2010). Low grade ores – Smelt, leach or concentrate? *Minerals Engineering*, 23(2):65-73. DOI:[10.1016/j.mineng.2009.10.002](https://doi.org/10.1016/j.mineng.2009.10.002).

28. Dudchenko N., Ponomar V., Ovsiienko V., Cherevko Y. and Perelshtein I. (2024). Mineral Magnetic Modification of Fine Iron Ore Tailings and Their Beneficiation in Alternating Magnetic Fields. *Metals*, 14(1): 26; <https://doi.org/10.3390/met14010026>.

29. Askarova G., Shautenov M. and Nogaeva K. (2020). Gravity enrichment of resistant gold-bearing ores. *E3S Web of Conferences* 168: 00004. DOI <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202016800004>.

30. Leikola M., Sauer C., Rintala L., Aromaa J. and Lundström M. (2020). Assessing similarities between gold ores, concentrates, and tailings with case-based reasoning. *Minerals Engineering*, 146: 106113. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2019.106113>.

31. Long H., Zhu D., Pan J., Li S., Yang C.C., Guo Z. and Xu X. (2024). A critical review on metallurgical recovery of iron from iron ore tailings. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(2): 112140. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.112140>.
32. Sarker S.K., Pownceby M.I., Bruckard W., Haque N., Bhuiyan M. and Pramanik B.K. (2023). Unlocking the potential of sulphide tailings: A comprehensive characterization study for critical mineral recovery. *Chemosphere*, 328: 138582. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138582>.
33. Hällström L.P.B., Alakangas L., Martinsson O. (2018). Geochemical characterization of W, Cu and F skarn tailings at Yxsjöberg, Sweden. *Journal of Geochemical Exploration*, 194: 266-279. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2018.09.001>.
34. Galjak J., Đokić J., Milentijević G., Dervišević I. and Jović S. (2020). Characterization of the tailing waste deposit “Gornje Polje”. *Optik*, 215: 164684. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2020.164684>.
35. He M. and Wang Q. (2023). Rock dynamics in deep mining. *International Journal of Mining Science and Technology*, 33(9): 1065-1082. <https://doi.org/10.1016/j.ijmst.2023.07.006>.
36. Chen S.-H. (2015). Rockfill Dams. In book: *Hydraulic Structures*, pp.593-642. DOI:[10.1007/978-3-662-47331-3_10](https://doi.org/10.1007/978-3-662-47331-3_10).
37. Dobiszewska M., Bagcal O., Beycioğlu A., Goulias D., Köksal F., Płomiński B. and Ürünveren H. (2023). Utilization of rock dust as cement replacement in cement composites: An alternative approach to sustainable mortar and concrete productions. *Journal of Building Engineering*, 69: 106180. <https://doi.org/10.1016/j.jobe.2023.106180>.
38. Ceniceros-Gómez A.E., Macías-Macías K.Y., Cruz-Moreno J.E., Gutiérrez-Ruiz M.E. and Martínez-Jardines L.G. (2018). Characterization of mining tailings in México for the possible recovery of strategic elements. *Journal of South American Earth Sciences*, 88: 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.jsames.2018.08.013>.
39. Panda S., Mishra S., Akcil A. and Van Hullebusch E.D. (2024). *Biotechnological Innovations in the Mineral-Metal Industry*: Springer Cham. ISBN: 9783031436246 DOI:[10.1007/978-3-031-43625-3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-43625-3).
40. Kinnunen P. and Hedrich S. (2023). Biotechnological strategies to recover value from waste. *Hydrometallurgy*, 222: 106182. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2023.106182>
41. Faramarzi M.A., Mogharabi-Manzari M. and Brandl H. (2020). Bioleaching of metals from wastes and low-grade sources by HCN-forming microorganisms. *Hydrometallurgy*, 191: 105228. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2019.105228>.
42. Wang X., Ma L., Wu J., Xiao Y., Tao J. and Liu X. (2020). Effective bioleaching of low-grade copper ores: Insights from microbial cross experiments. *Bioresource Technology*, 308: 123273. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123273>.
43. Ji G., Liao Y., Wu Y., Xi J. and Liu Q. (2022). A Review on the Research of Hydrometallurgical Leaching of Low-Grade Complex Chalcopyrite. *Journal of Sustainable Metallurgy*, 8: 964-977. <https://doi.org/10.1007/s40831-022-00561-5>.
44. Karimi M., Hosseini S.M.R. and Azimi E. (2024). A Review on the Heap Bioleaching of Copper from Low-Grade Fine Tailings. *Journal of Geomine*, 1(4): 150-158. DOI: <https://doi.org/10.22077/jgm.2024.7398.1023>.
45. Ahmadi A., Khezri M., Abdollahzadeh A.A. and Askari M. (2015). Bioleaching of copper, nickel and cobalt from the low grade sulfidic tailing of Golgohar Iron Mine, Iran. *Hydrometallurgy*, 15: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2015.03.006>.

46. Johnson D.B. and du Plessis C.A. (2015). Biomining in reverse gear: Using bacteria to extract metals from oxidised ores. *Minerals Engineering*, 75: 2-5. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2014.09.024>.
47. Xie S. (2024). Biosorption of heavy metal ions from contaminated wastewater: an eco-friendly approach. *Green chemistry letters and reviews*, 17(1): 2357213. <https://doi.org/10.1080/17518253.2024.2357213>.
48. Karnwal A. (2024). Unveiling the promise of biosorption for heavy metal removal from water sources. *Desalination and Water Treatment*, 319: 100523. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100523>.
49. Teng Q., Quanbao W., Yang Z. and Liu S. (2021). Evaluation of the biological flotation reagent obtained from *Paenibacillus amylolyticus* in magnetite and phlogopite flotation system. *Colloids and Surfaces: A Physicochemical and Engineering Aspects*, 610(10): 125930. DOI:[10.1016/j.colsurfa.2020.125930](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125930).
50. Li J. and Zhan K. (2018). Intelligent Mining Technology for an Underground Metal Mine Based on Unmanned Equipment. *Engineering*, 4(3): 381-391. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.05.013>.
51. Bhargava S.K., Pownceby M.I. and Ram R. (2016). Hydrometallurgy. *Metals*, 6(5): 122. <https://doi.org/10.3390/met6050122>.
52. Zhou W., Liu X., Lyu X., Gao W., Su H. and Li C. (2022). Extraction and separation of copper and iron from copper smelting slag: A review. *Journal of Cleaner Production*, 368: 133095. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.133095>.
53. Khair S., Shaikh F.U.A. and Sarker P.K. (2024). Copper heap leach residue aggregates in concrete: Properties and performance. *Case Studies in Construction Materials*, 20: e03212. <https://doi.org/10.1016/j.cscm.2024.e03212>.
54. Jia Y., Sun H., Tan Q., Xu J., Feng X. and Ruan R. (2021). Industrial Heap Bioleaching of Copper Sulfide Ore Started with Only Water Irrigation. *Minerals*, 11(11): 1299. <https://doi.org/10.3390/min11111299>.
55. Zhang Y., Li Q., Liu X., Yin H., Yang Y., Xu B., Jiang T. and Yinghe H. (2020). The catalytic effect of copper ion in the bioleaching of arsenopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in 9K culture medium. *Journal of Cleaner Production*, 256: 120391. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120391>.
56. Li J., Yang H., Tong L. and Sand W. (2021). Some Aspects of Industrial Heap Bioleaching Technology: From Basics to Practice. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 43(4): 510-528. <https://doi.org/10.1080/08827508.2021.1893720>.
57. Saim A.K. and Darteh F.K. (2024). A Comprehensive Review on Cobalt Bioleaching from Primary and Tailings Sources. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 45(5): <https://doi.org/10.1080/08827508.2023.2181346>.
58. Ríos D., Bellenberg S., Christel S., Lindblom P., Giroux T. and Dopson M. (2024). Potential of single and designed mixed cultures to enhance the bioleaching of chalcopyrite by oxidation-reduction potential control. *Hydrometallurgy*, 224: 106245. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2023.106245>.
59. Maaz A.A. and Quasir R. (2023). Biomining: a critical review of innovative biotechnology applications for sustainable resource extraction and environmental restoration. *International Journal of Engineering Sciences & Research Technology*, 12(12): 14-31. DOI: [10.5281/zenodo.10405922](https://doi.org/10.5281/zenodo.10405922).
60. Srichandan H., Mohapatra R.K., Singh P.K., Mishra S., Parhi P.K. and Naik K. (2020). Column bioleaching applications, process development, mechanism, parametric

effect and modelling: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 90: 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.07.012>.

61. Nascimento D.N.O., Reis L.A., Palmieri M.C., Carmo A.L.V., Silva P.M.P., Ferreira R.V.P., Junca E., Grillo F.F. and Alves J.O. (2019). Bioleaching for Copper Extraction of Marginal Ores from the Brazilian Amazon Region. *Metals*, 9(1): 81. <https://doi.org/10.3390/met9010081>.

62. Morin D.H.R. and d'Hugues P. (2007). Bioleaching of a Cobalt-Containing Pyrite in Stirred Reactors: a Case Study from Laboratory Scale to Industrial Application. In: Rawlings, D.E., Johnson, D.B. (eds) *Biomining*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34911-2_2.

63 EP 1 713 942 B1 (2006). Heap bioleaching process. <https://surl.li/iwpzsr>.

64. Korehi H., Blöthe M. and Schippers A. (2014). Microbial diversity at the moderate acidic stage in three different sulfidic mine tailings dumps generating acid mine drainage. *Research in Microbiology*, 165(9): 713-718. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.08.007>.

65. Hedrich S., Joulian C., Graupner T., Schippers A. and Guézennec A.-G. (2018). Enhanced chalcopyrite dissolution in stirred tank reactors by temperature increase during bioleaching. *Hydrometallurgy*, 179: 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2018.05.018>.

66. Zhang R. and Schippers A. (2022). Stirred-tank bioleaching of copper and cobalt from mine tailings in Chile. *Minerals Engineering*, 180: 107514. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2022.107514>.

67. Sadowski Z. and Szubert A. (2007). Comparison of kinetics of black shale bioleaching process using stationary and agitated systems. *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, 41(1): 387-395.

68. Oryngozhin Ye.S., Yeremin N.A., Metaxa G.P. and Alisheva Zh.N. (2020). Underground uranium borehole leaching // *NEWS of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan: Series of Geology and Technical Sciences*, 442(4): 62-69. ISSN 2224-5278. <https://doi.org/10.32014/2020.2518-170X.85>.

69. Sajjad W., Zheng G., Din G., Ma X., Rafiq M. and Xu W. (2019). Metals extraction from sulfide ores with microorganisms: the bioleaching technology and recent developments. *Transactions of the Indian Institute of Metals*, 72(3): 559-79. DOI:[10.1007/s12666-018-1516-4](https://doi.org/10.1007/s12666-018-1516-4).

70. Jandieri G., Sakhvadze D. and Schukin B. (2023). Underground Development of Mineral Subsoil Using Microorganisms: A Mini-Review. *Microbiological Journal*, 85(4): 66-71. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj85.04.066>.

71. Li G. and Yao J. (2024). A Review of In Situ Leaching (ISL) for Uranium Mining. *Mining*, 4(1): 120-148. <https://doi.org/10.3390/mining4010009>.

72. Nurjaman D.M., Titah H.S., Kawigraha A., Purwanti I.F. and Hidayat W. (2024). Optimization of adaptive and sustainable gold ore grinding processes for better environmental and land conditions in the small-scale gold mining sector in Indonesia. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 11(3): 5635-5646. DOI:[10.15243/jdmlm.2024.113.5635](https://doi.org/10.15243/jdmlm.2024.113.5635).

73. EP 3 034 635 A1: Aliasghar, Pourmand. Tank bioleaching of copper sulfide ores. *Bulletin* 2016/25.

74. Ehrlich H.L. (1999). Past, present and future of biohydrometallurgy. *Process Metallurgy*, 9: 3-12. [https://doi.org/10.1016/S1572-4409\(99\)80002-9](https://doi.org/10.1016/S1572-4409(99)80002-9).

75. Roberto F.F. and Schippers A. (2022). Progress in bioleaching: part B, applications of microbial processes by the minerals industries. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106: 5913-5928. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12085-9>

76. El-Midany A.A. and Ahmed H. (2012). Gold recovery from sulphide minerals: A bioprocessing approach. *Afinidad* Barcelona, 68: 62-68. <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/268363>
77. Schippers A., Hedrich S., Vasters J., Drobe M., Sand W. and Willscher S. (2014). Biomining: metal recovery from ores with microorganisms. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 141: 1-47. https://doi.org/10.1007/10_2013_216
78. Vera M., Schippers A., Hedrich S. and Sand W. (2022). Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of microbial metal sulfide oxidation – part A. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106: 6933-6952. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12168-7>
79. Rohwerder T., Gehrke T., Kinzler K. and Sand W. (2003). Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Applied Microbiological Biotechnology*, 63(3): 239-248. DOI: [10.1007/s00253-003-1448-7](https://doi.org/10.1007/s00253-003-1448-7)
80. Ishii T., Kawaichi S., Nakagawa H., Hashimoto K. and Nakamura R. (2015). From chemolithoautotrophs to electrolithoautotrophs: CO₂-fixation by Fe(II)-oxidizing bacteria coupled with direct uptake of electrons from solid electron sources. *Frontiers in Microbiology*, 6: 994. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00994>
81. Grundwell F.K. (2003). How Do Bacteria Interact with Minerals, *Hydrometallurgy*, 71(1-2): 75-81. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(03\)00175-0](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(03)00175-0)
82. Rawlings D.E. (2002). Heavy Metal Mining Using Microbes. *Annual Review of Microbiology*, 56: 65-91. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161052>
83. Malik L. and Hedrich S. (2022). Ferric Iron Reduction in Extreme Acidophiles. *Frontiers in Microbiology*, 12: 818414. DOI: [10.3389/fmicb.2021.818414](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.818414)
84. Marrero J., Coto O. and Schippers A. (2020). Metal bioleaching: fundamentals and geobiotechnical application of aerobic and anaerobic acidophiles. In: Lee NM (ed) *Biotechnological Applications of Extremophilic Microorganisms, Life in Extreme Environments*, 6th edn. De Gruyter, Berlin, Germany, pp. 261-288. <https://doi.org/10.1515/9783110424331-011>
85. Silverman M.P. and Ehrlich H.L. (1964). *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, New York, 153 p.
86. Reguera G., McCarthy K.D., Mehta T., Nicoll J.S., Tuominen M.T. and Lovley D.R. (2005). Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 435: 1098-1101. <https://doi.org/10.1038/nature03661>
87. Lovley D.R. (2017). Electrically conductive pili: Biological function and potential applications in electronics. *Current Opinion in Electrochemistry*, 4(1): 190-198. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2017.08.015>
88. Kato S. (2015). Biotechnological Aspects of Microbial Extracellular Electron Transfer. *Microbes and environments*, 30(2): 133-139. DOI: [10.1264/jsme2.ME15028](https://doi.org/10.1264/jsme2.ME15028)
89. Castelle C., Guiral M., Malarte G., Ledgham F., Leroy G., Brugna M. and Giudici-Ortoni M.T. (2008). A new iron-oxidizing/O₂-reducing supercomplex spanning both inner and outer membranes, isolated from the extreme acidophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Biological Chemistry*, 283: 25803-25811. DOI: [10.1074/jbc.M802496200](https://doi.org/10.1074/jbc.M802496200)
90. Shi L., Dong H., Reguera G., Beyenal H., Lu A., Liu J., Yu H.-Q. and Fredrickson J. (2016). Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals, *Nature Reviews Microbiology*, 14(10): 1038. DOI: [10.1038/nrmicro.2016.93](https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.93)

91. Rawlings D.E. and Johnson D.B. (2007). The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia. *Microbiology*, 153(2): 315-324. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/001206-0>
92. Sand W., Gehrke T., Jozsa P.-G. and Schippers A. (1999). Direct versus indirect bioleaching. *Process Metallurgy*, 9: 27-49. [https://doi.org/10.1016/S1572-4409\(99\)80004-2](https://doi.org/10.1016/S1572-4409(99)80004-2)
93. Canfield P.C. and Slade T.J. (2023). Single Crystal Growth of Synthetic Sulfide- and Phosphide-Based Minerals for Physical Measurements. *Minerals*, 13(3): 429. <https://doi.org/10.3390/min13030429>
94. Sand W. and Gehrke T. (2006). Extracellular polymeric substances mediate bioleaching / biocorrosion via interfacial processes involving iron (III) ions and acidophilic bacteria, *Res. Microbiol.*, 157(1): 49-56. DOI: [10.1016/j.resmic.2005.07.012](https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.07.012)
95. Yu R.L., Tan J.X., Yang P., Sun J., Ouyang X.J. and Dai Y.J. (2008). EPS-contact-leaching mechanisms of chalcopyrite concentrates by *A. ferrooxidans*. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 18: 1427-1432. DOI: [10.1016/S1003-6326\(09\)60020-0](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(09)60020-0)
96. Bellenberg S., Huynh D., Poetsch A., Sand W. and Vera M. (2019). Proteomics Reveal Enhanced Oxidative Stress Responses and Metabolic Adaptation in *Acidithiobacillus ferrooxidans* Biofilm Cells on Pyrite. *Frontiers in Microbiology*, 10: 592. DOI: [10.3389/fmicb.2019.00592](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00592)
97. Vargas-Straube M.J., Beard S., Norambuena R., Paradela A., Vera M. and Jerez C.A. (2020). High copper concentration reduces biofilm formation in *Acidithiobacillus ferrooxidans* by decreasing production of extracellular polymeric substances and its adherence to elemental sulfur. *Journal of Proteomics*, 225: 103874. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103874>
98. Jiang V., Khare S.D. and Banta S. (2021). Computational structure prediction provides a plausible mechanism for electron transfer by the outer membrane protein Cyc2 from *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Protein Science*, 30: 1640-1652. <https://doi.org/10.1002/pro.4106>
99. Hallberg K.B., González-Toril E. and Johnson D.B. (2010). *Acidithiobacillus ferrivorans*, sp. nov.; facultatively anaerobic, psychrotolerant iron-, and sulfur-oxidizing acidophiles isolated from metal mine-impacted environments. *Extremophiles*, 14(1): 9-19. DOI: [10.1007/s00792-009-0282-y](https://doi.org/10.1007/s00792-009-0282-y)
100. Li T.F., Painter R.G., Ban B. and Blake R.C. (2015). The Multicenter Aerobic Iron Respiratory Chain of *Acidithiobacillus ferrooxidans* Functions as an Ensemble with a Single Macroscopic Rate Constant. *Bioenergetics*, 290(30): 18293-18303. DOI: [10.1074/jbc.M115.657551](https://doi.org/10.1074/jbc.M115.657551)
101. Kucera J., Lochman J., Bouchal ., Pakostova E., Mikulasek K., Hedrich S., Janiczek O., Mandl M. and Johnson D.B. (2020). A Model of Aerobic and Anaerobic Metabolism of Hydrogen in the Extremophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Frontiers in Microbiology*, 11: 610836. DOI: [10.3389/fmicb.2020.610836](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.610836)
102. Johnson D. Barrie (2012). Reductive dissolution of minerals and selective recovery of metals using acidophilic iron- and sulfate-reducing acidophiles. *Hydrometallurgy*, 127-128: 172-177. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2012.07.015>
103. Jung H., Inaba Y. and Banta S. (2022). Genetic engineering of the acidophilic chemolithoautotroph *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Trends in Biotechnology*, 40: 677-692. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.10.004>
104. Zhan Y., Yang M., Zhang S., Zhao D., Duan J., Wang W. and Yan L. (2019). Iron and sulfur oxidation pathways of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35: 60. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2632-y>

105. Kaksonen A.H., Deng X., Morris C., Khaleque H.N., Zea L. and Gumulya Y. (2021). Potential of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to grow on and bioleach metals from Mars and lunar regolith simulants under simulated microgravity conditions. *Microorganisms*, 9: 2416. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122416>
106. Johnson D.B. and Quatrini R. (2020). Acidophile Microbiology in Space and Time. *Current Issues in Molecular Biology*, 39: 63-76. <https://doi.org/10.21775/cimb.039.063>.
107. Kay C.M., Haanela A. and Johnson D.B. (2014). Microorganisms in subterranean acidic waters within Europe's deepest metal mine. *Research in Microbiology*, 165(9): 705-712. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.007>
108. Abraitis P.K., Pattrick R.A.D. and Vaughan D.J. (2004). Variations in the compositional, textural and electrical properties of natural pyrite: a review. *International Journal of Mineral Processing*, 74(1-4): 41-59. <https://doi.org/10.1016/j.minpro.2003.09.002>
109. Balci N., Mayer B., Shanks W.C. and Mandernack K.W. (2012). Oxygen and sulfur isotope systematics of sulfate produced during abiotic and bacterial oxidation of sphalerite and elemental sulfur. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 77: 335-351. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.10.022>
110. Holmes P.R. and Crundwell F.K. (2000). The kinetics of the oxidation of pyrite by ferric ions and dissolved oxygen: an electrochemical study. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(2): 263-274. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(99\)00296-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(99)00296-3)
111. Thomas J.E., Skinner W.M. and Smart R.S.C. (2001). A mechanism to explain sudden changes in rates and products for pyrrhotite dissolution in acid solution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65: 1-12. DOI: [10.1016/S0016-7037\(00\)00503-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(00)00503-2)
112. Bao Z., Bain J., Saurette E., Finfrock Y.Z., Hu Y., Ptacek C.J. and Blowes D.W. (2022). Mineralogy-dependent sulfide oxidation *via* polysulfide and thiosulfate pathways during weathering of mixed-sulfide bearing mine waste rock. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 317: 523-537. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2021.10.012>
113. du Plessis C.A., Slabbert W., Hallberg K.B. and Johnson D.B. (2011). Ferredox: A biohydrometallurgical processing concept for limonitic nickel laterites. *Hydrometallurgy*, 109(3-4): 221-229. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.07.005>
114. Colmer A.R. and Hinkle M.E. (1947). The role of microorganisms in acid mine drainage: A preliminary report. *Science*, 106: 253-256. DOI: [10.1126/science.106.2751.253](https://doi.org/10.1126/science.106.2751.253)
115. Temple K.L. and Colmer A.R. (1951). The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Bacteriology*, 62(5): 605-611. [doi: 10.1128/jb.62.5.605-611.1951](https://doi.org/10.1128/jb.62.5.605-611.1951)
116. Gomes A.F.R., Sousa E. and Resende D. (2024). A Practical Toolkit for the Detection, Isolation, Quantification, and Characterization of Siderophores and Metallophores in Microorganisms. *ACS Omega*, 9: 26863-26877. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c03042>
117. Golzar-Ahmadi M., Bahaloo-Horeh N., Pourhossein F., Norouzi F., Schoenberger N., Hintersatz C., Chakankar M., Holuszko M. and Kaksonen A.H. (2024). Pathway to industrial application of heterotrophic organisms in critical metals recycling from e-waste. *Biotechnology Advances*, 77: 108438. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108438>
118. Mamo G. and Mattiasson B. (2020). *Alkaliphiles in Biotechnology*, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer International Publishing. [10.1007/978-3-030-49736-1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-49736-1)
119. Ramos-Zúñiga J., Gallardo S., Martínez-Bussenius C., Norambuena R., Navarro C.A., Paradela A. and Jerez C.A. (2019). Response of the biomining *Acidithiobacillus*

ferrooxidans to high cadmium concentrations. Journal of Proteomics, 198: 132-144. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.12.013>

120. Watling H.R., Watkin E.L.J. and Ralph D.E. (2010). The resilience and versatility of acidophiles that contribute to the bio-assisted extraction of metals from mineral sulphides. Extremophiles – a source of innovation for industrial and environmental applications. Part I. Environmental Technology, 31(8-9): 915-933. <https://doi.org/10.1080/09593331003646646>

121. Fu B., Zhou H., Zhang R., Qiu G. (2008). Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed cultures of *Acidithiobacillus* spp. and *Leptospirillum ferriphilum*. International Biodeterioration & Biodegradation, 62(2): 109-115. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.06.018>

122. Mikkelsen D., Kappler U., McEwan A. G. and Lindsay I.S. (2006). Archaeal diversity in two thermophilic chalcopyrite bioleaching reactors. Environmental Microbiology, 8(11): 2050-2056. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01115.x>

123. Castelle C.J., Roger M., Bauzan M., Brugna M., Lignon S., Nimtz M., Golyshina O.V., Giudici-Orticoni M.-T. and Guiral M. (2015). The aerobic respiratory chain of the acidophilic archaeon *Ferroplasma acidiphilum*: A membrane-bound complex oxidizing ferrous iron. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics, 1847(8): 717-728. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.04.006>

124. Craig B.-A., Potrykus J., Wexler M., Bond P. and Dopson M. (2010). Biofilm development in the extremely acidophilic archaeon '*Ferroplasma acidarmanus*' Fer1. Extremophiles : life under extreme conditions, 14(6): 485-491. DOI:[10.1007/s00792-010-0328-1](https://doi.org/10.1007/s00792-010-0328-1)

125. Amouric A., Brochier-Armanet C., Johnson D.B., Bonnefoy V. and Hallberg K.B. (2011). Phylogenetic and genetic variation among Fe(II)-oxidizing acidithiobacilli supports the view that these comprise multiple species with different ferrous iron oxidation pathways. Microbiology 157: 111-122. <https://doi.org/10.1099/mic.0.044537-0>

126. Christel S., Fridlund J., Watkin E.L. and Dopson M. (2016). *Acidithiobacillus ferrivorans* SS3 presents little RNA transcript response related to cold stress during growth at 8°C suggesting it is a eurypsychrophile. Extremophiles, 20(6): 903-913. DOI: [10.1007/s00792-016-0882-2](https://doi.org/10.1007/s00792-016-0882-2)

127. Issotta F., Moya-Beltrán A., Mena C., Covarrubias P.C., Thyssen C., Bellenberg S., Sand W., Quatrini R. and Vera M. (2018). Insights into the biology of acidophilic members of the *Acidiferrobacteraceae* family derived from comparative genomic analyses. Research in Microbiology, 169(10): 608-617. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.08.001>

128. González E., Vera F., Scott F., Guerrero C., Bolívar J.M., Aroca G., Muñoz J.Á., Ladero M. and Santos V.E. (2024). Acidophilic heterotrophs: basic aspects and technological applications. Frontiers in Microbiology, 15: 1374800. DOI: [10.3389/fmicb.2024.1374800](https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1374800)

129. Li L., Liu Z., Zhang M., Meng D., Liu X., Wang P., Li X., Jiang Z., Zhong S., Jiang C. and Yin H. (2020). Insights into the Metabolism and Evolution of the Genus *Acidiphilium*, a Typical Acidophile in Acid Mine Drainage. ASM Journals, 5(6). <https://doi.org/10.1128/msystems.00867-20>

130. Hiraishi A., Matsuzawa Y., Kanbe T. and Wakao N. (2000). *Acidisphaera rubrifaciens* gen. nov., sp. nov., an aerobic bacteriochlorophyll-containing bacterium isolated from acidic environments. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 4:1539-1546. DOI: [10.1099/00207713-50-4-1539](https://doi.org/10.1099/00207713-50-4-1539)

131. Breuker A. and Schippers A. (2024). Rates of iron(III) reduction coupled to elemental sulfur or tetrathionate oxidation by acidophilic microorganisms and detection of

sulfur intermediates. *Research in Microbiology*, 175(1-2): 104110. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104110>

132. Demir E.K., Yaman B.N., Çelik P.A. and Sahinkaya E. (2020). Iron oxidation in a ceramic membrane bioreactor using acidophilic bacteria isolated from an acid mine drainage. *Journal of Water Process Engineering*, 38: 101610. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101610>

133. Arias-Arce V., Lovera-Dávila D., Guerrero-Rojas J., Blas-Rodriguez F. and Molina-Pereyra I. (2023). Analysis of the Oxidation-Reduction Potential and Bacterial Population of *Acidithiobacillus ferrooxidans* during the Bioleaching Study of Sulfide Ores. *Environmental Sciences*. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.111815>

134. Stanković S. and Schippers A. (2024). Goethite dissolution by acidophilic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1360018. DOI: [10.3389/fmicb.2024.1360018](https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1360018)

135. Martins F.L. and Leão V.A. (2023). Chalcopyrite bioleaching in chloride media: A mini-review. *Hydrometallurgy*, 216: 105995. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2022.105995>

136. Khaleque H.N., Kaksonen A.H., Boxall N.J. and Watkin E.L.J. (2018). Chloride ion tolerance and pyrite bioleaching capabilities of pure and mixed halotolerant, acidophilic iron- and sulfur-oxidizing cultures. *Minerals Engineering*, 120: 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2018.02.025>

137. Jerez C.A. (2008). The use of genomics, proteomics and other OMICS technologies for the global understanding of biomining microorganisms. *Hydrometallurgy*, 94(1-4): 162-169. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2008.05.032>

138. Bonnefoy V. and Holmes D.S. (2012). Genomic insights into microbial iron oxidation and iron uptake strategies in extremely acidic environments. *Environmental Microbiology*, 14(7): 1597-611. DOI: [10.1111/j.1462-2920.2011.02626.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02626.x)

139. Ullrich S.R., Fuchs H. and Schloemann M. (2024). Shedding light on the electron transfer chain of a moderately acidophilic iron oxidizer: characterization of recombinant HiPIP-41, CytC-18 and CytC-78 derived from *Ferroplasma* sp. PN-J47-F6. *Research in Microbiology*, 175(1-2): 104088. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104088>

140. Bellenberg S., Leon-Morales C.-F., Sand W. and Vera M. (2012). Visualization of capsular polysaccharide induction in *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, 129-130: 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2012.09.002>

141. Saavedra A., Aguirre P. and Gentina J.C. (2020). Biooxidation of Iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the Presence of D-Galactose: Understanding Its Influence on the Production of EPS and Cell Tolerance to High Concentrations of Iron. *Frontiers in Microbiology*, 11: 759. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00759>

142. Li Q., Wang Q., Zhu J., Zhou S., Gan M., Jiang H. and Sand W. (2016). Effect of Extracellular Polymeric Substances on Surface Properties and Attachment Behavior of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Minerals*, 6(4): 100. <https://doi.org/10.3390/min6040100>

143. Jerez C.A. (2001). Chemotactic transduction in biomining microorganisms. *Hydrometallurgy*, 59(2-3): 347-356. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(00\)00177-8](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(00)00177-8)

144. Javed M.A., Neil W.C., McAdam G. and Wade S.A. (2017). Effect of sulphate-reducing bacteria on the microbiologically influenced corrosion of ten different metals using constant test conditions. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 125: 73-85. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.08.011>

145. Taylor E.S. and Lower S.K. (2008). Thickness and Surface Density of Extracellular Polymers on *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Applied and environmental microbiology*, 74(1): 309-311. DOI: [10.1128/AEM.01904-07](https://doi.org/10.1128/AEM.01904-07)

146. Aguirre P., Guerrero K., Sanchez-Rodriguez A., Gentina J. C. and Schippers A. (2018). Making sticky cells: effect of galactose and ferrous iron on the attachment of *Leptospirillum ferrooxidans* to mineral surfaces. *Research in Microbiology*, 169, 569-575. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.08.005>
147. Falagán C., Sbaffi T., Williams G.B., Bargiela R., Dew D.W. and Hudson-Edwards K.A. (2024). Nutrient optimization in bioleaching: are we overdosing? *Frontiers in Microbiology*, 15: 1359991. DOI: [10.3389/fmicb.2024.1359991](https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1359991)
148. Haghshenas D.F., Bonakdarpour B., Alamdari E.K. . and Nasernejad B. (2012). Optimization of physicochemical parameters for bioleaching of sphalerite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* using shaking bioreactors. *Hydrometallurgy*, 111-112: 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.09.010>
149. Leahy M.J., Schwarz M. P. and Davidson M.R. (2006). An air sparging CFD model for heap bioleaching of chalcocite. *Applied Mathematical Modelling*, 30(11): 1428-1444. <https://doi.org/10.1016/j.apm.2006.03.008>
150. Watling H.R., Shiers D.W. and Collinson D.M. (2015). Extremophiles in Mineral Sulphide Heaps: Some Bacterial Responses to Variable Temperature, Acidity and Solution Composition. *Microorganisms*, 3(3): 364-390. <https://doi.org/10.3390/microorganisms3030364>.
151. Watling H.R., Perrot F.A. and Shiers D.W. (2008). Comparison of selected characteristics of *Sulfobacillus* species and review of their occurrence in acidic and bioleaching environments. *Hydrometallurgy*, 93: 57-65.
152. Imperio T., Viti C. and Marri L. (2008). *Alicyclobacillus pohliae* sp. nov., a thermophilic, endospore-forming bacterium isolated from geothermal soil of the north-west slope of Mount Melbourne (Antarctica). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58: 221-225.
153. Meshkini M., Shabani M., Irannajad M. and Azadmehr A.R. (2023). Bioleaching of copper oxide ore by *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Minerals Metallurgy and Materials*, 20(12): 1130-1133. DOI: [10.1007/s12613-013-0845-x](https://doi.org/10.1007/s12613-013-0845-x)
154. Peng T., Liao W., Wang J., Miao J., Peng Y., Gu G., Wu X., Qiu G. and Zeng W. (2021). Bioleaching and Electrochemical Behavior of Chalcopyrite by a Mixed Culture at Low Temperature. *Frontiers in Microbiology*, 12: 663757. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663757>
155. Wang L., Yin S., Wu A. and Chen W. (2020). Synergetic bioleaching of copper sulfides using mixed microorganisms and its community structure succession. *Journal of Cleaner Production*, 245: 118689. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118689>
156. Hooper A.B. and DiSpirito A.A. (2013). Bioenergetics Theory and Components | Chemolithotrophy. *Encyclopedia of Biological Chemistry III (Third Edition)*, 2: 23-30. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819460-7.00531-4>
157. Silverman M.P. and Lundgren D.G. (1959). Studies on the Chemolithotrophic Iron Bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*: I. An Improved Medium and Harvesting Procedure for Securing High Cell Yields. *Journal of Bacteriology*, 77: 642-677. DOI: [10.1128/jb.77.5.642-647.1959](https://doi.org/10.1128/jb.77.5.642-647.1959)
158. Tuovinen O.H. and Kelly D.P. (1973). Studies on the Growth of *Thiobacillus ferrooxidans*: I. Use of Membrane Filters and Ferrous Iron Agar to Determine Viable Numbers and Comparison with CO₂ Fixation and Iron Oxidation as Measure of Growth. *Arch. Microbiology*, 88: 285-298.

159. Gomez C., Blazquez M.L. and Ballester A. (1999). Bioleaching of a Spanish Complex Sulphide Ore-Bulk Concentrate. *Minerals Engineering*, 12 (1): 93-106. [https://doi.org/10.1016/S0892-6875\(98\)00122-8](https://doi.org/10.1016/S0892-6875(98)00122-8)
160. Leathen W., Kinsel N.A. and Braley I.A. (1956). *Ferrobacillus ferrooxidans*: A Chemosynthetic Autotrophic Bacterium. *Journal of Bacteriology*, 72: 700-704. <https://doi.org/10.1128/jb.72.5.700-704.1956>
161. Norris P.R. and Barr D.W. (1985). Growth and Iron Oxidation by Acidophilic Thermophiles. *FEMS Microbiology Letters*, 28(3): 221-224. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1985.tb00795.x>
162. Nancucheo I., Rowe O.F., Hedrich S. and Johnson D.B. (2016). Solid and liquid media for isolating and cultivating acidophilic and acid-tolerant sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 363(10): fnw083, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw083>
163. Blayda I.A. (2014). Composition and Activity of Bacterial Community of Coal Tailing. *Biotechnologia ACTA*, 7(5): 94-100. DOI: [10.15407/biotech7.05.094](https://doi.org/10.15407/biotech7.05.094)
164. Zhao B., Chen X., Chen H., Zhang L., Li J., Guo Y., Liu H., Zhou Z., Ke P. and Sun Z. (2023). Biomineralization of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans* A3-21ZLL under various hydrochemical conditions. *Environmental Research*, 237(2): 116950. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116950>
165. Mäkinen J., Heikola T., Salo M. and Kinnunen P. (2021). The Effects of Milling and pH on Co, Ni, Zn and Cu Bioleaching from Polymetallic Sulfide Concentrate. *Minerals*, 11: 317. <https://doi.org/10.3390/min11030317>
166. Muddanna M.H. and Baral S.S. (2021). Bioleaching of rare earth elements from spent fluid catalytic cracking catalyst using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(1): 104848. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104848>
167. Tavakoli H.Z., Abdollahy M., Ahmadi S. and Darban A.K. (2017). Kinetics of uranium bioleaching in stirred and column reactors. *Miner Eng* 111: 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2017.06.003>
168. Farías R., Norambuena J., Ferrer A., Camejo P., Zapata C., Chavez R., Orellana O. and Levican G. (2021). Redox stress response and UV tolerance in the acidophilic ironoxidizing bacteria *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Research in Microbiology*, 172(3): 103833. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2021.103833>.
169. Tian Z., Li H., Wei Q., Qin W. and Yang C. (2021). Effects of redox potential on chalcopyrite leaching: An overview. *Minerals Engineering*, 172: 107135. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2021.107135>.
170. Sheng Y., Kaley B., Bibby K., Grettenberger C., Macalady J.L., Wang G. and Burgos W.D. (2017). Bioreactors for low-pH iron(II) oxidation remove considerable amounts of total iron. *RSC Advances*, 7: 35962-35972. DOI: [10.1039/C7RA03717A](https://doi.org/10.1039/C7RA03717A).
171. Gentina J.C. and Acevedo F. (2013). Application of bioleaching to copper mining in Chile. *Electronic Journal of Biotechnology*. DOI: [10.2225/vol16-issue3-fulltext-12](https://doi.org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-12)
172. Chingwaru W., Vidmar J. and Chingwaru C. (2017). Potential of biotechnology for metals extraction in Zimbabwe: a review. *The Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy*, 117: 381-386. <http://dx.doi.org/10.17159/2411-9717/2017/v117n4a10>
173. Hu J., Huang H., Xie H., Gan L., Liu J. and Long M. (2017). A scaled-up continuous process for biooxidation as pre-treatment of refractory pyrite-arsenopyrite gold-bearing concentrates. *Biochemical Engineering Journal*, 128: 228-234. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.10.001>

174. Jin Z., Huang T., Zhang X. and Zhang S. (2022). Bioelectrochemical-assisted bioleaching of chalcopyrite: Effect of pulp density, anode material, and silver ion. *Process Safety and Environmental Protection*, 159: 740-748. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2022.01.051>
175. Nguyen K.A., Borja D., You J., Hong G., Jung H. and Kim H. (2018). Chalcopyrite Bioleaching Using Adapted Mesophilic Microorganisms: Effects of Temperature, Pulp Density, and Initial Ferrous Concentrations. *Materials transactions*, 59(11): 1860-1866. DOI: <https://doi.org/10.2320/matertrans.M2018247>
176. Jun W., Wen-Qing Q., Yan-Sheng Z., Cong-Ren Y., Jian-Wen Z., Shao-Shi N., He S. and Guan-Zhou Q. (2008). Bacterial leaching of chalcopyrite and bornite with native bioleaching microorganism. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 18: 1468-1472. <http://tnmsc.csu.edu.cn/down/upfile/soft/200916/27-p1468.pdf>
177. Abhilash G.A. and Pandey B.D. (2015). Bioleaching of low grade granitic chalcopyrite ore by hyperthermophiles: Elucidation of kinetics-mechanism. *Metallurgical Research & Technology*, 112: 506. DOI: [10.1051/metal/2015031](https://doi.org/10.1051/metal/2015031)
178. Wang Y., Zeng W., Qiu G., Chen X. and Zhou H. (2014). A Moderately Thermophilic Mixed Microbial Culture for Bioleaching of Chalcopyrite Concentrate at High Pulp Density. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(2): 741-750. DOI: [10.1128/AEM.02907-13](https://doi.org/10.1128/AEM.02907-13)
179. Songrong Y., Jiyuan X., Guanzhou Q. and Yuehua H. (2002). Research and application of bioleaching and biooxidation technologies in China. *Minerals Engineering*, 15(5): 361-363. [https://doi.org/10.1016/S0892-6875\(02\)00019-5](https://doi.org/10.1016/S0892-6875(02)00019-5)
180. Sadeghieh S.M., Ahmadi A. and Hosseini M.R. (2020). Effect of water salinity on the bioleaching of copper, nickel and cobalt from the sulphidic tailing of Golgohar Iron Mine, Iran. *Hydrometallurgy*, 198: 105503. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2020.105503>
181. Noguchi H. and Okibe N. (2020). The role of bioleaching microorganisms in saline water leaching of chalcopyrite concentrate. *Hydrometallurgy*, 195: 105397. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2020.105397>
182. Johnson D.B., Bryan C.G., Schломann M. and Roberto F.F. (eds) (2022). *Biomining technologies: extracting and recovering metals from ores and wastes*. Springer
183. Pakostova E., Grail B.M. D. and Barrie Johnson (2017). Column Bioleaching of a Saline, Calcareous Copper Sulfide Ore. *Solid State Phenomena*, 262: 7-11. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/SSP.262.7>
184. Chen M. and Schlömann M. (2022). Mineral Bioleaching in Brackish and Saline Environments. In book: *Biomining Technologies, Extracting and Recovering Metals from Ores and Wastes* (pp. 229-238). DOI: [10.1007/978-3-031-05382-5_13](https://doi.org/10.1007/978-3-031-05382-5_13)
185. Wood J.M. (2015). Bacterial responses to osmotic challenges. *Journal of General Physiology*, 145(5): 381-388. <https://doi.org/10.1085/jgp.201411296>
186. Zammit C.M., Mutch L.A., Watling H.R. and Watkin E.L.J. (2009). The characterization of salt tolerance in biomining microorganisms and the search for novel salt tolerant strains. *Advanced Materials Research*, 71-73: 283-286. DOI: [10.4028/www.scientific.net/AMR.71-73.283](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.71-73.283)
187. Zammit C. M., Mangold S., Jonna V., Mutch L.A., Watling H.R., Dopson M. and Watkin E.L.J. (2012). Bioleaching in brackish waters: effect of chloride ions on the acidophile population and proteomes of model species. *Applied microbiology and biotechnology*, 93: 319-329. DOI: [10.1007/s00253-011-3731-3](https://doi.org/10.1007/s00253-011-3731-3)

188. Bremer E. and Krämer R. (2019). Responses of Microorganisms to Osmotic Stress. *Annual Review of Microbiology*, 73: 313-334. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115504>
189. Mukhtar S., Malik K. and Mehnaz S. (2020). Osmoadaptation in halophilic bacteria and archaea *Research Journal of Biotechnology*, 15(5): 154-161.
190. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K. and Becker D.F. (2013). Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxidants & redox signaling*, 19(9): 99801011. DOI: [10.1089/ars.2012.5074](https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074)
191. Chen L., Liu X., Gao C., Guan Y., Lin J., Liu X. and Pang X. (2022). The Essential Role of OmpR in *Acidithiobacillus caldus* Adapting to the High Osmolarity and Its Regulation on the Tetrathionate-Metabolic Pathway. *Microorganisms*, 11(1): 35. DOI: [10.3390/microorganisms11010035](https://doi.org/10.3390/microorganisms11010035)
192. Rivera-Araya J., Pollender A., Huynh D., Schlömann M., Chávez R. and Levicán G. (2019). Osmotic Imbalance, Cytoplasm Acidification and Oxidative Stress Induction Support the High Toxicity of Chloride in Acidophilic Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 10: 2455. DOI: [10.3389/fmicb.2019.02455](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02455)
193. Dopson M., Holmes D.S., Lazcano M., McCredden T.J., Bryan C.G., Mulroney K.T., Steuart R., Jackaman C. and Watkin E.L.J. (2017). Multiple Osmotic Stress Responses in *Acidihalobacter prosperus* Result in Tolerance to Chloride Ions. *Frontiers in Microbiology*, 7: 2132. DOI: [10.3389/fmicb.2016.02132](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02132)
194. Khaleque H.N., Corbett M.K., Ramsay J.P., Kaksonen A.H., Boxall N.J. and Watkin E.L.J. (2017). Complete genome sequence of *Acidihalobacter prosperus* strain F5, an extremely acidophilic, iron- and sulfur-oxidizing halophile with potential industrial applicability in saline water bioleaching of chalcopyrite. *Biotechnology*, 262: 56-59. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2017.10.001](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.10.001)
195. Khaleque H., González-Rosales C., Kaksonen A., Boxall N., Holmes D. and Watkin E.L.J. (2019). Genome-based classification of two halotolerant extreme acidophiles, *Acidihalobacter prosperus* V6 (=DSM 14174 =JCM 32253) and '*Acidihalobacter ferrooxidans*' V8 (=DSM 14175 =JCM 32254) as two new species, *Acidihalobacter aeolianus* sp. nov. and *Acidihalobacter ferrooxydans* sp. nov., respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(6). DOI: [10.1099/ijsem.0.003313](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003313)
196. Huynh D., Haferburg G., Bunk B., Kaschabek S.R., Sand W. and Schlömann M. (2024). *Alicyclobacillus* sp. SO9, a novel halophilic acidophilic iron-oxidizing bacterium isolated from a tailings-contaminated beach, and its effect on copper extraction from chalcopyrite in the presence of high chloride concentration. *Research in Microbiology*, 175,(1-2): 104150.
197. Boroujeni S., Kalbasi M., Asgharzadeh A. and Baharlouei J. (2020). Evaluating the Potential of *Halothiobacillus* Bacteria for Sulfur Oxidation and Biomass Production under Saline Soil. *Geomicrobiology*, 38(9): 1-9. DOI: [10.1080/01490451.2020.1809571](https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1809571)
198. Figueroa-Estrada J.C., Aguilar-López R., Rodríguez-Vázquez R. and Neria-González M.I. (2020). Bioleaching for the extraction of metals from sulfide ores using a new chemolithoautotrophic bacterium. *Hydrometallurgy*, 197: 105445. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2020.105445>
199. Huynh D., Norambuena J., Boldt C., Kaschabek S.R., Levicán G. and Schlömann M. (2020). Effect of Sodium Chloride on Pyrite Bioleaching and Initial Attachment by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02102>

200. Dopson M., Ossandon F.J., Lövgren L. and Holmes D.S. (2014). Metal resistance or tolerance? Acidophiles confront high metal loads via both abiotic and biotic mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00157>
201. Almárcegui R.J., Navarro C.A., Paradelo A., Albar J.P., von Bernath D. and Jerez C.A. (2013). New Copper Resistance Determinants in the Extremophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*: A Quantitative Proteomic Analysis. *Journal of Proteome Research*, 13(2): 946-960. <https://doi.org/10.1021/pr4009833>
202. Mohseni S., Marzban A.; Sepehr S.; Hosseinkhani S., Karkhaneh M. and Azimi A. (2011). Investigation of some heavy metals toxicity for indigenous *Acidithiobacillus ferrooxidans* isolated from Sarcheshmeh copper mine. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 4(3): 159-166.
203. Molaei S., Yaghmaei S. and Ghobadi Z. (2011). A study of *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSMZ 583 adaptation to heavy metals. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9(2): 133-144. https://www.ijbiotech.com/article_7134_9348cacfad940b61debd117a6b42657.pdf
204. Xie X., Yuan X., Liu N., Chen X., Abdelgadir A. and Liu J. (2013). Bioleaching of arsenic-rich gold concentrates by bacterial flora before and after mutation. *Biomed Research International*. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/969135>
205. Kaksonen A.H., Mudunuru B.M. and Hackl R. (2014) The role of microorganisms in gold processing and recovery – a review. *Hydrometallurgy*, 142: 70-83. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2013.11.008>
206. Carvalho L.C., Silva S.R., Giardini R.M.N., Souza L.F.C. and Leão V.A. (2019). Bio-oxidation of refractory gold ores containing stibnite and gudmundite. *Environmental Technology & Innovation*, 15: 100390. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100390>
207. Neale J.W., Pinches A. and Deeplaul V. (2000). Mintek-BacTech's bacterial-oxidation technology for refractory gold concentrates: Beaconsfield and beyond. *The Journal of The South African Institute of Mining and Metallurgy*, 100(7): 415-421.
208. Zhang S., Yang H., Tong L., Ma P., Luan Z., Sun Q. and Zhou Y. (2023). Two-stage chemical-biological oxidation process for low-grade refractory gold concentrate with high arsenic and sulfur. *Minerals Engineering*, 191: 107976. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2022.107976>
209. Tan S.N., Burgar I. and Chen M. (2011). An investigation of biooxidation ability of *Acidithiobacillus ferrooxidans* using NMR relaxation measurement. *Bioresource Technology*, 102(19): 9143-9147. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.088>
210. Dew D.W., Lawson E.N. and Broadhurst J.L. (1997). The BIOX[®] Process for Biooxidation of Gold-Bearing Ores or Concentrates. In: Rawlings, D.E. (eds) *Biomining. Biotechnology Intelligence Unit*. Springer, Berlin, Heidelberg. Chapter: 45-80. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-662-06111-4_3
211. Whitlock J.L. (1997). Biooxidation of Refractory Gold Ores (The Geobiotics Process). In: Rawlings, D.E. (eds) *Biomining. Biotechnology Intelligence Unit*. Springer, Berlin, Heidelberg. Chapter: 117-127. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-662-06111-4_6
212. Gericke M. and Yageshni G. (2011). Bioleaching strategies for the treatment of nickel-copper sulphide concentrates. *Minerals Engineering*, 24(11): 1106-1112. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2011.02.006>
213. Asamoah R.K. (2021). Specific Refractory Gold Flotation and Bio-Oxidation Products: Research Overview. *Minerals*, 11(1): 93. <https://doi.org/10.3390/min11010093>

214. Batty J.D. and Rorke G.V. (2006) Development and commercial demonstration of the BioCop™ thermophile process. *Hydrometallurgy*, 83(1-4): 83-89. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.049>
215. Escondida Sulphide Leach Project (2004). <https://www.bhp.com/-/media/bhp/documents/investors/news/sulphideleach.pdf>
216. Riekkola-Vanhanen M. (2013). Talvivaara mining company – From a project to a mine. *Minerals Engineering*, 48: 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2013.04.018>
217. Hawkes R.B., Franzmann P.D. and Plumb J.J. (2006). Moderate thermophiles including “*Ferroplasma cupricumulans*” sp. nov. dominate an industrial-scale chalcocite heap bioleaching operation. *Hydrometallurgy*, 83(1-4): 229-236. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.027>
218. Godoy B. I., Braslavsky J.H. and Aguero J.C. (2008). A Simulation Study on Model Predictive Control and Extremum Seeking Control for Heap Bioleaching Processes. *IFAC Proceedings Volumes*, 41(2): 9368-9373. <https://doi.org/10.3182/20080706-5-KR-1001.01583>
219. Dreisinger D. (2006). Copper leaching from primary sulfides: Options for biological and chemical extraction of copper. *Hydrometallurgy*, 83(1-4): 10-20. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.032>
220. Watling H.R. (2008). The bioleaching of nickel-copper sulfides. *Hydrometallurgy*, 91(1-4): 70-88. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2007.11.012>
221. Ahmadi M., Hosseini S.M.R., Ahmadi A. and Zandevakili S. (2021). Purification of Zinc from the Bioleaching Solution of a Bulk Lead–Zinc Concentrate by Precipitation and Solvent Extraction. *Journal of Sustainable Metallurgy*, 7(8). DOI:[10.1007/s40831-021-00465-w](https://doi.org/10.1007/s40831-021-00465-w)
222. Haghshenas D.F., Alamdari E.K., Bonakdarpour B., Darvishi D. and Nasernejad B. (2009) Kinetics of sphalerite bioleaching by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, 99: 202–208. DOI:[10.1016/j.hydromet.2009.08.007](https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2009.08.007)
223. Sundramurthy V.P., Rajoo B., Srinivasan N.R. and Rajan Kavitha (2020). Bioleaching of Zn from sphalerite using *Leptospirillum ferriphilum* isolate: effect of temperature and kinetic aspects. *Applied Biological Chemistry*, 63: 44. <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00528-8>
224. Yang C., Qin W., Lai S., Wang J., Zhang Y., Jiao F., Ren L., Zhuang T. and Chang Z. (2011). Bioleaching of a low grade nickel–copper–cobalt sulfide ore. *Hydrometallurgy*, 106(1-2): 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2010.11.013>
225. Kaksonen A.H., Deng X., Bohu T., Zea L., Khaleque H.N., Gumulya Y., Boxall N.J., Morris C. and Cheng K.Y. (2020). Prospective directions for biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, 195: 105376. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2020.105376>
226. Yuan J., Zhou Z., Ge Y., Guo J., Sun Z., Ke P., Xu L., Yang Z. and Zhai W. (2023). Bioleaching of uranium from low-grade uranium ore with a high fluorine content by indigenous microorganisms and their community structure analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 332: 387-398. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10967-022-08734-y>
227. Attia R.M., Sallam O.R., Abbas A.E.A. and Kawady N.A. (2022) Comparative evaluation of chemical and bio techniques for uranium leaching from low grade sandstone rock sample, Abu Thor, southwestern Sinai Egypt. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 331: 5675-5689. <https://doi.org/10.1007/s10967-022-08621-6>
228. Wang X., Liu Y., Sun Z., Li J., Chai L., Min X., Guo Y., Li P. and Zhou Z. (2017). Heap bioleaching of uranium from low-grade granite-type ore by mixed acidophilic microbes.

Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 314: 251-258. DOI:[10.1007/s10967-017-5406-8](https://doi.org/10.1007/s10967-017-5406-8)

229. Abhilash D. and Pandey B. (2013). Microbially Assisted Leaching of Uranium – A Review. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 34(2): 81-113. DOI:[10.1080/08827508.2011.635731](https://doi.org/10.1080/08827508.2011.635731)

230. Choi M.-S., Cho S.-K., Kim S.-D. and Ryu W.-H. (2005). Bioleaching of uranium from low grade black schists by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 21: 377-380. DOI: [10.1007/s11274-004-3627-9](https://doi.org/10.1007/s11274-004-3627-9)

231. Bhattacharyya A., Campbell K.M., Kelly S.D., Roebbert Y., Weyer S., Bernier-Latmani R. and Borch T. (2017). Biogenic non-crystalline U^(IV) revealed as major component in uranium ore deposits. *Nature Communications*, 8: 15538. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms15538>

232. Huang Z., Ma L., Zhang J., Zhou Q., Yang L., Wang H. (2022). First-principles study of elastic and thermodynamic properties of UO₂, γ -UO₃ and α -U₃O₈. *Journal of Nuclear Materials*, 572: 154084. doi:[10.1016/j.jnucmat.2022.154084](https://doi.org/10.1016/j.jnucmat.2022.154084)

233. Pal S., Pradhan D., Das T., Sukla L. and Chaudhury G.R. (2010). Bioleaching of low-grade uranium ore using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Indian Journal of Microbiology*, 50(1): 70-75. DOI:[10.1007/s12088-010-0015-z](https://doi.org/10.1007/s12088-010-0015-z)

234. Gargarello R., Di Gregorio D.E., Huck H., Niello J.O.F. and Curutchet G. (2010). Reduction of uranium(VI) by *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, 104(3-4): 529-532. DOI:[10.1016/j.hydromet.2010.03.032](https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2010.03.032)

235. Vecchia E.D., Veeramani H., Suvorova E.I., Wigginton N.S., Bargar J.R. and Bernier-Latmani R. (2010). U(VI) reduction by spores of *Clostridium acetobutylicum*. *Research in Microbiology*, 161(9): 765-771. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.08.001>

236. Pang C., Liu Y.-H., Cao X.-H., Li M., Huang G.-L., Hua R., Wang C.-X., Liu Y.-T. and An X.-F. (2011). An Biosorption of uranium(VI) from aqueous solution by dead fungal biomass of *Penicillium citrinum*. *Chemical Engineering Journal*, 170(1): 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.10.068>

237. Kasko J., Li X., Müller K., Ge Y., Vettese G.F., Law G.T.W., Siitari-Kauppi M., Huittinen N., Raff J., Bomberg M. and Herzig M. (2023). Uranium(VI) interactions with *Pseudomonas* sp. PS-0-L, V4-5-SB and T5-6-I. *Applied Geochemistry*, 159: 105829. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2023.105829>

238. Pradhan N., Pradhan S.K., Nayak B.B., Mukherjee P.S., Sukla L.B. and Mishra B.K. (2008). Micro-Raman analysis and AFM imaging of *Acidithiobacillus ferrooxidans* biofilm grown on uranium ore. *Research in Microbiology*, 159(7-8): 557-561. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.06.006>

239. Sheng L., Szymanowski J. and Fein J. (2011). The effects of uranium speciation on the rate of U(VI) reduction by *Shewanella oneidensis* MR1. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75(12): 3558-3567. DOI:[10.1016/j.gca.2011.03.039](https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.03.039)

240. Cologgi D.L., Speers A.M., Bullard B.A., Kelly S.D. Reguera G. (2014). Enhanced Uranium Immobilization and Reduction by *Geobacter sulfurreducens* Biofilms. *Applied Environmental Microbiology*, 80(21): 6638-6646. DOI: [10.1128/AEM.02289-14](https://doi.org/10.1128/AEM.02289-14)

241. Senko J.M., Kelly S.D., Dohnalkova A.C., McDonough J.T., Kemner K.M. and Burgos W.D. (2007). The effect of U(VI) bioreduction kinetics on subsequent reoxidation of biogenic U(IV). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(19): 4644-4654. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2007.07.021>

242. Burgos W.D., McDonough J.T., Senko J.M., Zhang G., Dohnalkova A.C., Kelly S.D., Gorby Y. and Kemner K.M. (2008). Characterization of uraninite nanoparticles

produced by *Shewanella oneidensis* MR-1. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(20): 4901-4915. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.07.016>

243. Schierz and Zanker (2009). Aqueous suspensions of carbon nanotubes: Surface oxidation, colloidal stability and uranium sorption. *Environmental Pollution*, 157(4): 1088-1094. DOI: [10.1016/j.envpol.2008.09.045](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.09.045)

244. Kaksonen A.H., Lakaniemi A.-M. and Tuovinen O.H. (2020). Acid and ferric sulfate bioleaching of uranium ores: A review. *Journal of Cleaner Production*, 264: 121586. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121586>

245. Huang M., Li Z., Zhang M. and Wang W. (2023). Aeration Accelerates the Microbial Leaching of Low-Grade Copper Sulfide Ores. *Preprints*. DOI: 10.20944/preprints202310.1958.v1

246. Johansson C., Shrader V., Suissa J., Adutwum K. and Kohr W. (1999). Use of the GEOCOAT™ process for the recovery of copper from chalcopyrite. *Process Metallurgy*, 9: 569-576. [https://doi.org/10.1016/S1572-4409\(99\)80058-3](https://doi.org/10.1016/S1572-4409(99)80058-3)

247. Kaksonen A., Boxhall N.J., Gumulya Y., Khaleque H.N., Morris C., Cheng K.Y., Usher K.M. and Lakaniemi A.M. (2018). Recent progress in biohydrometallurgy and microbial characterization. *Hydrometallurgy*, 180: 7-25. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2018.06.018>

248. Khaleque H.N., Fathollahzadeh H., González C., Shafique R., Kaksonen A.H., Holmes D.S. and Watkin E. L.J. (2020). Unlocking Survival Mechanisms for Metal and Oxidative Stress in the Extremely Acidophilic, Halotolerant *Acidihalobacter* Genus. *Genes*, 11: 1392. <https://doi.org/10.3390/genes11121392>

249. Ghassa S., Boruomand Z., Abdollahi H., Moradian M. and Akcil A. (2014). Bioleaching of high grade Zn–Pb bearing ore by mixed moderate thermophilic microorganisms. *Separation and Purification Technology*, 136: 241-249. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.08.029>

250. Wang Q., Long H., Wang H. and Lau Vetter M.C.Y. (2024). Characterize the Growth and Metabolism of *Acidithiobacillus ferrooxidans* under Electroautotrophic and Chemoautotrophic Conditions. *Microorganisms*, 12(3): 590. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030590>

РОЗДІЛ 2. ЕКОТЕХНОЛОГІЇ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ ЗЕМЕЛЬ

2.1. Роль важких металів в навколишньому середовищі

Проблема забруднення важкими металами стає все більш актуальною із зростанням індустріалізації та порушеннями природних біогеохімічних циклів. Забруднення навколишнього середовища важкими металами стало серйозною проблемою світового рівня. Мобілізація важких металів через видобуток із руд і подальша обробка для різних застосувань призвели до вивільнення цих елементів у навколишнє середовище. На відміну від органічних речовин, важкі метали не піддаються біологічному розкладанню і тому накопичуються в середовищі. Накопичення важких металів у ґрунтах і водоймах становить небезпеку для навколишнього середовища та здоров'я людей. Ці елементи накопичуються в тканинах тіла живих організмів (біонакопичення), і їх концентрації зростають у міру переходу з нижчих трофічних рівнів до вищих трофічних рівнів. У ґрунтах важкі метали викликають токсикологічний вплив на ґрунтові мікроорганізми, що може призвести до зменшення їх кількості та активності [1], [2].

Важкі метали поділяються на незамінні та неосновні. Незамінні важкі метали - це ті, які потрібні живим організмам у невеликих кількостях для життєво важливих фізіологічних і біохімічних функцій. Прикладами основних важких металів є Fe, Mn, Cu, Zn і Ni [3], [4]. Несуттєві важкі метали – це ті, які не потрібні живим організмам для будь-яких фізіологічних і біохімічних функцій. Прикладами несуттєвих важких металів є Cd, Pb, As, Hg і Cr [5], [11].

Важкі метали потрапляють у навколишнє середовище від природних та антропогенних джерел. Найзначнішими природними джерелами є вивітрювання мінералів, ерозія ґрунтів та вулканічна активність. В табл. 2.1 наведені антропогенні джерела деяких важких металів у навколишньому середовищі.

Таблиця 2.1 – Антропогенні джерела специфічних важких металів у навколишньому середовищі

| Важкі метали | Джерела потрапляння в навколишнє середовище |
|--------------|--|
| As | Пестициди та консерванти деревини |
| Cd | Фарби та пігменти, стабілізатори пластику, гальванічне покриття, спалювання кадмійвмісної пластмаси, добрива |
| Cr | Шкіряні заводи, металургійна промисловість, зола |
| Cu | Пестициди, добрива |
| Hg | Вивільнення від видобутку вугілля та спалюванні вуглеводнів, медичні відходи |
| Ni | Промислові стічні води, кухонна техніка, хірургічні інструменти, сталеві сплави, автомобільні акумулятори |
| Pb | Повітряні викиди від спалювання бензину з сполуками свинцю, виробництво акумуляторів, гербіцидів |

Антропогенні джерела включають розробку родовищ корисних копалин, технології процесінгу мінеральної сировини, металургійні цикли, гальванічні виробництва, використання пестицидів та фосфатних добрив в сільському господарстві, скиди промислових стічних вод та викиди в атмосферне повітря тощо [12], [16].

2.2. Шкідливий вплив важких металів на здоров'я людини

В табл. 2.2 наведено спектри шкідливого впливу деяких важких металів на здоров'я людини.

Таблиця 2.2 – Шкідливий вплив деяких важких металів на здоров'я людини

| Важкі метали | Шкідливий вплив |
|--------------|---|
| As | Миш'як (як арсенат) є аналогом фосфату і, таким чином, втручається в необхідні клітинні процеси, такі як окисне фосфорилування та синтез АТФ [26] |
| Cd | Канцерогенні, мутагенні та тератогенні; ендокринний руйнівник; заважає регуляції кальцію в біологічних системах; викликає ниркову недостатність та хронічну анемію [27], [29]. |
| Cr | Викликає випадання волосся [28] |
| Cu | Виявлено, що підвищений рівень може спричинити пошкодження мозку та нирок, цироз печінки та хронічну анемію, подразнення шлунка та кишківника [28], [16]. |
| Hg | Тривога, аутоімунні захворювання, депресія, труднощі з рівновагою, сонливість, швидка стомлюваність, втрата волосся, безсоння, дратівливість, втрата пам'яті, повторювані інфекції, неспокій, порушення зору, тремор, виразки та ураження головного мозку, нирок та легенів [30], [32]. |
| Ni | Алергічний дерматит, відомий як нікелевий свербіж; вдихання може спричинити рак легенів, носа, пазух; онкологічні захворювання горла і шлунка також були віднесені до його вдихання; гематотоксичні, імунотоксичні, нейротоксичні, генотоксична, репродуктивна токсична, легенева токсична, нефротоксична та гепатотоксична; викликає випадання волосся [28]-[33], [21], [33]-[35]. |
| Pb | Його отруєння викликає у дітей такі проблеми, як порушення розвитку, зниження інтелекту, втрата короткочасної пам'яті, проблеми з навчанням та координацією; викликає ниркову недостатність; підвищений ризик розвитку серцево-судинних захворювань [28], [36]-[37], [16]. |
| Zn | Надмірне дозування може спричинити запаморочення [38]. |

Важкі метали негативно впливають на здоров'я людини, а отже забруднення харчових ланцюгів важкими металами заслуговує особливої уваги.

Багато важких металів і металоїдів токсичні і можуть викликати небажані ефекти і серйозні проблеми навіть при дуже низьких концентраціях [17], [19]. Важкі метали викликають оксидативний стрес в живих організмах шляхом утворення вільних радикалів [20]. *Оксидативний стрес* стосується посиленого генерування активних перекисних радикалів, які можуть перевантажувати внутрішні антиоксидантні захисні сили клітини і можуть призводити до утворення патологічних клітин [21]-[22], [10]. Крім того, вони можуть замінити важливі метали в пігментах або ферментах, що порушує фізіологічні функції організму [23]. Що стосується їх токсичності, то найбільш проблемними важкими металами є Hg, Cd, Pb, As, Cu, Zn, Sn, Cr [24], [25]. З них Hg, Cd, Pb та As є несуттєвими важкими металами, а Cu і Zn – важкі метали, що є мікроелементами. Токсичні важкі метали можуть викликати різні проблеми зі здоров'ям залежно від концентрації важкого металу, його окислювального стану тощо.

Оскільки забруднення ґрунтів токсичними важкими металами є серйозною екологічною проблемою, необхідні ефективні методи відновлення. Важкі метали мають високу щільність і здатність накопичуватися в навколишньому середовищі, ґрунтах, воді, рослинах, тваринах та людському організмі. До найбільш небезпечних належать свинець (Pb), ртуть (Hg), кадмій (Cd), миш'як (As), нікель (Ni), хром (Cr), мідь (Cu) та цинк (Zn).

Забруднення довкілля важкими металами – серйозна екологічна проблема, яка потребує глобального вирішення.

2.3. ФітореMediaція – зелене рішення проблеми забруднення довкілля

ФітореMediaція (від грецького слова *phyto* (рослина) та латинського *remedium* (відновлювати баланс, remediating) – комплекс процесів, в яких рослини використовують для віддалення, перетворення, нейтралізації або руйнування забруднювачів з компонентів навколишнього середовища, які містять їх.

ФітореMediaція є різновидом екологічної технології, що пов'язана з використанням рослин та асоційованих з ними ґрунтової мікрофлори для зменшення концентрацій або токсичного впливу забруднюючих речовин у навколишньому середовищі [39].

ФітореMediaція може бути використана для видалення важких металів і радіонуклідів та органічних забруднюючих речовин таких як, багатоядерні ароматичні вуглеводні, поліхлоровані біфеніли та пестициди, тому прикладні аспекти фітореMediaції досить широкі [40], [50].

Фітотехнології є новими, економічно ефективними, екологічними стратегіями відновлення, керовані сонячним світлом (рис. 2.1). Рослини, як правило, утилізують забруднюючі речовини, не впливаючи на верхні ґрунти,

зберігаючи тим самим його корисність і родючість. Вони можуть покращити родючість ґрунту за рахунок надходження органічних речовин. Зелені рослини мають величезну здатність поглинати забруднюючі речовини з навколишнього середовища і здійснюють їх детоксикацію за допомогою різних механізмів.



Рис. 2.1. Прикладні аспекти фіторемедіації

Технологія фіторемедіації відносно нова і базується на прикладних дослідженнях, проведених здебільшого протягом двох останніх десятиліть (з 1990 р.). Поняття фіторемедіації, як різновид фітоекстракції, запропонував американський вчений Р. Чані у 1983 році. Ідея полягає у запровадженні технологій фіторемедіації на великих польових майданчиках чи територіях, де застосовуються інші методи відновлення, не рентабельні але практичні. Перевагами фіторемедіації є низькі капітальні та експлуатаційні витрати на обслуговування порівняно з іншими варіантами санації територій.

Щодо вартості, фіторемедіація може коштувати менше 5% порівняно з альтернативними методами очищення. Встановлення рослинності на забруднених ґрунтах також допомагає запобігти ерозії та вилугуванню металів. З економічної точки зору, **мета фіторемедіації** забруднених земель може бути потрійною:

- (1) стримування ризиків забруднення (*фітостабілізація*);
- (2) *фітоекстракція цінних рідкоземельних металів з високою ринковою вартістю, таких як Ni, Tl та Au;*

(3) довготривале управління земельними ресурсами, коли застосована технологія фітоекстракції сприяє поступовому покращенню якості ґрунтів для подальшого вирощування сільськогосподарських культур.

Фіторемедіація також користується популярністю серед широкої громадськості як «екологічно чиста» альтернатива хімічним та технічним засобам відновлення земель.

Фіторемедіація включає наступні методи: фітоекстракція (або фітоаккумуляція), фітофільтрація, фітостабілізація, фітоволатилізація і фітодеградація [51].

2.3.1. Фітоекстракція

Фітоекстракція (також відома як фітоаккумуляція, фітоабсорбція або фітосеквестрація) – це поглинання забруднень із ґрунту чи води коренями рослин, їх перенесенням до надземної біомаси та накопичення в тканинах, переважно в пагонах та листях [52], [53].

Транслокація металів від коренів до пагонів та листової біомаси є важливим біохімічним процесом і ключовим критерієм ефективної фітоекстракції, оскільки зібрати врожай кореневої біомаси є, як правило, проблематичним [54].

Прикладом фітоекстракції є використання соняшнику (*Helianthus annuus*), що дозволяє вилучати з ґрунту миш'як (As) та уран, як це було зроблено у Чорнобильській зоні відчуження. Використання деяких рослин-гіперакумуляторів родини Хрестоцвітних, зокрема талабану (*Thlaspi caerulescens*) дозволяє вилучати кадмій (Cd) та цинк (Zn) з ґрунтів у концентраціях, токсичних для багатьох інших рослин. Різноманітність технологій фіторемедіації показано на рис. 2.2.

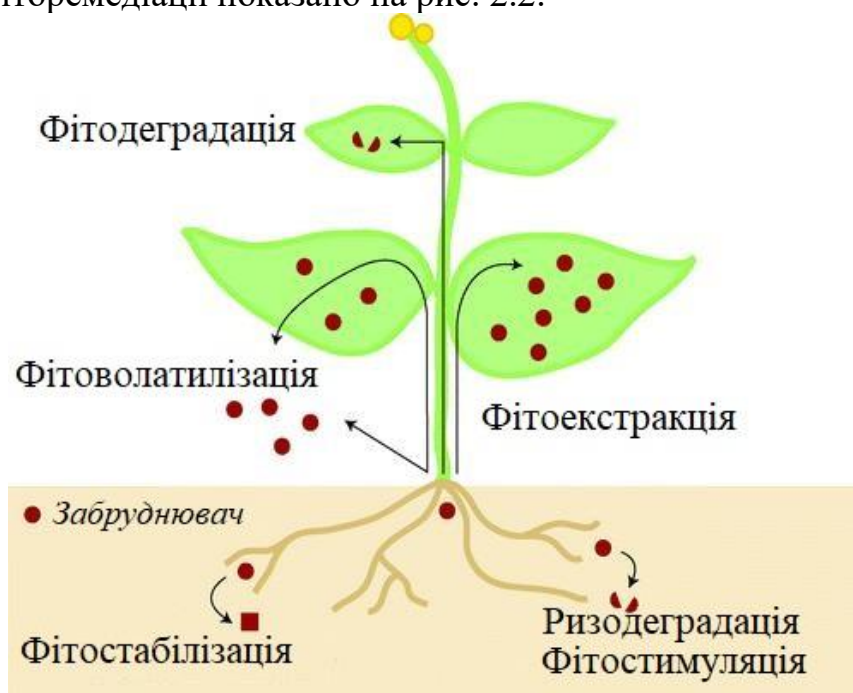


Рис. 2.2. Технології фіторемедіації [55]

Рослини індійської гірчиці (*Brassica juncea*), амброзії (*Ambrosia artemisiifolia*), коноплі (*Apocynum cannabinum*), або тополі (*Populus nigra*) мають здатність накопичувати свинець у своїй біомасі.

2.3.2. Фітофільтрація

Фітофільтрація – це видалення забруднюючих речовин із забруднених поверхневих вод або промислових стічних вод рослинами [56]. Різновидами фітофільтрації можуть бути *ризофільтрація* (використання коріння рослин), *бластофільтрація* (використання саджанців) або *каулофільтрація* (використання висічених пагонів рослин) [57].

Ризофільтрація передбачає фільтрування води, яка проходить через кореневу систему рослин з метою вилучення токсичних субстанцій, а також руйнування забруднювачів ґрунтовими мікроорганізмами у зоні, що оточує кореневу систему рослини.

Взагалі, при фітофільтрації забруднювачі всмоктуються або адсорбуються коріннями рослин з води, і таким чином відбувається їх переміщення в тканини рослин.

2.3.3. Фітостабілізація

Фітостабілізація або *фітоімобілізація* – це використання певних рослин для стабілізації або зв'язування забруднень у ґрунтах [58]. Ця методика використовується для зниження рухливості і біодоступності забруднюючих речовин у навколишньому середовищі, запобігаючи тим самим їх міграції в підземні води або їх входження в харчовий ланцюг екосистеми [59].

Рослини можуть знерухомлювати важкі метали в ґрунтах шляхом сорбції корінням, утворенням нерозчинних речовин, комплексоутворення або зміни валентності металів в ризосфері [60], [62].

Метали різної валентності відрізняються токсичністю. Виділенням спеціальних окислювальних ферментів, рослини вміло перетворюють небезпечні метали до відносно менш токсичного стану та зменшення можливого впливу металів і екологічної шкоди. Наприклад, широко відома реакція відновлення хрому з Cr (VI) до Cr (III), остання форма є менш рухливою, а також і менш токсичною.

Фітостабілізація обмежує накопичення важких металів в біоті і мінімізує їх вилуговування в підземні води. Однак фітостабілізація не є постійним рішенням проблеми забруднення, тому що важкі метали залишаються в ґрунті; лише їх рух обмежений. Власне, це стратегія управління стабілізацією (інактивацією) потенційно токсичних забруднень [63].

2.3.4. Фітоволатилізація

Фітоволатилізація – здатність рослин вилучати забруднювачі з ґрунту чи води та звільняти їх в атмосферу внаслідок фітотрансформації у більш леткі або менш забруднюючі субстанції. Фітоволатилізація пов'язана з надходженням забруднюючих речовин із ґрунту в рослини, перетворенням цих речовин у летючу форму та подальшим вивільненням в атмосферу. Цей метод можна використовувати для органічних забруднювачів і деяких важких металів, таких як Hg і Se. Однак його використання обмежується тим, що він не видаляє забруднювач повністю з ґрунту. Забруднювач тільки переноситься з одного сегменту екосистеми (ґрунт) на інший (атмосфера), звідки він може розповсюдитись на інші території. Фітоволатилізація є найбільш суперечливою з технологій фіторе mediaції через непередбачуваність результатів.

2.3.5. Фітодеградація

Фітодеградація – це деградація органічних забруднювачів рослинами за допомогою ферментів, таких як дегалогеназа та оксигеназа. Цей біохімічний процес не залежить від ризосферних мікроорганізмів [64]. Рослини можуть накопичувати органічні ксенобіотики із забруднених середовищ та здійснювати їх детоксикацією через метаболічну діяльність. З цієї точки зору можна розглядати зелені рослини як «зелену печінку» для біосфери. Фітодеградація обмежується видаленням органічних забруднювачів лише тому, що важкі метали не розкладаються. Наразі вчені досліджують фітодеградацію різних органічних забруднювачів включаючи синтетичні гербіциди та інсектициди. В деяких дослідженнях використовуються генетично модифіковані рослини (наприклад, трансгенні тополі) [65].

2.3.6. Ризодеградація

Ризодеградація стосується розщеплення органічних забруднюючих речовин в ґрунті мікроорганізмами ризосфери. Ризосфера поширюється близько 1 м навколо кореня і знаходиться під впливом рослини [55]. Основна причина посиленої деградації забруднюючих речовин у ризосфері пов'язана зі збільшенням кількості та метаболічної активності мікроорганізмів. Рослини можуть стимулювати діяльність мікрофлори шляхом секреції (ексудату) у ґрунт стимулюючих органічних речовин. В ексудаті містяться вуглеводи, амінокислоти, флавоноїди. Вивільнення поживних речовин, що містять ексудати кореневої системи рослин, є джерелами вуглецю та азоту для ґрунтових мікробів та створює сприятливе та багате поживними речовинами середовище для росту мікробів та стимулювання їх активності. Крім секреції органічних ексудатів для сприяння росту та діяльності ризосферних мікроорганізмів, рослини також

виділяють ферменти, здатні руйнувати органічні забруднення у ґрунтах [66], [67].

2.3.7. Фітодесалінізація

Фітодесалінізація відноситься до використання галофітних рослин з метою видалення солей з уражених солями ґрунтів та підтримки нормального росту рослин [68], [69]. Прикладом фітодесалінізації та додатково фітоекстракції є використання толерантних до мінералізації видів ячміня та цукрового буряка, які зазвичай використовують для екстракції хлориду натрію з угідь, що були раніше затоплені морською водою. Запропоновані галофітні рослини природно краще пристосовані для росту в мінералізованих ґрунтах забруднених важкими металами.

Два галофіти, сведа (*Suaeda maritima*) і морський портулак (*Sesuvium portulacastrum*) можуть видалити 504 та 474 кг хлориду натрію NaCl відповідно з 1 га засоленого ґрунту за період 4 місяці. Отже, ці рослини та інші галофіти успішно використовуються для накопичення NaCl з високосолених ґрунтів та створюють умови для вирощування сільськогосподарських рослин після декількох повторних вирощувань та врожаїв [70].

Облігатний галофіт *S. portulacastrum* здатний накопичувати близько 1 т/га іонів Na⁺ у наземній біомасі, при культивуванні на засолених ґрунтах. В натурних дослідженнях з фітодесалінізації у ґрунт значно знизився рівень солоності, що позитивно позначилось на зростанні тестової культури ячміню (*Hordeum vulgare*) [71].

У табл. 2.3 узагальнено різні методи фіторемедіації.

Таблиця 2.3 – Технології фіторемедіації

| Технологія | Загальна характеристика |
|-------------------|---|
| Фітоекстракція | Накопичення забруднюючих речовин у біомасі пагонів та листя, що можна зібрати |
| Фітофільтрація | Секвестрація забруднюючих речовин рослинами із забруднених стічних вод |
| Фітостабілізація | Обмеження рухливості та біодоступності забруднюючих речовин у ґрунті корінням рослин |
| Фітоволатилізація | Перетворення забруднюючих речовин у летючу форму та їх подальше вивільнення в атмосферу |
| Фітодеградація | Деградація органічних ксенобіотиків рослинними ферментами в рослинних тканинах |
| Ризодеградація | Деградація органічних ксенобіотиків у ризосфері рослин мікроорганізмами |
| Фітодесалінізація | Видалення зайвих солей із засолених ґрунтів рослинами-галофітами |

2.3.8. Використання штучно побудованих водно-болотних угідь для фіторемедіації

Побудовані водно-болотні угіддя використовуються для очищення стічних вод та дренажних вод [63]. Вони пропонують економічно вигідні і технічно здійсненні технології що довели свою ефективність і успішність у відновленні забруднень важкими металами та поліпшенні якості води [72], [74].

Водні макрофіти більше підходять для очищення стічних вод, ніж наземні рослини завдяки їх швидшому росту, виробництву більшої кількості біомаси та відносно більш високій здатності поглинання забруднюючих речовин. Водні рослини краще здійснюють очищення за рахунок прямого контакту із забрудненою водою [75]. В побудованих водно-болотних угіддях використовуються різні плаваючі, укоріненні та занурені водні види. Тополя (*Populus spp.*) і верба (*Salix spp.*) можуть використовуватись вздовж берегів побудованих водно-болотних угідь [55].

Плаваючі водні рослини накопичують метали своїм корінням, а у занурених рослинах метали накопичуються в цілому тілі [76]. Водний гіацинт (*Eichhornia crassipes*) використовується для фіторемедіації важких металів на болотах та озерах. Це швидкозростаюча, плаваюча рослина з добре розвинутою волокнистою кореневою системою та великою біомасою. Вона також легко адаптується до різних водних умов і відіграє важливу роль у накопиченні металів з води [77]. Аналогічно водний салат (*Pistia stratiotes*) вказаний як потенційний фіторемедіатор для вод забруднених Mn. Його додатковими перевагами є рясне зростання на водно-болотних угіддях, покриває майже всю поверхню води та дає легкий урожай [78]. Ще одним кандидатом на водну фіторемедіацію є Азолла (*Azolla*). Це кращий макрофіт для водної фіторемедіації через короткий час подвоєння (2–3 дні), що дає легкий урожай, та має здатність до фіксації азоту, толерантний до накопичення широкого спектру важких металів [75]. Водно-болотні рослини найкраще вибирати з місцевих, ендемічних водно-болотних видів.

2.4. Критерії підбору рослин для технологій фіторемедіації

2.4.1. Гіпераккумуляція та гіпертолерантність

Фітоекстракція – головна і найкорисніша методика фіторемедіації щодо видалення важких металів та металоїдів із забруднених ґрунтів, осадів або стічних вод [79], [81]. Він є найбільш перспективним для комерційного застосування в рекультивації земель [82]. Ефективність фітоекстракції залежить від багатьох факторів, таких як біодоступність важких металів у ґрунті, властивості ґрунту, специфікації важких металів та рослин відповідних видів. Рослини, придатні для фітоекстракції, в ідеалі повинні мати такі характеристики [83], [87]:

- високі темпи зростання;
- виробництво значної частини надземної біомаси;
- широко поширена і сильно розгалужена коренева система;
- більше скупчення цільових важких металів із ґрунту;
- перенесення накопичених важких металів від коренів до листя та пагонів;
- толерантність до токсичного впливу важких металів;
- хороша адаптація до переважаючих екологічних та кліматичних умов;
- стійкість до збудників хвороб та шкідників;
- легке вирощування та збирання врожаю;
- несприйняття травоядними тваринами, щоб уникнути зараження харчових ланцюгів.

В основному фітоекстракційний потенціал виду рослин визначається за двома ключовими факторами: *концентрацією металу* та *біомасою рослин* [88]. Існують два різні підходи щодо випробування на фітоекстракцію важких металів:

(1) використання гіперакумуляторів, які виробляють порівняно менше надземної біомаси, але накопичують більше цільових важких металів;

(2) застосування інших рослин, таких як індійська гірчиця (*Brassica juncea*), які в меншій мірі накопичують цільові важкі метали, але виробляють більше надземної біомаси, щоб загальне накопичення забруднювача було порівняно з рослинами-гіперакумуляторами внаслідок продукції більшої кількості біомаси [89], [90]. Проте, *гіперакумуляція* та *гіпертолерантність* є важливішою у фіторемедіації, ніж значна біомаса [91].

Використання гіперакумуляторів дає можливість збагачення важкими металами низькооб'ємної біомаси, яка економічна і проста в обробці для утилізації металу. З іншої сторони, використання рослин, які не мають гіперакумуляторні здатності призведе до отримання великого об'єму біомаси з невеликим вмістом металів, яку буде неекономічно переробляти для вилуговування металів, а також економічно недоцільно утилізувати.

Рослини, які дають багаторазові врожаї за один період росту, наприклад конюшина (*Trifolium spp.*), можуть мати великий потенціал для фітоекстракції важких металів [92]. Трави більш схильні для ефективною фітоекстракції, ніж чагарники чи дерева, через їх високу швидкість росту, більшу пристосованість до стресового середовища з високими рівнями забруднення та дають багату біомасу [93]. Деякі дослідники оцінювали використання культури (наприклад, кукурудзи та ячміння) для фітоекстракції важких металів. У цьому випадку потрібно декілька разів збирати врожай для зниження рівня забруднення металів до прийнятних рівнів. Однак використання посівів для фітоекстракції важких металів має недолік, пов'язаний із забрудненням харчового ланцюга. Тому використання аграрних культур для цілей фіторемедіації не слід розглядати як джерело сільськогосподарських продуктів для споживання тваринами або людиною [94].

2.4.2. Критерії підбору рослин: біодоступність важких металів у ґрунті

Хімічний склад і сорбційні властивості ґрунту впливають на рухливість та біодоступність металів [95]. Біодоступність важких металів у ґрунті є критичним фактором, що впливає на ефективність фітоекстракції цільових важких металів. Низька біодоступність є основним обмежуючим фактором для фітоекстракції забруднень наприклад, Рb. Як правило, лише частка ґрунтового металу є біодоступною для поглинання рослинами [96]. Сильне зв'язування важких металів з частинками ґрунту або органічними опадами є проблемою [97]. Значна фракція ґрунтових важких металів знаходиться в нерозчинному стані і тому в основному недоступна для поглинання рослинами.

Що стосується *біодоступності важких металів* чи металоїдів у ґрунті, то вони поділяються на три категорії:

- легкодоступні (Cd, Ni, Zn, As, Se, Cu);
- помірно біодоступні (Co, Mn, Fe);
- і найменш біодоступні (Pb, Cr, U), [98].

Однак рослини розвили певні механізми солубілізації важких металів у ґрунті. Коріння рослин виділяють металомобілізуючі речовини в ризосфері, які називаються *фітосидерофорами*.

Секреція іонів H^+ корінням рослин може підкислити ризосферу і посилити розчинення металу [99]. H^+ іони можуть витіснити катіони важких металів, адсорбованих на частинках ґрунту. Кореневі ексудати загалом можуть знижувати рН ґрунту ризосфери на одну-дві одиниці у ґрунтах. Зниження рН збільшує концентрацію важких металів у ґрунтового розчині, що сприяє їх десорбції.

Крім того, ризосферні мікроорганізми (в основному бактерії та мікориза грибів) можуть значно підвищити біодоступність важких металів у ґрунті. Взаємодія мікробних сидерофор може збільшувати лабільність металів і їх поглинання корінням рослин [100].

Фітоекстракція важких металів може здійснюватися у двох режимах, *природному та індукованому*. У *природній* чи *безперервній фітоекстракції*, рослини використовують природні механізми та умови середовища для видалення важких металів, тобто добавки в ґрунт не вносяться. При *індукованій фітоекстракції* застосовуються різні хелатуючі агенти, такі як етилендіамінтетраоцтова кислота (EDTA), лимонна кислота, елементарна сірка та сульфат амонію, які додають у ґрунт для підвищення біодоступності важких металів та їх поглинання рослинами [101]-[103].

Хелати утворюють водорозчинні комплекси з важкими металами в ґрунті, що допомагає в їх десорбції з частинок ґрунту. *Біодоступність* важких металів збільшується за рахунок зниження рН ґрунту, оскільки солі металів розчинні в кислому середовищі, а не в лужному. Однак ці хімічні засоби фіторемедіації можуть спричинити вторинні проблеми із забрудненням. Наприклад, синтетичний хелат EDTA не біодеградується і може вилуговуватися в ґрунтові води, що становлять додаткову небезпеку для навколишнього середовища. Крім

того, синтетичні хелатуючі агенти у високих концентраціях також можуть бути токсичними для рослини.

Таким чином, слід дотримуватися належного догляду при практиці індукованої фітоекстракції [104]-[109]. Однак використання лимонної кислоти ($C_6H_8O_7$) як хелатуючої речовини може бути перспективним, оскільки вона природного походження і легко розкладається в ґрунті. Крім того, лимонна кислота не токсична для рослин, тому не впливає безпосередньо на їх ріст [110].

2.5. Основні рослини-гіперакумулятори та спектр забруднювачів для вилучення рослинами з твердих субстратів

Металофіти – це рослини, спеціально пристосовані до ґрунтів багатих на важкі метали [111]. Основними ділянками рослин, стійких до важких металів, є ґрунти на територіях розробки родовищ мінеральної сировини чи виходу на поверхню мінеральних відкладень, так звані металеві або орогенні ґрунти [112]. Вплив надлишкового вмісту металів у ґрунтах протягом тисяч років призвели до еволюційної стійкості металофітів в місцевих умовах навколишнього середовища.

Гірничя промисловість негативно впливає на довкілля, сприяючи поширенню та міграції важких металів, тому створюється ніша для металофітів [113]. Металофіти мають ботанічні особливості. Ці рослини представлені переважно родиною Хрестоцвітних (*Brassicaceae*). Їх використання як окремо, так і в поєднанні з мікроорганізмами, для фіторемедіації важких металів на забруднених ґрунтах є доцільним [111]. Металофіти поділяються на три категорії: *уловлювачі металів, металеві індикатори та гіперакумулятори металів.*

2.5.1. Уловлювачі металів

Уловлювачі металів накопичують важкі метали з субстрату в коріннях, але обмежують їх транспортування та потрапляння в надземні частини рослини [114]. Такі рослини мають низький потенціал для поглинання металу, але можуть бути ефективними для цілей фітостабілізації.

2.5.2. Металеві індикатори

Металеві індикатори накопичують важкі метали у своїх надземних частинах. Ці рослини, як правило, мають важкий метал в таких же концентраціях, як і в субстраті [97].

2.5.3. Гіперакумулятори металів

Гіперакумулятори металів – це рослини, які можуть концентрувати важкі метали у надземних тканинах до рівня, який значно перевищує рівень присутності у ґрунті або поза зони росту кореневої системи та накопичення рослини [115]. Гіперакумулятори можна розглядати як особливий і крайній випадок більш широкої категорії акумуляторів [116]. Вони є гіпертолерантними до металів, які накопичуються в пагонах [117]. Стандарт гіперакумуляторів науково не визначений, однак, окремі автори або дослідницькі групи визначили цей термін.

Термін «гіперакумулятор» вперше був введений Бруком та ін. (1977) для визначення рослин з концентрацією Ni вище 1000 мг/кг сухої ваги (0,1%). Рівз (1992) намагався визначити гіперакумуляцію Ni з більшою точністю як гіперакумулятор Ni – це рослина, в якій концентрація Ni принаймні зафіксовано на рівні 1000 мг/кг у сухій речовині будь-якої надземної тканини щонайменше в одному зразку, що росте в своєму природному середовищі. Для встановлення статусу гіперакумулятора, надземні тканини слід розглядати лише як листя рослини. Найбільш цитований термін «гіперакумуляція металів» належить Бейкеру і Бруксу (1989), згідно з якими «*Гіперакумулятори* – це види рослин, які накопичують більше 100 мг/кг сухої маси Cd або більше 1000 мг/кг сухої маси Ni, Cu і Pb або більше 10000 мг/г сухої маси Zn і Mn в їх пагонах при вирощуванні на багатих металами ґрунтах» [118].

Критерії, які зазвичай використовуються для гіперакумуляції деяких металів надмірно консервативні. Наразі рекомендуються наступні критерії концентрації для різних металів та металоїдів в сушеній листяній рослині, що росте в природних місцях існування: 100 мг/кг для Cd, Se і Tl; 300 мг/кг для Co, Cu та Cr; 1000 мг/кг для Ni, Pb та As; 3000 мг/кг для Zn; 10000 мг/кг для Mn. Як правило, гіперакумулятори досягають у 100 разів вищої концентрації металів у листях порівняно з культурними рослинами або звичайними неакумуляторними рослинами. Гіперакумулятори досягають коефіцієнта концентрації металів у пагонах і листях до кореня (*коефіцієнт транслокації*, TF) більше 1 [119]. Однак TF не можна використовувати окремо для визначення гіперакумуляції, хоча це корисний підхід для оцінки гіперакумуляції [120].

Наразі ведуться дослідження стосовно пошуку більш ефективних гіперакумуляторів для важких металів як ключового кроку для успішної фітореMediaції забруднюючими речовинами.

Дослідженнями встановлено понад 400 видів рослин-гіперакумуляторів металів з них понад 300 гіперакумуляторів Ni [121], [122]. Родина *Brassicaceae* містить багато металакумуляуючих видів [123]. Прикладами гіперакумуляторів є *Thlaspi caerulescens* та *Alyssum bertolonii*. *Thlaspi caerulescens* (альпійська копійка), можливо, найвідоміший гіперакумулятор металів. Цей вид є гіперакумулятором для Zn, Cd і Ni [124]. Найчастіше постулюється гіпотеза щодо причини або переваги гіперакумуляції металів у рослин як стихійний

захист від трав'юдних тварин (вміст металів робить листя неприємними або токсичними) та збудників хвороб [125], [126].

У табл. 2.4 наведено перелік деяких рослин-гіперакумуляторів.

Таблиця 2.4 – Список деяких рослин-гіперакумуляторів

| Види рослин | Метали | Накопичення металу, мг/кг | Джерело |
|---------------------------------|--------|---------------------------|------------------------------------|
| <i>Alyssum bertolonii</i> | Ni | 10900 | Li et al. (2003) |
| <i>Alyssum caricum</i> | Ni | 12500 | Li et al. (2003) |
| <i>Alyssum corsicum</i> | Ni | 18100 | Li et al. (2003) |
| <i>Alyssum heldreichii</i> | Ni | 11800 | Bani et al. (2010) |
| <i>Alyssum markgrafii</i> | Ni | 19100 | Bani et al. (2010) |
| <i>Alyssum murale</i> | Ni | 4730–20100 | Bani et al. (2010) |
| | | 15000 | Li et al. (2003) |
| <i>Alyssum pterocarpum</i> | Ni | 13500 | Li et al. (2003) |
| <i>Alyssum serpyllifolium</i> | Ni | 10000 | Prasad (2005) |
| <i>Azolla pinnata</i> | Cd | 740 | Rai (2008) |
| <i>Berkheya coddii</i> | Ni | 18000 | Mesjasz-Przybylowicz et al. (2004) |
| <i>Corrigiola telephiifolia</i> | As | 2110 | (2004) |
| <i>Eleocharis acicularis</i> | Cu | 20200 | (Garcia-Salgado et al., 2012) |
| | Zn | 11200 | |
| | Cd | 239 | Sakakibara et al. (2011) |
| | As | 1470 | |
| <i>Euphorbia cheiradenia</i> | Pb | 1138 | |
| <i>Isatis pinnatiloba</i> | Ni | 1441 | Chehregani and Malayeri (2007) |
| <i>Pteris biaurita</i> | As | ~2000 | |
| <i>Pteris cretica</i> | As | ~1800 | |
| | | 2200–3030 | Altinozlu et al. (2012) |
| <i>Pteris quadriaurita</i> | As | ~2900 | Srivastava et al. (2006) |
| <i>Pteris ryukyuensis</i> | As | 3647 | Srivastava et al. (2006) |
| <i>Pteris vittata</i> | As | 8331 | Zhao et al. (2002) |
| | | ~1000 | Srivastava et al. (2006) |
| | Cr | 20675 | Srivastava et al. (2006) |
| <i>Rorippa globosa</i> | Cd | >100 | Kalve et al. (2011) |
| <i>Schima superba</i> | Mn | 62412.3 | Baldwin and Butcher (2007) |
| <i>Solanum photeinocarpum</i> | Cd | 158 | Kalve et al. (2011) |
| <i>Thlaspi caerulescens</i> | Cd | 263 | Wei et al. (2008) |
| | | | Yang et al. (2008) |
| | | | Zhang et al. (2011) |
| | | | Lombi et al. (2001) |

Гіперакумулятори можна використовувати для фітореMediaції токсичних речовин і небезпечних важких металів, а також для *фітомайнінгу* дорогоцінних важких металів, таких як Au, Pd і Pt. Застосування гіперакумуляторів для фітореMediaції може призвести до отримання *біоруди* з певною комерційною цінністю, щоб впоратися з деякими витратами на санацію ґрунтів.

Кількість вилучених важких металів з ґрунту гіперакумуляторами є функцією тканинного метаболізму та концентрації металу, помножених на кількість виробленої біомаси рослини. Деякі рослини мають природну здатність до гіперакумуляції специфічних важких металів. Ці рослини відомі як природні гіперакумулятори. З іншого боку, акумуляційна потужність деяких рослин для конкретних важких металів може бути підвищена шляхом їх генетичної модифікації за допомогою біотехнологічних методів. Такі генетично модифіковані рослини показали перспективні результати для фітореMediaції земель деякими важкими металами. Однак, деякі вчені скептично ставляться до біобезпеки генетично модифікованих організмів (ГМО), тому в науковому світі існує стурбованість щодо комерціалізації такої продукції.

Швидко зростаючі рослини зі значною біомасою, такі як верба (*Salix*), тополя (*Populus*) та ятрофа (*Jatropha*) можуть використовуватися як для фітореMediaції, так і для отримання енергії.

2.5.4. Кількісне визначення ефективності фітоекстракції

Ефективність фітоекстракції можна кількісно оцінити, обчисливши коефіцієнт біоконцентрації та коефіцієнт транслокації.

Коефіцієнт біоконцентрації (КБК) вказує на ефективність накопичення металу з навколишнього середовища в тканинах певного виду рослини [127]. Він обчислюється як [128]:

$$\text{Коефіцієнт біоконцентрації (КБК)} = \frac{C_{\text{врожай біомаси}}}{C_{\text{ґрунт}}}, \quad (2.1)$$

де $C_{\text{врожай біомаси}}$ – концентрація металу у зібраній біомасі рослини;

$C_{\text{ґрунт}}$ – концентрація того ж металу в ґрунті (субстраті).

Коефіцієнт транслокації (КТ) вказує на ефективність рослини в переміщенні накопиченого металу з його коріння на пагони. Він розраховується наступним чином:

$$\text{Коефіцієнт транслокації (КТ)} = \frac{C_{\text{пагони}}}{C_{\text{корені}}}, \quad (2.2)$$

де $C_{\text{пагони}}$ – концентрація металу у надземній частині (пагонах) рослини;

$C_{\text{корені}}$ – концентрація металу у підземній частині (коренях) рослини.

Коефіцієнт біоконцентрації або *коефіцієнт акумуляції* (КА, %) також можна представити у відсотках згідно з наступним рівнянням [129]:

$$\text{Коефіцієнт акумуляції (КА)} = \frac{C_{\text{біомаса рослини}}}{C_{\text{грунт}}} \times 100, \quad (2.3)$$

де $C_{\text{біомаса рослини}}$ – концентрація металу у біомасі рослини;
 $C_{\text{грунт}}$ – концентрація того ж металу в ґрунті (субстраті).

Аналогічно, *коефіцієнт транслокації* (КТ, %) також може бути представлений у відсотках згідно з наступним рівнянням:

$$\text{Коефіцієнт транслокації (КТ, \%)} = \frac{C_{\text{надземна біомаса}}}{C_{\text{корені}}} \times 100, \quad (2.4)$$

І КБК і КТ, мають важливе значення для аналізу гіперакумуляторів для фітоекстракції важких металів. Оцінка та відбір рослин для цілей фітореMediaції повністю залежать від цих коефіцієнтів [130]. *КБК* – важливіший показник, який показує потенціал вилуговування металу при оцінці даного виду рослини для фітоекстракції. Значення коефіцієнта транслокації більше вказує на транслокацію металу від кореня до надземної частини. Лише види рослин з КБК і КТ більше, ніж 1, мають потенціал для використання у технологіях фітоекстракції. Гіперакумулятори мають КБК більше 1, іноді досягаючи 50–100. Однак високі концентрації певного металу в ґрунті можуть призвести до КБК < 1, наприклад в дуже темних ґрунтах з 3000 мг/кг Ni в ґрунті та 2000 мг/кг в рослині або, навпаки, рослини, що ростуть на ґрунтах, дефіцитних на істотні мікроелементи (наприклад, Zn) можуть бути дуже ефективними при секвеструванні і, отже, мають дуже високі рівні КБК, але низькі значення абсолютної концентрації металів в тканинах. Таким чином, КБК може використовуватись для порівняння у разі вирощування рослин у гомогенізованому ґрунті або на гідропонних культурах. КБК також є зручним і надійним способом кількісної оцінки щодо біодоступності важких металів для рослин [131], [132].

2.6. Технології утилізації фітоекстракторів

2.6.1. Подальше використання рослин після фітоекстракції

Важливим питанням є те, якою буде доля рослин після використання для фітоекстракції важких металів? Такі рослини після спалювання можна утилізувати як небезпечні відходи на спеціалізованих сміттєзвалищах або, якщо це економічно можливо, переробляти з метою біовилуговування дорогоцінних і напівкоштовних металів (практика відома як «*фітомайнінг*») [133]-[135]. Ця технологія зображена на рис. 2.3.

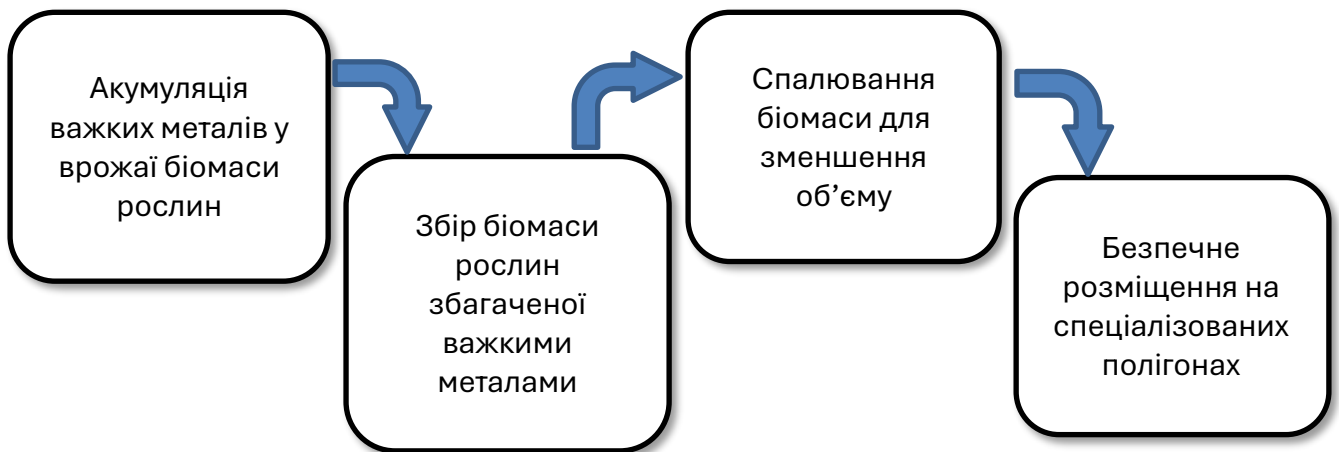


Рис. 2.3. Головні етапи переробки біомаси рослин-фіторемедіантів

2.6.2. Фітомайнінг

Рослинна біомаса, що містить накопичені важкі метали, може спалюватися для отримання енергії, а решта золи вважається «біологічною рудою». Цю біоруду можна переробляти для відновлення або вилучення важких металів. Перевагою фітомінінгу є продаж енергії від спалювання біомаси [136]. Згідно з польовими експериментами [137], вирощування енергетичної кукурудзи в районі Кампіна в Бельгії і Нідерландах можуть призвести до виробництва 30000–42000 кВт/год відновлюваної енергії на гектар. Якщо припустити заміну електростанції, що працює на вугіллі, це еквівалентно скороченню до 21 тонн/га-рік CO₂. Переробка біоруд сприяє зменшенню викидів SO_x в атмосферу через низький рівень вмісту сірки.

Таким чином фітомайнінг – це екологічний варіант порівняно зі звичайними методами вилучення металів. Однак комерційна ефективність фітомайнінгу залежить від багатьох факторів, таких як ефективність фіто екстракції, ринкової вартості оброблюваних металів. Фітомінінг з комерційною метою використовується для вилуговування Ni, і вважається, що він дешевший, ніж звичайні методи вилучення. Так, використання *Alyssum murale* та *Alyssum corsicum*, дозволяє вирощувати біомасу, що містить 400 кг/га Ni з виробничими витратами 250–500 \$/га. Враховуючи ціну Ni 40 \$/кг (у 2006 році). Збільшення вартості понад 40 \$/кг), створює перспективи для фітомінінгу Ni як високорентабельної сільськогосподарської технології, яка дозволяє отримувати близько 16000 \$/га для забруднених нікелем або мінералізованих ґрунтів [138]. Застосування більш жорсткого законодавства щодо обмеження забруднення навколишнього середовища зробить додаткову перевагу та більше привабливості для фітомайнінгу [139].

2.6.3. Механізм поглинання та переміщення важких металів і їх толерантність

Рослини забирають важкі метали з ґрунтового розчину в своє коріння. Після входження в коріння іони важких металів можуть зберігатися в корінні або переноситись в пагони насамперед через судини ксилеми, де вони в основному осідають у вакуолях [140], [141]. Вакуолі – це клітинні органели з низькою метаболічною активністю [142].

Секвестрування (обмеження) важких металів у вакуолях є одним із способів видалення зайвих іонів металу з цитозолу клітини і може зменшити їх вплив на обмінні процеси клітини. Часткова компартменталізація важких металів у вакуолях є механізмом толерантності гіперакумуляторів до металів. Весь механізм фітоекстракції важких металів має п'ять основних аспектів:

- мобілізація важких металів в ґрунті,
- поглинання іонів металів корінням рослин,
- транслокація накопичених металів від коренів до повітряних тканин,
- секвестрування іонів металів у тканинах рослин,
- та толерантність до металу.

Металева толерантність є ключовою умовою накопичення металу, а отже фіторемедіації [84]. Механізми, що регулюють толерантність до важких металів у рослинних клітинах – це зв'язування з клітинною стінкою, активний транспорт іонів у вакуолу та хелатування (зв'язок металу з органічною речовиною) через індукцію пептидів, що зв'язують метал, і утворюють металокомплекси [19].

Взагалі транспорт важких металів від ґрунтового розчину до вакуолі контролюється і регулюється різноманітними молекулами. Деякі молекули беруть участь у перехресному мембранному транспорті важких металів та інші беруть участь у їх комплексоутворенні і подальшій секвестрації.

Поглинання іонів важких металів з ґрунтового розчину опосередковується спеціалізованими транспортерами (канальні білки) або H^+ -зчепленими білками-носіями, які присутні в плазматичній мембрані клітин кореня. Наприклад, білкові транспортери ZIP (цинково-залізна пермеаза) сприяють поглинанню Zn^{2+} і Fe^{2+} [143]. Ще одне сімейство білків, яке відіграє важливу роль у транспортуванні двовалентних іонів металів це – білки-макрофаги природного опору (NRAMP) [144].

Несуттєві важкі метали можуть ефективно конкурувати за можливість входити в коріння через ті ж трансмембранні транспортери, якими користуються і основні важкі метали, що мають подібні окислювальні стани та іонні радіуси. Завдяки цьому механізму існує можливість транспортування несуттєвих важких металів в рослинних клітинах, навіть проти градієнта концентрації. Органічні кислоти та амінокислоти пропонуються як ліганди для хелатування іонів важких металів через наявність донорних атомів (S, N і O) в їх молекулах [97], [145].

2.6.4. Роль фітохелатинів та металотіонеїнів у фітоекстракції

Найважливіші пептиди / білки, що беруть участь в процесах акумулювання та толерантності металів – це *фітохелатини* (ФХ) та *металотіонеїни* (МТ). Рослинні ФХ та МТ багаті сульфгідрильними групами цистеїну, які зв'язують і секвеструють іони важких металів у дуже стійкі комплекси [6]. ФХ невеликі похідні глутатіону та ферментативно синтезовані пептиди, які зв'язують метали та є основною частиною системи детоксикації металів у рослинах [146]-[147]. Вони мають загальну структуру $(\gamma\text{-глутаміл-цистеїніл})_n\text{-гліцину}$, де $n = 2-11$ [148]. Хімічна структура ФХ показана на рис. 2.4 [144].

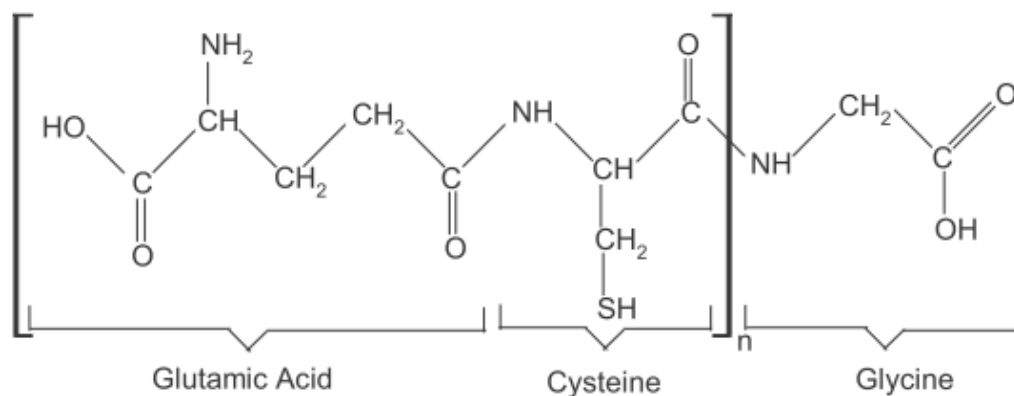


Рис. 2.4. Хімічна структура фітохелатинів

Вони продукуються ферментом фітохелатин-синтазою [48]. ФХ-синтаза активується різними іонами важких металів при індукції *in vivo* [149]. Тривають дослідження з метою виявлення, виділення та вивчення біомолекул, що беруть участь у перехресному мембранному транспорті і вакуольній секвестрації важких металів в рослинах. Прогрес в таких молекулярних дослідженнях значно допоможе вдосконалити наше розуміння повного механізму поглинання металів, транслокації та толерантності у рослин, що в свою чергу сприятиме підвищенню ефективності фітореємедіації.

2.7. Обмеження та майбутні тенденції у фітореємедіації

Хоча фітореємедіація є перспективним підходом щодо вилучення важких металевих забруднених з ґрунтів, воно також має деякі обмеження [84], [143], [150], [151]:

- Тривалий час, необхідний для санації земель.
- Ефективність фітореємедіації більшості гіперакумуляторів металу зазвичай обмежується їх повільним темпом росту та низькою біомасою.
- Важка мобілізація більш щільно пов'язаної фракції іонів металів із ґрунту, тобто обмежена біодоступність забруднень у ґрунті.
- Фітореємедіація застосовується для територій із низьким та помірним вмістом забруднення металами, оскільки ріст рослин на сильно забруднених ґрунтах незадовільний.

– Існує ризик зараження харчових ланцюгів у разі порушення недотримання чи відсутності належного догляду за рослинами.

Майбутні тенденції у фіторемедіації.

Як було сказано раніше, фіторемедіація є відносно недавньою технологією пов'язаною з польовими дослідженнями. В даний час більшість досліджень обмежені лабораторними та парниковими експериментами та лише декілька досліджень були проведені з метою перевірки ефективності фіторемедіації в реальних умовах. Результати польових досліджень можуть відрізнятися від результатів та умов лабораторних або парникових експериментів, оскільки в реальних умовах різні фактори одночасно грають свої ролі [152]. До факторів, які можуть впливати на фіторемедіацію в польових умовах, належать *коливання температури, поживних речовин, опадів і вологи, рослинних збудників та траводічних тварин, нерівномірного розподілу забруднень, типу ґрунту, рН ґрунту та його структури* [63]. Ефективність різних технологій фіторемедіації для конкретних цільових важких металів повинна бути випробувана в польових умовах для того, щоб усвідомити доцільність комерціалізації цієї технології.

Після виявлення бажаних ознак природного гіперакумулятору, такі ознаки можна вибрати або шляхом звичайної селекції або з використанням нових методів гібридизації, таких як синтез протопластів або шляхом маніпулювання експресією генів трансгенних рослин [116]. Зараз тривають дослідження щодо ідентифікації генів, що кодують здібності рослин до гіперакумуляції специфічних важких металів. Визначення та успішна трансформація таких генів рослин дозволяють розвивати супер-рослини для фіторемедіації. Трансгенні рослини могли бути розроблені для селективного виділення металевих лігандів у ризосферу, що могло б конкретно солубілізувати важкі метали з метою фіторемедіації [153]. Таким чином, різні бажані риси можна поєднувати в єдиному виді рослини, який найкраще відповідатиме потребам фіторемедіації. Незважаючи на безліч викликів, фітосанація сприймається як зелена технологія відновлення забруднених земель з великим очікуваним потенціалом.

Подальший розвиток досліджень з фіторемедіації забруднених ґрунтів обумовлено удосконаленням двох базових стратегій – прямої фіторемедіації та фіторекультивації *ex planta*, удосконаленням науково-методичного забезпечення щодо біоремедіації хімічно деградованих ґрунтів шляхом розробки нових методичних підходів і нових способів фітоекстракції, гіперакумуляції, фітодеградації, фітостабілізації та фітостимуляції чи різіндеградації забруднювачів ґрунту, що забезпечить подальше зниження собівартості використання методів біологічної ремедіації *in situ* в зонах перманентного і сталого впливу техногенного забруднення.

Дослідження у фіторемедіації є справді міждисциплінарним прикладним напрямом досліджень, який вимагає знань з хімії ґрунтів, фізіології та біохімії рослин, екології та мікробіології ґрунтів, а також екологічного інжинірингу.

Перелік літературних джерел до розділу 2

1. Ali H, Khan E, Sajad M. Phytoremediation of heavy metals – Concepts and applications *Chemosphere*. 2013. Vol. 91, no. 7. P. 869–881.
2. Khan, S., Hesham, A.E.-L., Qiao, M., Rehman, S., He, J.-Z., 2010. Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17, 288–296.
3. Cempel, M., Nikel, G., 2006. Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. *Pol. J. Environ. Stud.* 15, 375–382.
4. Göhre, V., Paszkowski, U., 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223, 1115–1122.
5. Mertz, W., 1981. The essential trace elements. *Science* 213, 1332–1338.
6. Kärenlampi, S., Schat, H., Vangronsveld, J., Verkleij, J., van der Lelie, D., Mergeay, M., Tervahauta, A., 2000. Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. *Environ. Pollut.* 107, 225–231.
7. Suzuki, N., Koizumi, N., Sano, H., 2001. Screening of cadmium-responsive genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell Environ.* 24, 1177–1188.
8. Cobbett, C., 2003. Heavy metals and plants-model systems and hyperaccumulators. *New Phytol.* 159, 289–293.
9. Peng, K., Luo, C., Chen, Y., Wang, G., Li, X., Shen, Z., 2009. Cadmium and other metal uptake by *Lobelia chinensis* and *Solanum nigrum* from contaminated soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 83, 260–264.
10. Sánchez-Chardi, A., Ribeiro, C.A.O., Nadal, J., 2009. Metals in liver and kidneys and the effects of chronic exposure to pyrite mine pollution in the shrew *Crociturus russula* inhabiting the protected wetland of Doñana. *Chemosphere* 76, 387–394.
11. Dabonne, S., Koffi, B., Kouadio, E., Koffi, A., Due, E., Kouame, L., 2010. Traditional utensils: Potential sources of poisoning by heavy metals. *Br. J. Pharm. Toxicol.* 1, 90–92.
12. Modaihsh, A., Al-Swailem, M., Mahjoub, M., 2004. Heavy metal contents of commercial inorganic fertilizer used in the Kingdom of Saudi Arabia. *Agri. Mar. Sci.* 9, 21–25.
13. Chehregani, A., Malayeri, B.E., 2007. Removal of heavy metals by native accumulator plants. *Int. J. Agri. Biol.* 9, 462–465.
14. Fulekar, M., Singh, A., Bhaduri, A.M., 2009. Genetic engineering strategies for enhancing phytoremediation of heavy metals. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 529–535.
15. Sabiha-Javied, Mehmood, T., Tufai, M., Irfan, N., 2009. Heavy metal pollution from phosphate rock used for the production of fertilizer in Pakistan. *Microchem. J.* 91, 94–99.
16. Wuana, R.A., Okieimen, F.E., 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRNEcology* 2011, 1–20.
17. Kara, Y., 2005. Bioaccumulation of Cu, Zn and Ni from the wastewater by treated *Nasturtium officinale*. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2, 63–67.
18. Arora, M., Kiran, B., Rani, S., Rani, A., Kaur, B., Mittal, N., 2008. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. *Food Chem.* 111, 811–815.

19. Memon, A.R., Schröder, P., 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 162–175.
20. Mudipalli, A., 2008. Metals (micro nutrients or toxicants) and global health. *Indian J. Med. Res.* 128, 331–334.
21. Das, K., Das, S., Dhundasi, S., 2008. Nickel, its adverse health effects and oxidative stress. *Indian J. Med. Res.* 128, 412–425.
22. Krystofova, O., Shestivska, V., Galiova, M., Novotny, K., Kaiser, J., Zehnalek, J., Babula, P., Opatrilova, R., Adam, V., Kizek, R., 2009. Sunflower plants as bioindicators of environmental pollution with lead (II) ions. *Sensors* 9, 5040–5058.
23. Malayeri, B.E., Chehregani, A., Yousefi, N., Lorestani, B., 2008. Identification of the hyper accumulator plants in copper and iron mine in Iran. *Pak. J. Biol. Sci.* 11, 490–492.
24. Wright, R.T., 2007. *Environmental Science. Toward a Sustainable Future.* PrenticeHall of India, New Delhi.
- Wu, G., Kang, H., Zhang, X., Shao, H., Chu, L., Ruan, C., 2010. A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. *J. Hazard. Mater.* 174, 1–8.
25. Ghosh, S., 2010. Wetland macrophytes as toxic metal accumulators. *Int. J. Environ. Sci.* 1, 523–528.
26. Tripathi, R.D., Srivastava, S., Mishra, S., Singh, N., Tuli, R., Gupta, D.K., Maathuis, F.J.M., 2007. Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *Trends Biotechnol.* 25, 158–165.
27. Degraeve, N., 1981. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mut. Res.* 86, 115–135.
28. Salem, H.M., Eweida, E.A., Farag, A., 2000. Heavy Metals in Drinking Water and their Environmental Impact on Human Health. ICEHM2000, Cairo University, Egypt, pp. 542–556.
29. Awofolu, O., 2005. A survey of trace metals in vegetation, soil and lower animal along some selected major roads in metropolitan city of Lagos. *Environ. Monit. Assess.* 105, 431–447.
30. Neustadt, J., Pieczenik, S., 2007. Toxic-metal contamination: mercury. *Integr. Med.* 6, 36–37.
31. Ainza, C., Trevors, J., Saier, M., 2010. Environmental mercury rising. *Water Air Soil Pollut.* 205, 47–48.
32. Gulati, K., Banerjee, B., Bala Lall, S., Ray, A., 2010. Effects of diesel exhaust, heavy metals and pesticides on various organ systems: possible mechanisms and strategies for prevention and treatment. *Indian J. Exp. Biol.* 48, 710–721.
33. Khan, M.A., Ahmad, I., ur Rahman, I., 2007. Effect of environmental pollution on heavy metals content of *Withania somnifera*. *J. Chin. Chem. Soc.* 54, 339–343.
34. Duda-Chodak, A., Baszczyk, U., 2008. The impact of nickel on human health. *J. Elementol.* 13, 685–696.
35. Mishra, S., Dwivedi, S.P., Singh, R.B., 2010. A review on epigenetic effect of heavy metal carcinogenesis on human health. *Open Nutraceut. J.* 3, 188–193.
36. Padmavathamma, P.K., Li, L.Y., 2007. Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants. *Water Air Soil Pollut.* 184, 105–126.
37. Iqbal, M.P., 2012. Lead pollution—a risk factor for cardiovascular disease in Asia developing countries. *Pak. J. Pharm. Sci.* 25, 289–294.
38. Hess, R., Schmid, B., 2002. Zinc supplement overdose can have toxic effects. *J. Paediatr. Haematol. Oncol.* 24, 582–584.

39. Greipsson, S., 2011. Phytoremediation. *Nat. Educ. Knowl.* 2, 7.
40. Suresh, B., Ravishankar, G.A., 2004. Phytoremediation-A novel and promising approach for environmental clean-up. *Crit. Rev. Biotechnol.* 24, 97–124.
41. LeDuc, D.L., Terry, N., 2005. Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 32, 514–520.
42. Odjegba, V.J., Fasidi, I.O., 2007. Phytoremediation of heavy metals by *Eichhorniacrassipes*. *Environmentalist* 27, 349–355.
43. Turan, M., Esringu, A., 2007. Phytoremediation based on canola (*Brassica napus* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) planted on spiked soil by aliquot amount of Cd, Cu, Pb, and Zn. *Plant Soil Environ.* 53, 7–15.
44. Lone, M.I., He, Z., Stoffella, P.J., Yang, X., 2008. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: progresses and perspectives. *J. Zhejiang Univ. – Sci. B* 9, 210–220.
45. Kawahigashi, H., 2009. Transgenic plants for phytoremediation of herbicides. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20, 225–230.
46. Saier, M.H., Trevors, J.T., 2010. Phytoremediation. *Water Air Soil Pollut.* 205, 61–63.
47. Kalve, S., Sarangi, B.K., Pandey, R.A., Chakrabarti, T., 2011. Arsenic and chromium hyperaccumulation by an ecotype of *Pteris vittata*-prospective for phytoextraction from contaminated water and soil. *Curr. Sci.* 100, 888–894.
48. Sarma, H., 2011. Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology. *J. Environ. Sci. Technol.* 4, 118–138.
49. Singh, A., Prasad, S.M., 2011. Reduction of heavy metal load in food chain: technology assessment. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 10, 199–214.
50. Vithanage, M., Dabrowska, B.B., Mukherjee, B., Sandhi, A., Bhattacharya, P., 2012. Arsenic uptake by plants and possible phytoremediation applications: a brief overview. *Environ. Chem. Lett.* 10, 217–224.
51. Alkorta, I., Hernández-Allica, J., Becerril, J., Amezaga, I., Albizu, I., Garbisu, C., 2004. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 3, 71–90.
52. Sekara, A., Poniedzialek, M., Ciura, J., Jedrzejczyk, E., 2005. Cadmium and lead accumulation and distribution in the organs of nine crops: implications for phytoremediation. *Pol. J. Environ. Stud.* 14, 509–516.
53. Rafati, M., Khorasani, N., Moattar, F., Shirvany, A., Moraghebi, F., Hosseinzadeh, S., 2011. Phytoremediation potential of *Populus alba* and *Morus alba* for cadmium, chromium and nickel absorption from polluted soil. *Int. J. Environ. Res.* 5, 961–970.
54. Tangahu, B.V., Abdullah, S.R.S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., Mukhlisin, M., 2011. A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *Int. J. Chem. Eng.*
- Tariq, M., Ali, M., Shah, Z., 2006. Characteristics of industrial effluents and their possible impacts on quality of underground water. *Soil Environ.* 25, 64–69.
55. Pilon-Smits E. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol.* 2005;56:15-39.
56. Mukhopadhyay, S., Maiti, S.K., 2010. Phytoremediation of metal enriched mine waste: a review. *Global J. Environ. Res.* 4, 135–150.
57. Mesjasz-Przybyłowicz, J., Nakonieczny, M., Migula, P., Augustyniak, M., Tarnawska, M., Reimold, W.U., Koeberl, C., Przybyłowicz, W., Glowacka, E., 2004. Uptake of cadmium, lead, nickel and zinc from soil and water solutions by the nickel hyperaccumulator *Berkheya coddii*. *Acta Biol. Cracov. Bot.* 46, 75–85.

58. Singh, S., 2012. Phytoremediation: a sustainable alternative for environmental challenges. *Int. J. Gr. Herb. Chem.* 1, 133–139.
59. Erakhrumen, A.A., 2007. Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries. *Edu. Res. Rev.* 2, 151–156.
60. Barceló, J., Poschenrieder, C., 2003. Phytoremediation: principles and perspectives. *Contrib. Sci.* 2, 333–344.
61. Ghosh, M., Singh, S.P., 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its by products. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 3, 1–18.
62. Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., Ma, L.Q., 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Sci. Total Environ.* 368, 456–464.
63. Vangronsveld, J., Herzig, R., Weyens, N., Boulet, J., Adriaensen, K., Ruttens, A., Thewys, T., Vassilev, A., Meers, E., Nehnevajova, E., Van der Lelie, D., Mench, M., 2009. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 765–794.
64. Vishnoi, S.R., Srivastava, P.N., 2008. Phytoremediation-green for environmental clean. In: *The 12th World Lake Conference*, pp. 1016–1021.
65. Doty, S.L., Shang, Q.T., Wilson, A.M., Moore, A.L., Newman, L.A., Strand, S.E., 2007. Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian P450 2E1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 6287–6291.
66. Kuiper, I., Lagendijk, E.L., Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J.J., 2004. Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17, 6–15.
67. Yadav, R., Arora, P., Kumar, S., Chaudhury, A., 2010. Perspectives for genetic engineering of poplars for enhanced phytoremediation abilities. *Ecotoxicology* 19, 1574–1588.
68. Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2011. Halophytes present new opportunities in phytoremediation of heavy metals and saline soils. *Ind. Eng. Chem. Res.* 50, 656–660.
69. Sakai, Y., Ma, Y., Xu, C., Wu, H., Zhu, W., Yang, J., 2012. Phytodesalination of a salt affected soil with four halophytes in China. *J. Arid Land Stud.* 22, 17–20.
70. Ravindran, K.C., Venkatesan, K., Balakrishnan, V., Chellappan, K.P., Balasubramanian, T., 2007. Restoration of saline land by halophytes for Indian soils. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2661–2664.
71. Rabhi, M., Ferchichi, S., Jouini, J., Hamrouni, M.H., Koyro, H.-W., Ranieri, A., Abdelly, C., Smaoui, A., 2010. Phytodesalination of a salt-affected soil with the halophyte *Sesuvium portulacastrum* L. to arrange in advance the requirements for the successful growth of a glycophytic crop. *Bioresour. Technol.* 101, 6822–6828.
72. Williams, J.B., 2002. Phytoremediation in wetland ecosystems: progress, problems, and potential. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21, 607–635.
73. Olguin, E.J., Sanchez-Galvan, G., 2010. Aquatic phytoremediation: novel insights in tropical and subtropical regions. *Pure Appl. Chem.* 82, 27–38.
74. Rai, P.K., 2012. An eco-sustainable green approach for heavy metals management: two case studies of developing industrial region. *Environ. Monit. Assess.* 184, 421–448.
75. Sood, A., Uniyal, P.L., Prasanna, R., Ahluwalia, A.S., 2012. Phytoremediation potential of aquatic macrophyte, *Azolla*. *Ambio* 41, 122–137.
76. Rahman, M.A., Hasegawa, H., 2011. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere* 83, 633–646.

77. Liao, S.W., Chang, W.L., 2004. Heavy metal phytoremediation by water hyacinth at constructed wetlands in Taiwan. *J. Aquat. Plant Manage.* 42, 60–68.
78. Hua, J., Zhang, C., Yin, Y., Chen, R., Wang, X., 2012. Phytoremediation potential of three aquatic macrophytes in manganese-contaminated water. *Water Environ. J.* 26, 335–342.
79. Cluis, C., 2004. Junk-greedy greens: phytoremediation as a new option for soil decontamination. *BioTeach J.* 2, 61–67.
80. Cherian, S., Oliveira, M.M., 2005. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9377–9390.
81. Milic, D., Lukovic, J., Ninkov, J., Zeremski-Skoric, T., Zoric, L., Vasin, J., Milic, S., 2012. Heavy metal content in halophytic plants from inland and maritime saline areas. *Cent. Eur. J. Biol.* 7, 307–317.
82. Sun, Y., Zhou, Q., Xu, Y., Wang, L., Liang, X., 2011a. The role of EDTA on cadmium phytoextraction in a cadmium-hyperaccumulator *Rorippa globosa*. *J. Environ. Chem. Ecotoxicol.* 3, 45–51.
83. Mejáre, M., Bülow, L., 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *Trends Biotechnol.* 19, 67–73.
84. Tong, Y.P., Kneer, R., Zhu, Y.G., 2004. Vacuolar compartmentalization: a second generation approach to engineering plants for phytoremediation. *Trends Plant Sci.* 9, 7–9.
85. Adesodun, J.K., Atayese, M.O., Agbaje, T., Osadiaye, B.A., Mafe, O., Soretire, A.A., 2010. Phytoremediation potentials of sunflowers (*Tithonia diversifolia* and *Helianthus annuus*) for metals in soils contaminated with zinc and lead nitrates. *Water Air Soil Pollut.* 207, 195–201.
86. Sakakibara, M., Ohmori, Y., Ha, N.T.H., Sano, S., Sera, K., 2011. Phytoremediation of heavy metal contaminated water and sediment by *Eleocharis acicularis*. *Clean: Soil, Air, Water* 39, 735–741.
87. Shabani, N., Sayadi, M.H., 2012. Evaluation of heavy metals accumulation by two emergent macrophytes from the polluted soil: an experimental study. *Environmentalist* 32, 91–98.
88. Li, J.T., Liao, B., Lan, C.Y., Ye, Z.H., Baker, A.J.M., Shu, W.S., 2010. Cadmium tolerance and accumulation in cultivars of a high-biomass tropical tree (*Averrhoa carambola*) and its potential for phytoextraction. *J. Environ. Qual.* 39, 1262–1268.
89. Robinson, B.H., Leblanc, M., Petit, D., Brooks, R.R., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H., 1998. The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant Soil* 203, 47–56.
90. Tlustoš, P., Száková, J., Hruby, J., Hartman, I., Najmanová, J., Nedešník, J., Pavlíková, D., Batysta, M., 2006. Removal of As, Cd, Pb, and Zn from contaminated soil by high biomass producing plants. *Plant Soil Environ.* 52, 413–423.
91. Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1997. Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8, 279–284.
92. Ali, H., Naseer, M., Sajad, M.A., 2012. Phytoremediation of heavy metals by *Trifolium alexandrinum*. *Int. J. Environ. Sci.* 2, 1459–1469.
93. Malik, R.N., Husain, S.Z., Nazir, I., 2010. Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan. *Pak. J. Bot.* 42, 291–301.
94. Vamerali, T., Bandiera, M., Mosca, G., 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 1–17.
- Van Aken, B., 2009.

Transgenic plants for enhanced phytoremediation of toxic explosives. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20, 231–236.

95. Kłos, A., Czora, M., Rajfur, M., Waclawek, M., 2012. Mechanisms for translocation of heavy metals from soil to epigeal mosses. *Water Air Soil Pollut.* 223, 1829–1836.

96. Lasat, M.M., 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *J. Environ. Qual.* 31, 109–120.

97. Sheoran, V., Sheoran, A., Poonia, P., 2011. Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 41, 168–214.

98. Prasad, M.N.V., 2003. Phytoremediation of metal-polluted ecosystems: hype for commercialization. *Russ. J. Plant Physiol.* 50, 686–700.

99. Alford, E.R., Pilon-Smits, E.A.H., Paschke, M.W., 2010. Metallophytes – a view from the rhizosphere. *Plant Soil* 337, 33–50.

100. Mench, M., Schwitzguebel, J.-P., Schroeder, P., Bert, V., Gawronski, S., Gupta, S., 2009. Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 876–900.

101. Elkhatib, E., Thabet, A., Mahdy, A., 2001. Phytoremediation of cadmium contaminated soils: role of organic complexing agents in cadmium phytoextraction. *Land Contamin. Reclam.* 9, 359–366.

102. Lai, H.Y., Chen, Z.S., 2004. Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc, and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass. *Chemosphere* 55, 421–430.

103. Sun, Y.B., Sun, G.H., Zhou, Q.X., Xu, Y.M., Wang, L., Liang, X.F., Sun, Y., Qing, X., 2011b. Induced-phytoextraction of heavy metals from contaminated soil irrigated by industrial wastewater with *Mirabilis jalapa* L. *Plant Soil Environ.* 57, 364–371.

104. Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J., McGrath, S.P., 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemical enhanced phytoextraction. *J. Environ. Qual.* 30, 1919–1926.

105. Zhuang, P., Ye, Z., Lan, C., Xie, Z., Shu, W., 2005. Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using three plant species. *Plant Soil* 276, 153–162.

106. Marques, A.P.G.C., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L., 2009. Remediation of heavy metal contaminated soils: phytoremediation as a potentially promising clean-up technology. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 39, 622–654.

107. Ping, Z., WenSheng, S., ZhiAn, L., Bin, L., JinTian, L., JingSong, S., 2009. Removal of metals by sorghum plants from contaminated land. *J. Environ. Sci.* 21, 1432–437.

108. Zhao, H.Y., Lin, L.J., Yan, Q.L., Yang, Y.X., Zhu, X.M., Shao, J.R., 2011. Effects of EDTA and DTPA on lead and zinc accumulation of ryegrass. *J. Environ. Prot.* 2, 932–939.

109. Song, X., Hu, X., Ji, P., Li, Y., Chi, G., Song, Y., 2012. Phytoremediation of cadmium contaminated farmland soil by the hyperaccumulator *Beta vulgaris* L. var. *cicla*. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 88, 623–626.

110. Smolinska, B., Krol, K., 2012. Leaching of mercury during phytoextraction assisted by EDTA, KI and citric acid. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 87, 1360–1365.

111. Bothe, H., 2011. Plants in heavy metal soils. In: Sherameti, I., Varma, A. (Eds.), *Detoxification of Heavy Metals, Soil Biology*, vol. 30. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 35–57.

112. Ernst, W., 1974. *Schwermetallvegetation der Erde*. G. Fischer, Stuttgart, Germany.

113. Ernst, W.H.O., 2000. Evolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation hype. *New Phytol.* 146, 357–358.
114. Malik, N., Biswas, A.K., 2012. Role of higher plants in remediation of metalcontaminated sites. *Sci. Rev. Chem. Commun.* 2, 141–146.
115. Memon, A.R., Aktoprakligil, D., Ozdemir, A., Vertii, A., 2001. Heavy metalaccumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turk. J. Bot.* 25, 111–121.
116. Pollard, A.J., Powell, K.D., Harper, F.A., Smith, J.A.C., 2002. The genetic basis of metalhyperaccumulation in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21, 539–566.
117. McGrath, S.P., Zhao, F.J., Lombi, E., 2001. Plant and rhizosphere processes involved inphytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant Soil* 232, 207–214.
118. Baker, A.J.M., Brooks, R.R., 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1, 81–126.
119. Badr, N., Fawzy, M., Al-Qahtani, K.M., 2012. Phytoremediation: an economical solution to heavy-metal-polluted soil and evaluation of plant removal ability. *World Appl. Sci. J.* 16, 1292–1301.
120. van der Ent, A., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Pollard, A.J., Schat, H., 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. *Plant Soil.* 362, 319–334.
121. Li, Y.M., Chaney, R., Brewer, E., Roseberg, R., Angle, J.S., Baker, A., Reeves, R., Nelkin, J., 2003. Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. *Plant Soil* 249, 107–115.
122. Prasad, M.N.V., 2005. Nickelophilous plants and their significance inphytotechnologies. *Braz. J. Plant Physiol.* 17, 113–128.
123. Poniedziałek, M., Sećkara, A., Jeźdrzczyk, E., Ciura, J., 2010. Phytoremediationefficiency of crop plants in removing cadmium, lead and zinc from soil. *FoliaHortic. Ann.* 22, 25–31.
124. Assunção, A.G.L., Schat, H., Aarts, M.G.M., 2003. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytol.* 159, 351–360.
125. Meharg, A.A., 2005. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloid ions andpotential biotechnological applications. *Plant Soil* 274, 163–174.
126. Dipu, S., Kumar, A.A., Thanga, S.G., 2012. Effect of chelating agents in phytoremediation of heavy metals. *Remediation J.* 22, 133–146.
127. Ladislav, S., El-Mufleh, A., Gerente, C., Chazarenc, F., Andres, Y., Bechet, B., 2012. Potential of aquatic macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution inurban stormwater runoff. *Water Air Soil Pollut.* 223, 877–888.
128. Zhuang, P., Yang, Q., Wang, H., Shu, W., 2007. Phytoextraction of heavy metals byeight plant species in the field. *Water Air Soil Pollut.* 184, 235–242.
129. Wilson, B., Pyatt, F.B., 2007. Heavy metal bioaccumulation by the important foodplant, *Olea europaea* L., in an ancient metalliferous polluted area of Cyprus. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 78, 390–394.
130. Wu, Q., Wang, S., Thangavel, P., Li, Q., Zheng, H., Bai, J., Qiu, R., 2011. Phytostabilization potential of *Jatropha curcas* L. in polymetallic acid minetailings. *Int. J. Phytorem.* 13, 788–804.
131. Jamil, S., Abhilash, P.C., Singh, N., Sharma, P.N., 2009. *Jatropha curcas*: a potentialcrop for phytoremediation of coal fly ash. *J. Hazard. Mater.* 172, 269–275.

132. Naseem, S., Bashir, E., Shireen, K., Shafiq, S., 2009. Soil–plant relationship of *Pteropyrum olivieri*, a serpentine flora of Wadh, Balochistan, Pakistan and its use in mineral prospecting. *Studia UBB, Geologia*. 54, 33–39.
133. Nazir, A., Malik, R.N., Ajaib, M., Khan, N., Siddiqui, M.F., 2011. Hyperaccumulators of heavy metals of industrial areas of Islamabad and Rawalpindi. *Pak. J. Bot.* 43, 1925–1933.
134. Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I., 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 643–668.
135. Jadia, C.D., Fulekar, M.H., 2008. Phytoremediation: the application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant. *Environ. Eng. Manage. J.* 7, 547–558.
136. Jadia, C.D., Fulekar, M.H., 2009. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 921–928.
137. Anderson, C.W.N., Brooks, R.R., Stewart, R.B., Simcock, R., 1999. Gold uptake by plants. *Gold Bull.* 32, 48–52.
138. Meers, E., Slycken, S.V., Adriaensen, K., Ruttens, A., Vangronsveld, J., Laing, G.D., Witters, N., Thewys, T., Tack, F.M.G., 2010. The use of bio-energy crops (*Zeamays*) for ‘phytoremediation’ of heavy metals on moderately contaminated soils: a field experiment. *Chemosphere* 78, 35–41.
139. Chaney, R.L., Angle, J.S., Broadhurst, C.L., Peters, C.A., Tappero, R.V., Sparks, D.L., 2007. Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *J. Environ. Qual.* 36, 1429–1443.
140. Chaudhry, T.M., Hayes, W.J., Khan, A.G., Khoo, C.S., 1998. Phytoremediation-focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils. *Aust. J. Ecotoxicol.* 4, 37–51.
141. Siddiqui, M.H., Kumar, A., Kesari, K.K., Arif, J.M., 2009. Biomining—a useful approach toward metal extraction. *American-Eurasian J. Agron.* 2, 84–88.
142. Prasad, M.N.V., 2004. Phytoremediation of metals in the environment for sustainable development. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad. Part B* 70, 71–98.
143. Jabeen, R., Ahmad, A., Iqbal, M., 2009. Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. *Bot. Rev.* 75, 339–364.
144. Denton, B., 2007. Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. *Basic Biotechnol.* 3, 1–5.
145. Clemens, S., 2001. Developing tools for phytoremediation: towards a molecular understanding of plant metal tolerance and accumulation. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 14, 235–239.
146. Seth, C.S., 2012. A review on mechanisms of plant tolerance and role of transgenic plants in environmental clean-up. *Bot. Rev.* 78, 32–62.
147. Shah, K., Nongkynrih, J.M., 2007. Metal hyperaccumulation and bioremediation. *Biol. Plant.* 51, 618–634.
148. Cobbett, C., Goldsbrough, P., 2002. Phytochelatin and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53, 159–182.
149. Yurekli, F., Kucukbay, Z., 2003. Synthesis of phytochelatin in *Helianthus annuus* is enhanced by cadmium nitrate. *Acta Bot. Croat.* 62, 21–25.
150. Zacchini, M., Pietrini, F., Mugnozza, G.S., Iori, V., Pietrosanti, L., Massacci, A., 2009. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. *Water Air Soil Pollut.* 197, 23–34.
151. Inouhe, M., 2005. Phytochelatin. *Braz. J. Plant Physiol.* 17, 65–78.
152. Cobbett, C.S., 2000. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 211–216.

150. Naees, M., Ali, Q., Shahbaz, M., Ali, F., 2011. Role of rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals: an overview. *Int. Res. J. Plant Sci.* 2, 220–232.
151. Ramamurthy, A.S., Memarian, R., 2012. Phytoremediation of mixed soil contaminants. *Water Air Soil Pollut.* 223, 511–518.
152. Ji, P., Sun, T., Song, Y., Ackland, M.L., Liu, Y., 2011. Strategies for enhancing the phytoremediation of cadmium-contaminated agricultural soils by *Solanum nigrum* L. *Environ. Pollut.* 159, 762–768.
153. Thakur, I.S., 2006. *Environmental Biotechnology*. I. K. International, New Delhi.
- Thangavel, P., Subbhuraam, C., 2004. Phytoextraction: role of hyperaccumulators in metal contaminated soils. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad. Part B* 70, 109–130.

РОЗДІЛ 3. ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ ДЕГРАДОВАНИХ ТА ЗАБРУДНЕНИХ ЗЕМЕЛЬ

3.1. Аналіз сучасних технологій фітореємедіації для відновлення техногенно порушених територій

Деградація та забруднення земель є світовою екологічною проблемою сьогодення. Впровадження сучасних екотехнологій для відновлення і рекультивації техногенних земель відповідає пріоритетам ООН щодо захисту та відновлення екосистем суші. Цей напрям отримав стратегічний державний пріоритет для України внаслідок російської агресії та в контексті Плану відновлення України за напрямом «Відбудова чистого та захищеного середовища».

Фітореємедіаційні технології представляють собою сучасну екологічну стратегію рекультивації деградованих і забруднених земель, яка базується на здатності зелених рослин очищати ґрунт, воду та повітря.

Забруднення навколишнього середовища важкими металами (ВМ), органічними речовинами та іншими забруднювачами стало серйозною проблемою як регіонального, так і світового масштабу. Проблема забруднення важкими металами актуальна для постійного розвитку гірничодобувної промисловості, збільшення темпів споживання мінеральних ресурсів, використання добрив і гербіцидів у сільському господарстві та багатьох інших впливів на природні біогеохімічні цикли. Оскільки ВМ не розкладаються, вони накопичуються в навколишньому середовищі та зрештою забруднюють харчові ланцюги екосистеми. У ґрунтах ВМ токсично діють на ґрунтову біоту, зокрема на мікроорганізми, що суттєво впливає на біопродуктивність екосистеми. Переходячи в рухому форму при зниженні рН, ВМ вивільняється в навколишнє середовище і мігрує в ґрунтах і підземних водах.

Для вирішення цієї масштабної екологічної проблеми використовуються методи фітореємедіації, які є найбільш доцільним напрямком сучасних екотехнологій відновлення земель. У широкому розумінні фітореємедіація – це екотехнологія, заснована на використанні рослин і пов'язаних із ними ґрунтових мікроорганізмів для зменшення концентрації або токсичної дії забруднюючих речовин у навколишньому середовищі. Це відносно нова технологія, яка розглядається як економічно ефективна, екологічно чиста технологія, яка дозволяє відновити потужність і біорізноманіття порушених техногенних територій до стану первинної екосистеми. Методи фітореємедіації забезпечують доступний спосіб відновлення економічної цінності забрудненої землі. Ця технологія використовує природну здатність рослин концентрувати необхідні та несуттєві елементи у своїх тканинах. Загалом, фітореємедіація вважається новою технологією, яка швидко розвивається і спрямована на видалення як органічних забруднювачів, так і ВМ [1]. Комплексний огляд сучасного стану фітореємедіаційних технологій у світовому масштабі показує, що «зелені» або

«сонячні» технології привернули все більшу увагу заради сталого розвитку до екологічних стандартів [2].

Україна посідає провідне місце в Європі та світі за покладами та видобутком залізних, марганцевих, титано-цирконієвих руд та багатьох видів іншої нерудної сировини. Енергетичні ресурси (кам'яне та буре вугілля) мають також вирішальне значення для економіки України, забезпечуючи як внутрішні потреби, так і експортний потенціал [3]. За даними бази даних Державного інформаційного геологічного фонду України, в Україні налічується 20 тис. мінерально-енергетичної сировини, у тому числі понад 3778 родовищ 100 видів корисних копалин, що розробляються гірничодобувною промисловістю. Нині в розробці та розробці родовищ корисних копалин задіяно понад дві тисячі гірничо-збагачувальних і переробних підприємств [4]. Найбільш значущими та стратегічними родовищами для економіки України вважаються залізні та марганцеві руди, титанові та цирконієві руди, вуглеводні (вугілля, нафта, газ) (рис. 3.1).

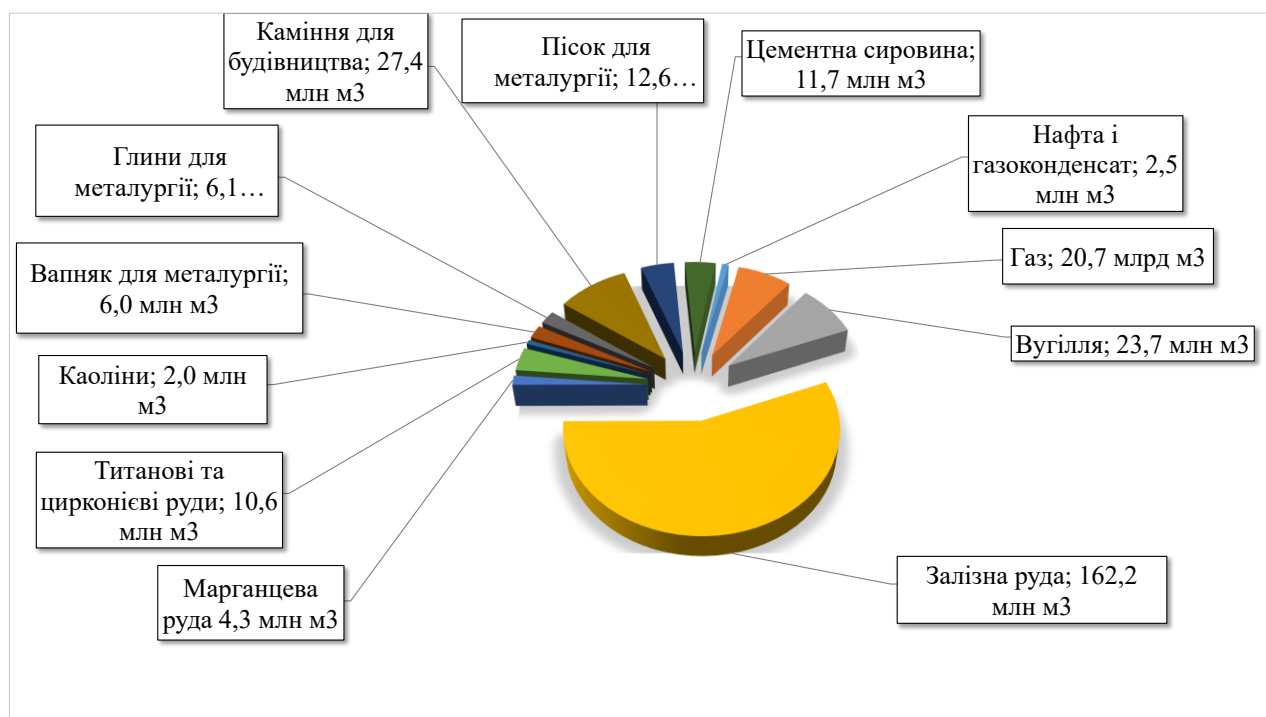


Рис. 3.1 – Видобуток мінеральної сировини в Україні

Видобуток і переробка мінерально-енергетичних ресурсів, як правило, супроводжується викидом і міграцією важких металів (ВМ), радіонуклідів і сольових розчинів, які накопичуються в ґрунтах поблизу гірничодобувних підприємств і рослинній біомасі.

Щорічно для потреб гірничодобувної промисловості виділяється 7-8 тис. га сільськогосподарських і лісгосподарських угідь. Видобуток і переробка кожного 1 млн. т мінеральної сировини при видобутку призводить до втрат землі: по марганцевій руді – 76-600 га; для залізної руди 14-640 га; для вугілля – 2,6-43,0 га; для нерудних матеріалів – 1,5-583 га [4].

Загальна площа деградованих земель в Україні (рис. 3.2) становить понад 265 тис. га [5].

В основному рекультивація деградованих земель включає комплекс технічних, біотехнологічних і організаційних заходів, спрямованих на підвищення родючості і біологічних властивостей порушених земель і відновлення родючості ґрунтів.

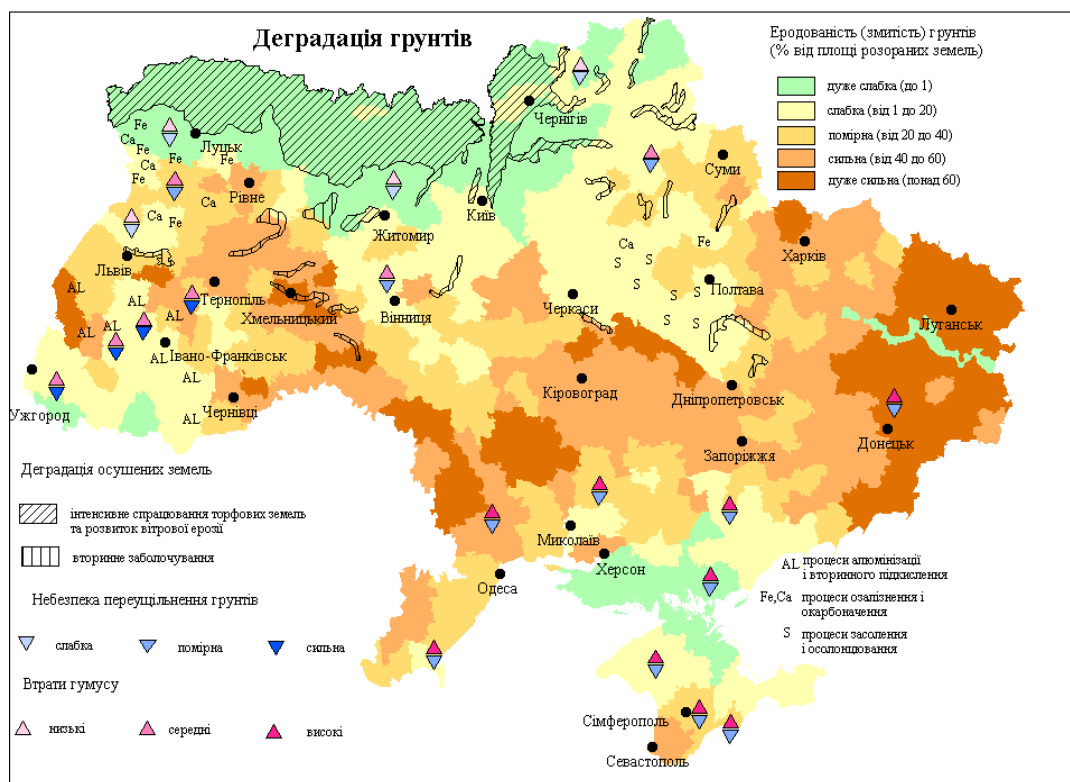


Рис. 3.2 – Карта деградації ґрунтів України [5]

Об'єктами для фітореMediaції можуть бути кар'єри, терикони, терикони, хвостосховища, відстійники, а також території, порушені при переробці та збагаченні корисних копалин (деформації та просідання ґрунту, шламонакопичувачі, карстові провали, ерозія тощо).

3.2 Прикладні аспекти щодо технологій фітореMediaції та рекультивації деградованих земель і техногенних територій

Гірничодобувні землі представляють собою різноманітні території, на які впливають різноманітні технології видобутку та переробки мінеральної сировини, що призводить до утворення пустирів із довготривалими процесами деградації та забруднення переважно ВМ та сольовими розчинами. Зниження рН і міграція кислотних розчинів з високим вмістом ВМ і токсичних солей можуть мати серйозні наслідки для навколишнього середовища. Значення рН породної маси розкриття можуть зменшуватися під природним і техногенним впливом, а

ВМ можуть потрапляти в навколишнє середовище та спричиняти потенційні екологічні ризики для навколишніх ґрунтів, поверхневих і підземних вод, рослин тощо. Підкислення матеріалу відвалу через окиснення сульфідних мінералів може сприяти мобілізації елементів і поглинанню рослин.

Сульфіди, переважно пірит (до 4% відходів), широко поширені в породних відвалах, щойно вивезені внаслідок видобутку вугілля в Західному Донбасі (Східна Україна). Окиснення піриту в присутності кисню і води супроводжується низьким рН матеріалу відвалу 2,9-3,2. Низький рН призводить до перетворення токсичних металів та інших елементів, присутніх у пустих породах (наприклад, Fe, Al, Mn, Zn, Mo, Co, As, Cd, Bi, Pb, U) у рухливі форми. Деякі місцеві рослини, які зустрічаються в природних екосистемах, можна використовувати для стабілізації та зменшення рухливості металів. Наприклад, фітоценози розкритих відвалів представлені такими домінуючими видами дикорослих злаків: бромopsis інерміс, полин австрійський; *Festucas* pp., *Lathyrus tuberosus*, *Inula* sp., *Calamagrostis epigeios*, *Lotus ucrainicus* і *Vicias* pp. Ідентифікація конкретних рослин із толерантністю до цільового металу є ключовим питанням у техніках відновлення ґрунту, фітостабілізації та фітодеградації [6].

Деякі місцеві види трав, такі як ячмінь (*Hordeum murinum*) і бромус японський (*Bromus japonicus*), мають високу здатність до поглинання та накопичення Co, As, Cu, Pb, Mn, Zn і Cr у породних відвалах вугільної шахти через зниження рН. значення у вивітрених породах [7].

Рекультивация гірничих угідь на кар'єрі марганцевих руд Покровського гірничо-збагачувального комбінату проводиться шляхом нанесення шару м'якого аргіліту, потім шару чорнозему (чорнозему) висотою 0,5 метра з подальшим посівом культур і багаторічних насаджень. трави [8].

Методика фіторемедіації техногенно забруднених ґрунтів ВМ в районі зон впливу ВАТ «Укрцинк» та ВАТ «Авдіївський коксохімічний завод» (Донецька область, Україна) передбачала використання домінантних трав'янистих дикорослих видів рослин-фіторемедіантів, таких як: як пірій (*Agropyron glaucum*), конюшина біла (*Melilotus albus*) і цикорій звичайний (*Cichorium intybus* L.). Застосування домінантних дикорослих видів рослин різних конкуруючих родин забезпечує ефективну фітоекстракцію ВМ із ґрунту у таких пріоритетних сировинах: Poaceae – Cr>Zn>Ni>Cd>Cu>Pb; Fabaceae – Cr>Ni>Zn>Pb>Cd; Айстрові – Cr>Ni>Zn>Cd>Pb [9].

Дослідження біорізноманіття на відвалі покинутої вугільної шахти «Селидівська» (ДП «Селидіввугілля», м. Селидове, Східна Україна) показало домінантні види рослин для подальшої фіторемедіації гірничих земель [10].

В Україні реалізуються сучасні технології рекультивації розкритих порід при відкритому способі розробки корисних копалин з елементами ресурсозбереження [11].

Експерименти з рекультивації шахтних земель Нікопольського марганцеворудного району та Західно-Донбаського району вугільних родовищ показують, що застосування дикорослих видів *Bromopsis inermis* і *Lathyrus*

tuberosus як піонерних фітоценозів може бути ефективною частиною фітореMediaційних і фітомінінгових технологій рекультивації відвалів [12], [13].

Застосування біовугілля як ґрунтової добавки для підвищення продуктивності ґрунту, накопичення ВМ та теплових характеристик енергетичних культур є досить ефективною практикою для постмайнінгових земель. Додавання біовугілля до малогумусного чорнозему та червоно-бурої глини покращує схожість насіння на 1,5-15% та збільшує надземну біомасу та ріст коренів, впливає на інтенсивність накопичення ВМ кукурудзи (*Zea mays*), суданської трави (*Sorghum bicolor*) тощо [14]. Крім того, додавання біовугілля інтенсифікує процеси росту рослин від 7-30 % (*Helianthus annuus*) до 20-88% (*Miscanthus × giganteus*) [15] і демонструє сильні адсорбційні ефекти для іонів хрому [16].

Біологічна рекультивація породного відвалу Червоноградського гірничопромислового району (Львівська область, Західна Україна) передбачала використання родючого ґрунту з комплексними мінеральними добривами та насінням ріпаку (*Brassica napus* L.), (*Barbarea vulgaris* R. Br.), тайфуну (*Brassica rapa* L.) [17].

Запропоновано методику фітореMediaції засолених ґрунтів або відвалів гірських порід у гірничодобувних регіонах із застосуванням буркуну (*Melilotus albus*) і буркуну (*Melilotus officinalis*), які мають сильний опріснювальний ефект і здатність накопичувати гумус у ґрунтах [18].

Дерева акації (*Robinia pseudoacacia* L.) та сосни кримської (*Pinus pallasiana* L.) широко поширені в північному Степу України та використовуються для рекультивації гірничих угідь та біоаккумуляції ВМ (Cu, Ni, Cd, Zn, Pb, Cr, Sb, Sn та Mn) у біомасі листя (листя та хвої) у 2,2-6,7 рази порівняно з шахтною породою [19], [20]. У випадку біологічного етапу рекультивації відвалу на шахті «Чорноморка» (м. Лисичанськ, Луганська обл., Східна Україна) гарною практикою можуть бути саджанці дерев дуба (*Quercus robur*) [21].

Фосфогіпсові відвали, як частина технології виробництва фосфорних добрив (Сумська область, Північна Україна), негативно впливають на навколишнє середовище, а біорізноманіття їх фітоценозів залежить від віку терас і значення рН, яке коливається від 2,5 до 5,3 [22]. Вивчення біорізноманіття дозволяє розробити стратегію повної рекультивації відвалу для конкретної ділянки з використанням місцевих рослин, таких як багаторічні трави та дерева *Populus tremula*, *Populus alba*, *Betula pendula* та *Robinia pseudoacacia* [23].

Україна є провідною країною світу з видобутку урану і має кілька розвіданих родовищ урану, найбільші з яких розташовані в Кіровоградській області (Центральна Україна). Після аварії на Чорнобильській АЕС українські території все ще стикаються з довгостроковими екологічними наслідками радіоактивного забруднення. Постійне застосування фітотехнологій в околицях Чорнобиля дозволило видалити цезій-137 і стронцій-90 з ґрунту за допомогою рослин соняшнику (*Helianthus annuus*). Різноманітність видів *Amaranthaceae* (*Amaranthus bicolor* L., *A. caudatus* L., *A. cruentus* L., *A. hybridus* L., *A. retroflexus* L.), гірчиця індійська (*Brassica juncea*), кукурудза (*Zea mays* L.), горох (*Pisum*

sativum L.), топінамбур (*Helianthus tuberosus* L.), соняшник (*Helianthus annuus* L.) та соняшник х топінамбур гібридний (*H. tuberosus* L. х *H. annuus* L.). експерименти [24].

Також радіонукліди та ВМ можуть фіксуватися в ґрунті органо-мінеральним біокомпозитом на основі осадів стічних вод та фосфогіпсу (побічного продукту виробництва фосфорних добрив) після анаеробного бродіння [25].

Деякі енергетичні культури, такі як *Camelina sativa* L., *Melilotus officinalis* L., *Brassica napus* L., світчграс – *Panicum virgatum* L., *Miscanthus giganteus* L., *Salix* L., *Populus* L., можна використовувати не лише для виробництва біопалива, а й у біоремедіації. технології ґрунтів, забруднених радіонуклідами, ВМ, пестицидами, нафтою і нафтопродуктами. Ці рослини дуже добре ростуть на малородючих ґрунтах, виробляють потужну біомасу та ефективно поглинають забруднюючі речовини [26].

Біологічна рекультивація забруднених нафтою земель – це процес використання біологічних методів для очищення ґрунту та відновлення екосистеми, яка постраждала від нафтопродуктів, розливів нафти тощо. Цей процес може включати використання бактерій, грибів, рослин та інших живих організмів для розкладати забруднюючі речовини та відновлювати природне середовище. Для ґрунтів, забруднених нафтопродуктами, традиційно використовують специфічні рослини, здатні до фітоволаталізації, а саме: дерева роду Тополя (*Populus nigra*), трави роду Жито (*Secale cereale*), сорго (Сорго звичайне), конюшина біла (*Trifolium repens* L.), люцерна (*Medicago sativa*), кульбаба (*Taraxacum officinale*), *Xanthium strumarium*, *Artemisia absinthium*, *Artemisia vulgaris*, *Erigeron canadensis*, *Achillea millefolium*, *Elymus repens*, *Daucus carota* [27], обліпиха (*Hippophae rhamnoides*) [28], *Carex hirta* L. [29].

Запропоновано альтернативні методи фіторемедіації нових насипів того ж Бориславського озокеритового родовища (Львівська область, Західна Україна) з використанням фенологічних показників культурних рослин (*Lupinus albus* L., *Trifolium hybridum* L., *Dactylis glomerata* L., *Lolium multiflorum westerwoldicum*) та мікробіота [30].

У роботі [31] представлено дослідження найпоширеніших гербіцидів на основі гліфосату, які використовуються для обробки залізниць. Залізничний баласт містить значну кількість Fe, Mn, Cu, Cr і Ni, що можна пояснити впливом механічних сил, таких як тертя та тривалі деформації рейок. Проте досліджувані гербіциди містять Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb та Zn. Найбільший вміст Cd, Cr, Ni та Pb виявлено у гербіциду «Антиборт польовий», що можна пов'язати з його складним складом.

Міські території представляють особливий інтерес з точки зору екологічних проблем та шляхів їх вирішення фіторемедіаційними методами. Сучасні міста являють собою агломерації з щільною забудовою, багатопрофільними виробництвами, інтенсивними транспортними потоками та розвиненою інфраструктурою. Фіторемедіація міських ґрунтів, забруднених ВМ, передбачає як екологічний, так і естетичний підходи. Наприклад, застосування люцерни (*Medicago sativa*) у поєднанні з детоксикацією водним розчином карбонату калію

K_2CO_3 та мікробіологічного біокомплексу БТУ-р з мікробіологічним препаратом може бути дуже ефективним для зниження вмісту ВМ у міському середовищі [32]. Практичні досліди петрушки городньої (*Petroselinum crispum*) у поєднанні з регулятором росту рослин «Корневін» підтвердили високу ефективність для фітоекстракції ВМ з міських і техногенно забруднених чорноземів. Удосконалення технології фітоекстракції призвело до збільшення коефіцієнта накопичення ВМ у надземній біомасі в 5,5-7,6 разів, а в коренях до 8,4 разів [33]. Застосування флокульованого осаду стічних вод для вирощування міскантусу на постгірничих землях також є ефективним способом фіторемедіації [34].

Навіть вирощування зернових культур, таких як кукурудза (*Zea mays*) або пшениця (*Triticum vulgare* L.) на забруднених ґрунтах демонструє помірний гіперакумулятивний ефект для Zn, Cu, Cd, Pb з перевищенням гранично допустимих концентрацій (ГДК) у 1,6, 1,8, 19,8, 2,4 разів відповідно [35].

Дерева відіграють надзвичайно важливу роль в очищенні навколишнього середовища. Наприклад, досліди з паростками п'яти видів деревних рослин *Gleditsia triacantos* L., *Quercus robur* L., *Lonicera tataricum* L., *Eleagnus angustifolia* L., *Robinia pseudoacacia* L., культивованих у ґрунті, забрудненому фтором і сульфідом, показали стійкість до забруднення навколишнього середовища [36]. Аналіз вмісту ВМ у коренях дерев *Salix cinerea* L. та *Carpinus betulus* L., *Prunus spinose* L., *Acer negundo* L., *Populus nigra* L., *Fagus sylvatica* L., *Malus sylvestris* Mill., *Salix alba* L. на Броницьке сміттєзвалище (Львівська область, Західна Україна) демонструє накопичення Cu, Zn, Pb, Cd, Co в межах 4-7 разів порівняно з гранично допустимими концентраціями (ГДК). Коріння дерев максимально накопичує ВМ, що зумовлює очищення субстрату на цьому об'єкті і за рахунок цього скорочується міграційний ланцюг забруднення [37].

На рис. 3.3 наведено короткий огляд підходів до фіторемедіації та відновлення деградованих земель із використанням різних рослин.

Дійсно, біологічна рекультивація урбанізованих і антропогенних територій охоплює широкий спектр напрямів відновлення деградованих ґрунтів і поліпшення природного середовища біологічними методами. Найперспективнішими методами можуть бути меліоративні заходи, впровадження зелених насаджень, розвиток лісопаркових зон і зелених мереж, розширення біорізноманіття тощо. Проте всі зелені технології базуються на точному відборі цільових видів рослин, придатних для адаптації в забрудненому середовищі, ефективний розвиток техногенної екосистеми та подальша фіторемедіація земель за допомогою різноманітних підходів, таких як фітоекстракція, фітостабілізація, ризодеградація тощо.

Таким чином, питання відновлення деградованих земель, техногенних і міських територій України спрямовані переважно на біологічну рекультивацію. Фіторемедіація може бути ефективним способом зменшення міграції та впливу ВМ на навколишнє середовище.

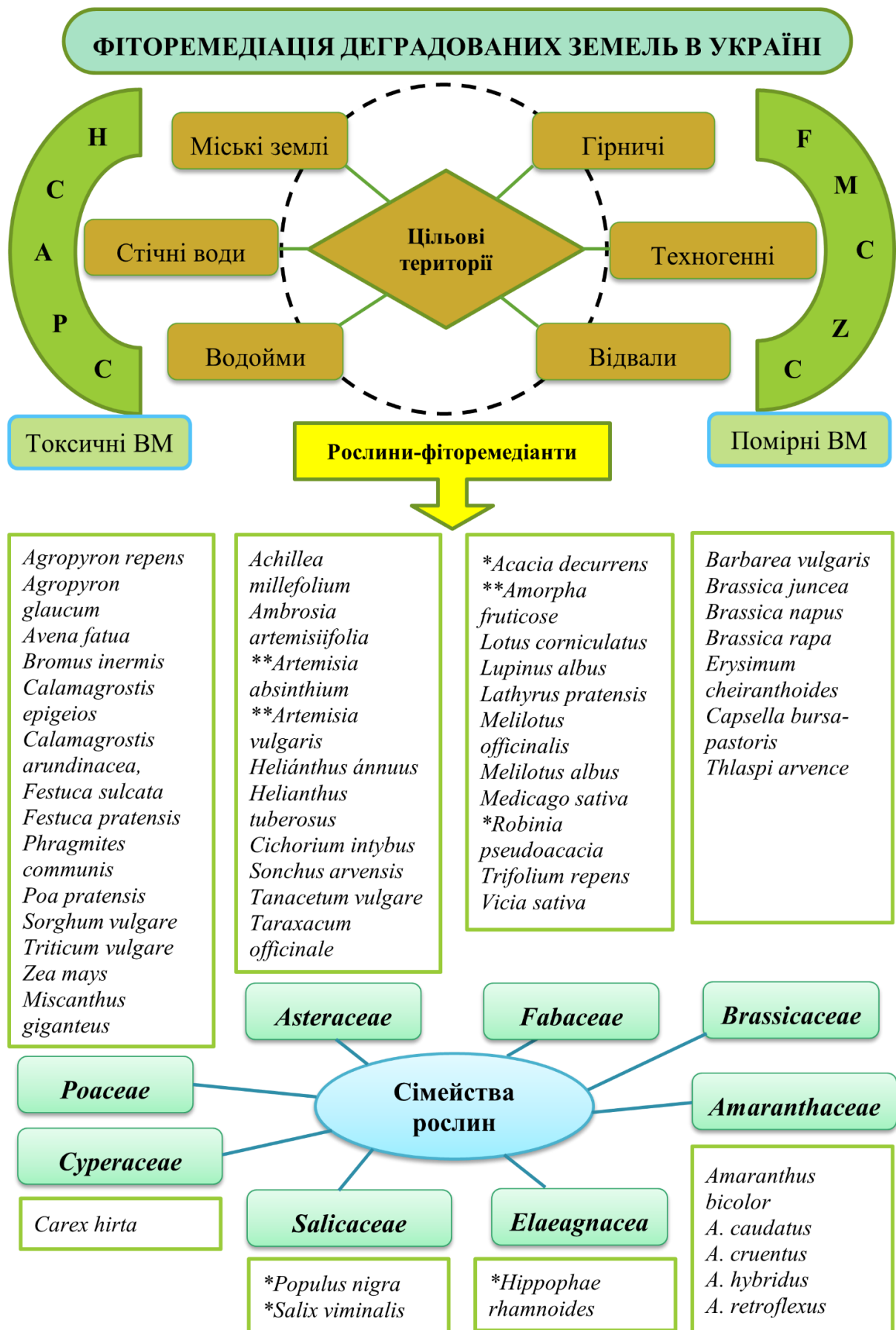


Рис. 3.3 – Підходи до фіторемедіації та відновлення деградованих земель

Як правило, відновлення деградованих територій залежить від здатності обраних рослин не тільки поглинати забруднювачі, але й демонструвати розвиток сталого фітоценозу та забезпечувати формування техногенної екосистеми.

3.3. Обґрунтування способу і технології фітореMediaції породного відвалу вугільної шахти

Враховуючи вищенаведений огляд та досягнення фітореMediaції, запропоновано технологію рекультивації породного відвалу для конкретної ділянки. Метою екотехнології є удосконалення способу фітореMediaції гірничого вугільного відвалу композиційними біогумусними брикетами з насінням рослин. Ці брикети складаються із суміші природного суглинку, біогумусу, агар-агару та насіння домінуючих дикорослих трав'янистих рослин із сімейств Poaceae, Fabaceae та Brassicaceae.

Для фітореMediaції породних відвалів вугільної промисловості пропонується використовувати такі установки: *T. aestivum L.*, *H. murinum L.*, *B. japonicas*, *B. inermis holub*, *A. fatua L.*, *Dactylis L.*, *B. ramosa*, *P. sativum L.*, *T. pratense L.*, *S. alba L.*, *Capsella bursa-pastoris L.* Досліджувані рослини показали стресостійкість до специфічних умов степової зони України, а також стійкі до впливу солей важких металів на їх ростові показники.

Суміш для приготування брикетів складається з натурального суглинку, біогумусу, агар-агару та домінуючих трав'янистих дикорослих видів рослин родини Poaceae, Fabaceae та Brassicaceae. Брикети можна розміщувати на схилах і терасах породних відвалів вугільної промисловості в умовному шаховому порядку, що створює умови для росту рослин і розвитку рослинних угруповань, адаптованих до степової зони України. Запропонована технологія фітореMediaції породних відвалів вугільної промисловості дозволяє створити первинний рослинний покрив з подальшим створенням сприятливих умов для рослин вищого класу та зменшує техногенний вплив відвалу на навколишнє середовище за рахунок зменшення вітрової та водної ерозії.

Обґрунтовані параметри фітореMediaції хвостосховищ шахт для зменшення викидів вуглецевого пилу в атмосферу. В результаті проведених досліджень встановлено, що породний відвал вугільної шахти «Західно-Донбаська» ПАТ «ДТЕК «Павлоградвугілля» є джерелом забруднення атмосферного повітря частинками пилу в кількості 227,8 т/рік. Розраховано фітореMediaцію даного відвалу та встановлено необхідність фітореMediaції поверхні вугільного відвалу для зменшення виносу пилу з даного вугільного відвалу.

Технологія фітореMediaції гірничо-вугільних відвалів включає такі логічні етапи:

1 етап: Вибір технології рекультивації вугільного відвалу, виходячи з природно-кліматичних особливостей місцевості, попереднього лабораторного

біотестування рослинами фітопрепаратів, оцінки рівня забруднення та інших факторів навколишнього середовища.

Етап 2: Дослідження фізико-хімічних характеристик вугільного відвалу з акцентом на вміст важких металів і основних поживних речовин, таких як калій, азот і фосфор.

Етап 3: Вибір методу фіторемедіації та рослин фіторемедіантів із родин Poaceae, Fabaceae та Brassicaceae. Особлива увага приділяється використанню місцевих дикорослих трав, які є стійкими до факторів зовнішнього середовища.

Етап 4: Обґрунтування складу композиційних брикетів для фіторемедіації, що містять насіння таких видів, як *Hordeum murinum L.*, *Bromus japonicus*, *Bromus inermis Holub*, *Avena fatua L.*, *Dactylis L.*, *Bromus ramosus*, *Pisum sativum L.*, *Trifolium pratense L.*, *Sinapis alba L.* і *Capsella bursa-pastoris L.*, серед інших. Конкретний склад і види рослин підбираються відповідно до особливостей місця фіторемедіації.

Етап 5: Виготовлення композитних брикетів в лабораторних умовах або на прес-екструдері, де суміш глини, біогумусу та агар-агару змішується в певних пропорціях. У процесі екструзії отримують брус прямокутного перерізу з вологістю $W = 15\%$, який потім розрізають на брикети необхідного розміру.

Етап 6: Розміщення брикетів на поверхні вугільного відвалу в шаховому порядку, що є ключовим елементом запропонованої технології фіторемедіації. Це робиться вручну по нижній і верхній кромках схилу відвалу або на поверхні терас.

Етап 7: Оцінка показників росту тестових рослин та ефективності створення початкового рослинного покриву, включаючи моніторинг фіторемедіаційних заходів.

Етап 8: Еколого-економічна оцінка технології фіторемедіації та визначення зменшення техногенного впливу відвалів на довкілля.

Впровадження нових технологічних операцій, які спрощують процес виготовлення брикетів, підвищують їх міцність і довговічність, створюють оптимальні умови для росту рослин на відвалах. Це сприяє формуванню стійких рослинних угруповань і мінімізує процеси вітрової та водної ерозії, тим самим підвищуючи ефективність природокористування та забезпечуючи екологічну безпеку ділянки.

На рис. 3.4 показані брикети з глини та біогумусу.

Виробництво композиційних біогумусних брикетів в лабораторних умовах здійснюється таким чином. Композитні брикети формуються в пластикові форми певних розмірів: 11 см в довжину, 8 см в ширину і 5 см у висоту. Для виготовлення одного брикету необхідно 250 г суглинку, 100 г біогумусу, 30 г насіння рослин, 4-5% агар-агару від загальної маси, вологість 15%.

Форми заповнені сумішшю натурального суглинку, біогумусу та насіння рослин родини Poaceae, Fabaceae та Brassicaceae. Відповідно до експериментальних даних, представлених на етапі 3, найбільш придатними та стресостійкими рослинами для фіторемедіації породних відвалів є *Hordeum murinum L.*, *Bromus japonicus*, *Bromus inermis Holub*, *Avena fatua L.*, *Dactylis L.*

(садова трава) , *Bromus ramosus* (волосистий), *Pisum sativum* L. (горох звичайний), *Trifolium pratense* L., *Sinapis alba* L. і *Capsella bursa-pastoris* L. Для збереження форми брикету суміш заливають розчином агар-агару і витримують у стандартних умовах до стабілізації агар-агару.

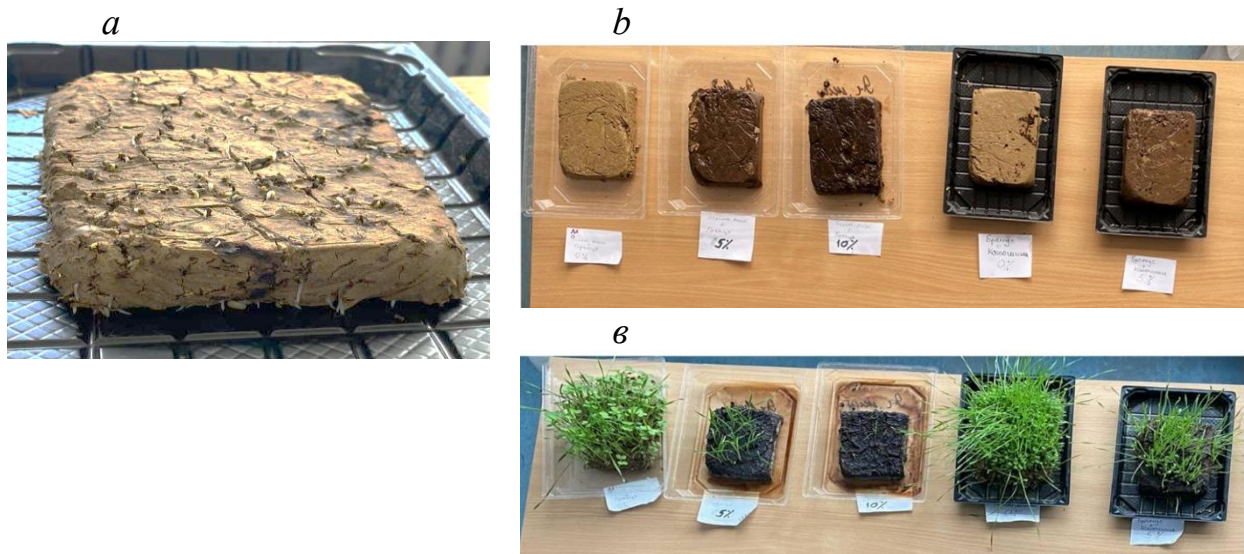


Рис. 3.4 – Композитні суглинково-біогумусні брикети з насінням рослин: а – загальний вигляд, б – брикети з різним вмістом складових, в – композиційні брикети з досліджуваними рослинами (21-а доба вегетаційного дослідження).

Брикети розташовуються в шаховому порядку на схилах і терасах відвалів, створюючи сприятливі умови для росту рослин і розвитку рослинних угруповань, адаптованих до кліматичних умов степової зони України. Розміщення брикетів у шаховому порядку на 1 м² має декілька переваг, які підтверджують ефективність цього підходу:

- *розподілу* шаховому порядку забезпечує рівномірний розподіл брикетів по площі, дозволяючи рослинам оптимально використовувати наявні ресурси, такі як світло, вода та поживні речовини;
- *оптимальний інтервал* розташування запобігає надмірному ущільненню або надмірно великим зазорам між брикетами, забезпечуючи оптимальні умови для росту і розвитку рослин;
- *боротьба з ерозією* має важливе значення, оскільки рівномірний рослинний покрив знижує ризик вітрової та водної ерозії, оскільки рослини та їх коренева система ефективніше стабілізують ґрунт;
- *стійкість схилів* забезпечується шаховим розташуванням, що підвищує локальну і загальну стійкість схилів і терас, запобігаючи їх зрушенню або переміщенню гірської маси під дією природних факторів, таких як дощ або вітер;
- *підвищення біорізноманіття* є наступним логічним етапом, який створює передумови для розселення та розвитку різних видів рослин, які можуть співіснувати та ефективно взаємодіяти, сприяючи розвитку стійких екосистем та збільшуючи біорізноманіття;
- *ефективність фіторе mediaції* є ключовим критерієм загальної ефективності запропонованої фіторе mediaційної екотехнології, оскільки рослини

можуть більш ефективно поглинати забруднювачі по всій території, сприяючи очищенню ґрунту та покращенню екологічного стану ділянки.

Технологія виробництва брикетів показана на рис. 3.5.

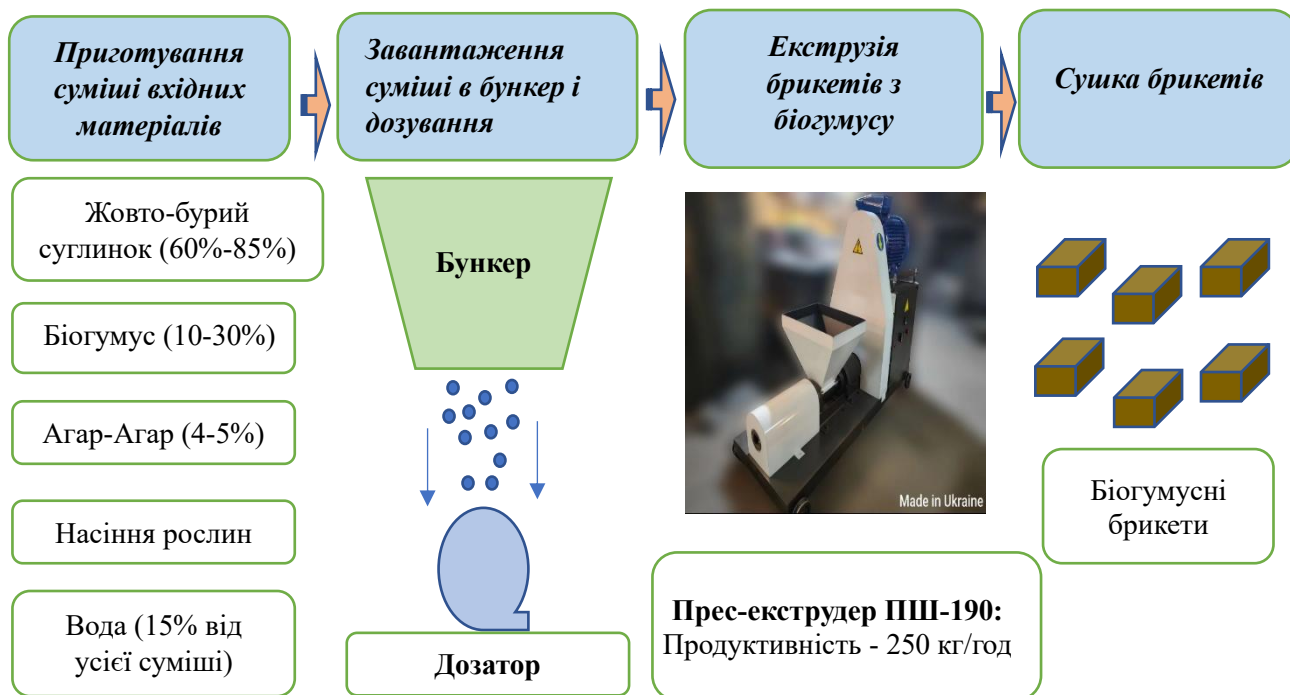


Рис. 3.5 – Виробництво композиційних брикетів для фіторекультивації

Брикети планується закладати на вугільний відвал у весняний період, на початку вегетації рослин. Для ефективної фіторемедіації та посилення фіторемедіаційних властивостей рослин рекомендується використовувати 14 брикетів на 1 м², розташованих у шаховому порядку на однаковій відстані один від одного в три ряди. Перший і третій ряди містять по п'ять брикетів, а другий – чотири. Загальна кількість брикетів залежить від площі відвалу (рис. 3.6).

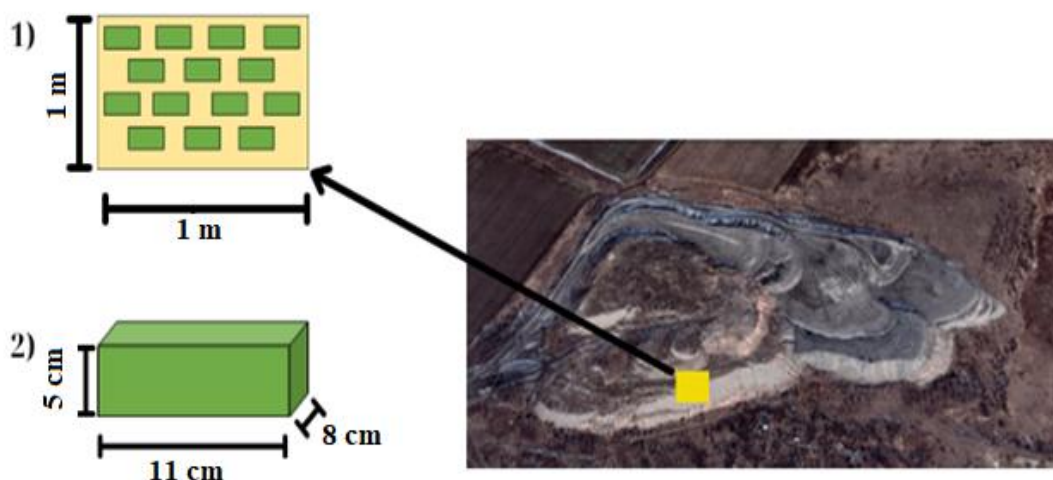


Рис. 3.6 – Схема розміщення брикетів на схилах і терасах відвалу:
1 – схема розміщення брикетів на 1 м²; 2 – розміри біогумусового брикету.

Під впливом атмосферних опадів та інших природних факторів брикети розм'якшуються і руйнуються, створюючи ідеальні умови для росту рослин. Використання біологічних матеріалів при формуванні композитних брикетів гарантує відсутність додаткового антропогенного навантаження на породні відвали вугільної промисловості, що робить цей метод екологічно чистим.

Як наслідок, спрощений процес виробництва та стратегічне розміщення брикетів зменшують трудомісткість процедури. Включення стабілізуючого агента агар-агару підвищує міцність і довговічність структури брикету, дозволяючи йому зберігати форму при транспортуванні і укладанні на купу. Насіння в композитних брикетах фіксується в зоні комфорту для росту, а різноманітність насіння покращує процес фіторемедіації. Ці брикети можна розміщувати як на схилах, так і на терасах без необхідності додаткового кріплення, завдяки власній вазі та формі.

На рис. 3.7 показано укладання брикетів на поверхню вугільного відвалу в рамках технології фіторемедіації. Брикети накладають на верхній і нижній бровка відвалу за допомогою робочої сили. Це дозволяє уникнути більшої вартості етапу біологічної рекультивациі та забезпечити безпеку персоналу.

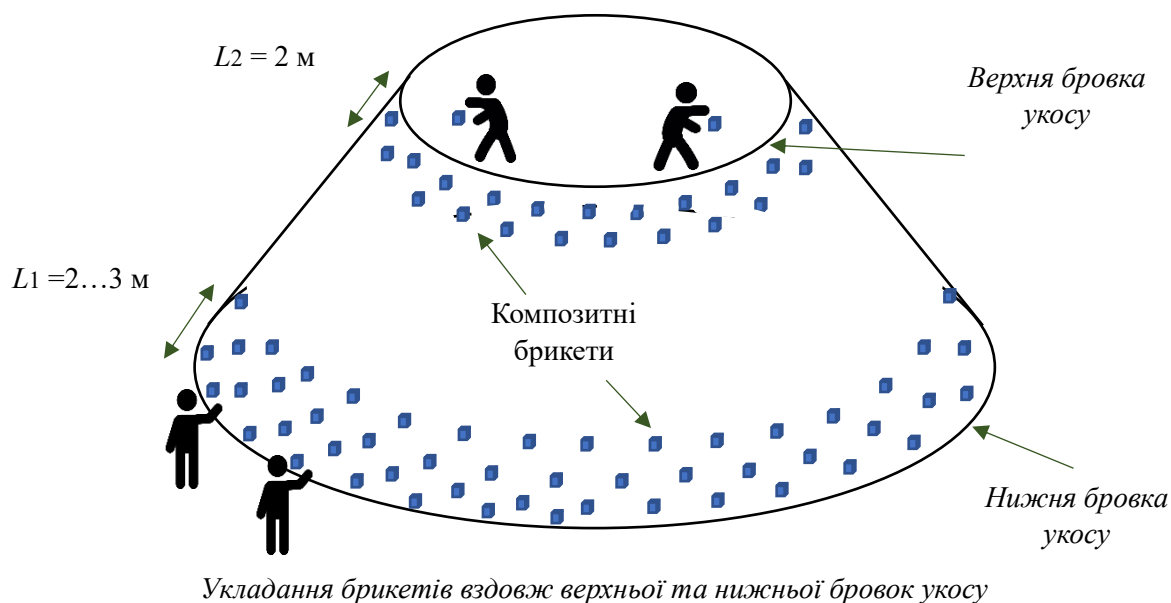


Рис. 3.7 – Технологія укладання біогумусних брикетів на поверхню відвалу

Запропонована технологія фіторемедіації вугільних відвалів дозволяє проводити ефективну фіторемедіацію за відповідних кліматичних умов. Це сприяє формуванню початкового рослинного покриву, що створює сприятливі умови для подальшого розвитку вищих рослин.

Доцільність та ефективність обраної технології фіторемедіації підтверджується такими факторами:

1. *Вразливість до ерозії:* Верхній і нижній краї відвалу найбільш вразливі до ерозії. Нанесення брикетів на ці ділянки допомагає стабілізувати верхні шари шахтних відходів, запобігаючи ерозії та зсувам.

2. *Цільове застосування*: Обмеження ширини нанесення до 2-3 метрів дозволяє зосередити зусилля та матеріали на найбільш критичних зонах, забезпечуючи максимальну ефективність при мінімальних витратах ресурсів.

3. *Використання робочої сили* для розміщення брикетів у цих зонах є найбільш безпечним і практичним способом, який знижує ризики травмування працівників при роботі на похилих, а часом і нестійких поверхнях відвалу.

4. *Точне розміщення*: Ручне розміщення брикетів забезпечує точний, рівномірний і контрольований розподіл, що є вирішальним для створення оптимальних умов для росту рослин.

5. *Мінімізація впливу на навколишнє середовище*: використання ручної праці зменшує потребу в механізованому обладнанні, мінімізуючи додатковий техногенний вплив на відвал та прилеглі території, а також зменшуючи ризик подальшої деградації субстрату шахтних відходів.

6. *Створення мікроклімату*: застосування брикетів з біогумусу в цих критичних зонах сприяє створенню мікроклімату, сприятливого для росту рослин, що сприяє швидшій стабілізації та рекультивації всієї поверхні відвалу.

7. *Економічна ефективність*: ручне розміщення композитних брикетів є економічно життєздатним рішенням, яке дозволяє уникнути потреби у значних фінансових інвестиціях.

Відповідно до розрахункових розрахунків, загальні витрати на проведення фіторекультивації породного відвалу становлять 265,6 тис. грн за визначену площу 1700 м² за один вегетаційний сезон або 156,2 грн за 1 м² [38].

Описаний вище спосіб може бути застосований під час біологічної рекультивації вугільних відвалів вуглевидобування, в екологічному контролі забруднених ґрунтів на гірничо-видобувних, промислових та забруднених територіях з низькою вологістю і високою температурою задля повернення цих територій до стану родючості та використання їх у секторі сільського господарства та зменшення впливу відвалів відходів вуглевидобування і забруднюючих речовин, що в них вмістяться, на навколишнє середовище.

Внаслідок атмосферних опадів та інших природніх чинників брикет *I* розм'якшується та розмокає, що створює особливі умови для росту рослин. При формуванні композитного брикету *I*, використовуються біологічні матеріали, які не створюють додаткового антропогенного навантаження на відвали відходів вуглевидобування, що робить даний метод максимально екологічним.

Таким чином, за рахунок спрощеного процесу виготовлення та розташування брикетів *I* знижується трудомісткість процесу, за рахунок введення фіксуєчої речовини агар-агару збільшується міцність та надійність структури брикету, що дозволяє тримати форму брикету при транспортуванні та розміщенні його на території відвалу, фіксується насіння рослин в композитному брикеті в межах зони комфорту росту рослин, а різноманіття насіння рослин покращує процес фіторемедіації. Такі брикети можна розташовувати як на укосах, так і на терасах, вони не потребують додаткової фіксації за рахунок власної ваги та форми.

Запропонований спосіб біологічної рекультивації відвалів відходів вуглевидобування дає змогу ефективно проводити процес фіторе mediaції в умовах характерних кліматичних умов, дозволяє створити первинний рослинний покрив, з розрахунком на подальше створення сприятливих умов для рослин вищих класів, зменшує техногенний вплив відвалу на навколишнє середовище, за рахунок зменшення вітрової та водної ерозії [39].

3.4. Дослідження перспектив використання композитних брикетів з відходів кави для технологій фіторе mediaції деградованих земель

Земельні ресурси мають вирішальне значення в житті людини, адже стан ґрунтів може суттєво вплинути на якість життя всіх живих організмів. Тому проблема збереження та відновлення родючого потенціалу земель завжди буде актуалізуватися в суспільстві та мати першочерговий пріоритет [40].

Щороку в світі збільшуються площі деградованих земель і безперечно головною причиною тому є антропогенний вплив, що виражається широким спектром людської діяльності: транспорт, промисловість, сільське господарство, енергетика, комунальне господарство, військові дії та інше [41].

Важко перелічити всі можливі шляхи впливу людини на стан ґрунтів, проте можна виділити декілька найбільш суттєвих, серед яких вплив агропромислового сектору, що виражений інтенсивною сільськогосподарською діяльністю та неконтрольованим внесенням мінеральних добрив чи різноманітних хімічних препаратів [42].

У якості сучасної практики відновлення родючості забруднених та деградованих земельних територій застосовують заходи фіторекультивації. Ідея полягає в тому, щоб вирощувати на порушених ділянках зелені насадження, що мають меліоративні властивості та здатні поліпшувати показники ґрунту [43].

Для забезпечення сприятливих умов зростання рослин потрібно застосовувати комплексне живлення, що передбачає помірне внесення органічних та мінеральних добрив. Ідея експерименту полягає в обґрунтуванні перспектив часткового підживлення фітоценозів за рахунок внесення відходів кави.

У сучасному світі кавові напої та продукти на основі чи з додаванням кави набувають неабиякої популяризації серед населення, що сприяє утворенню все більшої кількості характерного відходу і те, що ці відходи переважно складаються на сміттєзвалищах створює реальну шкоду для довкілля [44].

Кавова гуща може бути цінним матеріалом, бо навіть після приготування кави має в своєму складі багато мікро- та макроелементів, а також багато органічних речовин [45], [46].

Тому концепція цілеспрямованого використання кави у якості біодобрива може запобігти забрудненню навколишнього середовища за рахунок зменшення кількості відходів, що складаються на сміттєзвалищі, а також за рахунок свого цінного складу, сприяти відновленню природних комплексів.

Таким чином, мета даного дослідження полягає в обґрунтуванні використання кавових відходів у якості добрива для живлення рослин-сидератів,

що проявляють меліоративні властивості, а також виявленні оптимальної концентрації відходів кави за якої спостерігається найліпші показники приросту фітомаси.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені такі завдання:

1. Визначити особливості проведення експериментів з вирощування рослин.
2. Провести ростовий експеримент з вирощування рослин-фіторемедіантів: гірчиця біла (*Sinapis alba*), сорго трав'янисте (*Sorghum bicolor*) та стоколос безостий (*Bromopsis inermis*) в середовищах з різною концентрацією відходів кави.
3. Виміряти ростові показники піддослідних рослин та провести статистичний аналіз отриманих результатів.
4. Проаналізувати залежність ростових показників рослин від умов середовища в яких вони зростали та визначити оптимальну концентрацію кави за якої спостерігаються найкращі показники приросту біомаси.

Для вирішення поставлених завдань використані такі методи дослідження: науковий пошук за літературними та електронними джерелами – при визначенні особливості проведення та оцінки експерименту з вирощування рослин; фітотестування – лабораторний метод вивчення рослин в контрольованих умовах; ростовий тест – один з методів проведення фітотестування, що базується на визначенні закономірності між ростовими показниками рослин та впливом контрольованого фактору; методи статистичного аналізу.

Для дослідження характеру та інтенсивності впливу кавової гущі на піддослідні рослини потрібно провести ростовий тест. Цей експеримент являє собою вирощування тест-об'єктів (рослин) в лабораторних умовах з метою визначення кореляційного зв'язку між ростовими показниками функціональних частин рослинних культур (довжини кореневої системи та висоти стебла) залежно від інтенсивності дії контрольованого фактору (у даному випадку концентрація кавової гущі в складі субстрату ґрунту). У якості тест-об'єктів обрані: гірчиця біла (*Sinapis alba*), сорго (*Sorghum bicolor*) та стоколос безостий (*Bromopsis inermis*). Ці рослини є типовими прикладами широко застосовуваними фіторемедіантами, можуть проявляти неабиякий позитивний ефект на стан ґрунтів.

Експеримент проводився в лабораторних умовах протягом трьох тижнів при середніх значеннях температурного режиму в приміщенні 16-20 °С. У перший день рослини висаджували в спеціальну форму для пророщування рослин, що складається з 18 комірок (об'єм однієї комірки 180 см³). В кожену комірку засипали підготовлений субстрат, що містив ґрунтову суміш та відходи кави різної концентрації за масою.

В досліді використані такі види ґрунтових субстратів: суглинок темно-бурий щільний, ґрунт (чорнозем) та промитий річковий пісок. Для кожної рослини-сидерату підібрано субстрат для проведення ростового тесту: для гірчиці білої – суглинок, для сорго – ґрунт чорноземний, для стоколосу безостого – річковий пісок.

Кожна рослина культивувалась в шести комірках лотку для пророщування рослин на зазначених субстратах з різною концентрацією кави: одна комірка без кави – контрольне середовище, а інші п'ять з різним вмістом кави: 10, 20, 30, 40, 50 г).

В кожну комірку лотка висівали по 40 насінин кожної рослини. Лоток з висадженими рослинами було розміщено поблизу вікна для доступу природного сонячного освітлення. Для зменшення випаровування і підтримання умов високої вологості лоток накривали харчовою плівкою (рис. 3.8).

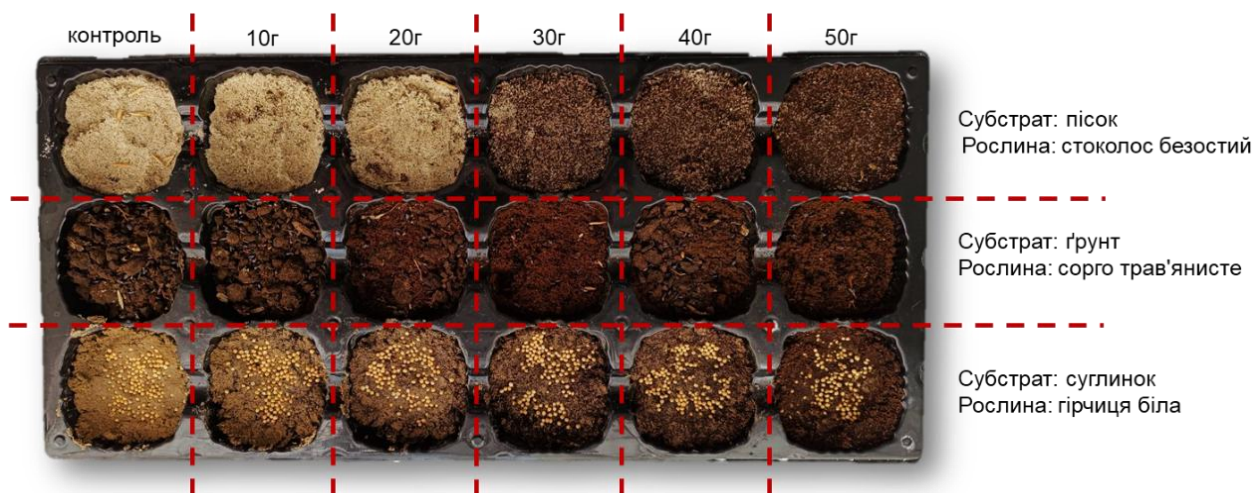


Рис. 3.8 – Підготовлена форма для вирощування рослин

Рослини регулярно поливали очищеною водою по 10-15 мл в кожну комірку через добу. Також регулярно здійснювали провітрювання 1-3 рази на добу на 5-15 хвилин, знімаючи харчову плівку з лотка. Результати приросту зеленої біомаси фіксувались щотижня (рис. 3.9–3.11).

Через три тижні, з кожної комірки обережно, щоб не пошкодити кореневу систему рослин, за допомогою пінцета вибирали по 10 зразків паростків кожної рослини для вимірювання ростових показників. Усі зразки рослин розподіляли за типом субстрату, в якому вони зростали (рис. 3.12–3.14). Далі вимірювали довжину кореневої системи та висоту стебла кожного паростка. Вимірювання виконуються за допомогою лінійки з точністю до 1 мм.

На основі отриманих даних виконували статистичну обробку та аналіз результатів, а саме обчислювали середню довжину кореневої та надземної частин рослин, а також похибку середнього арифметичного [47], де – середнє арифметичне значення; m – похибка середнього арифметичного, що розраховується за формулою:

$$m = \sqrt{\frac{\sigma^2}{N}} \quad (3.1)$$

де N – кількість результатів; σ^2 – дисперсія, що обчислюють за формулою:

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N} \quad (3.2)$$



Рис. 3.9 – Результати приросту зеленої біомаси за 1-й тиждень



Рис. 3.10 – Результати приросту зеленої біомаси за 2-й тиждень



Рис. 3.11 – Результати приросту зеленої біомаси за 3-й тиждень



Рис. 3.12 – Вплив відходів кави на ростові показники гірчиці білої (*Sinapis alba*)

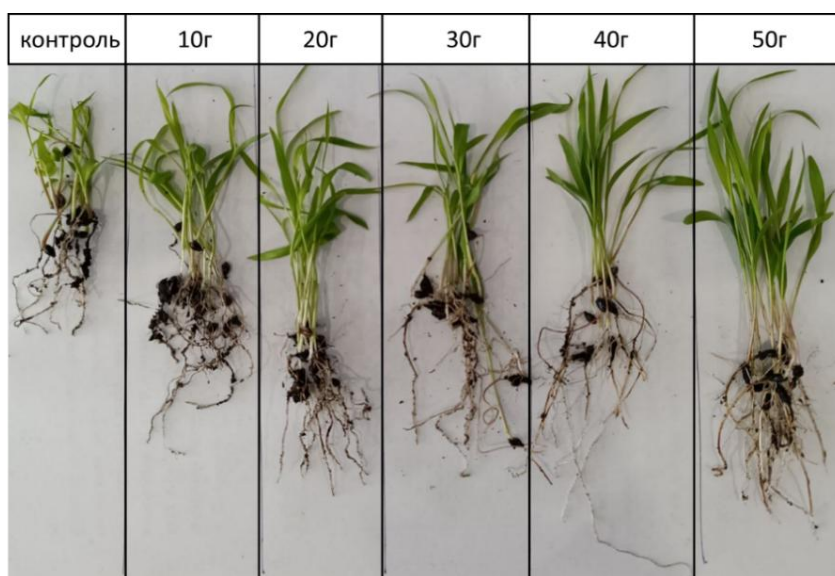


Рис. 3.13 – Вплив відходів кави на ростові показники сорго (*Sorghum bicolor*)

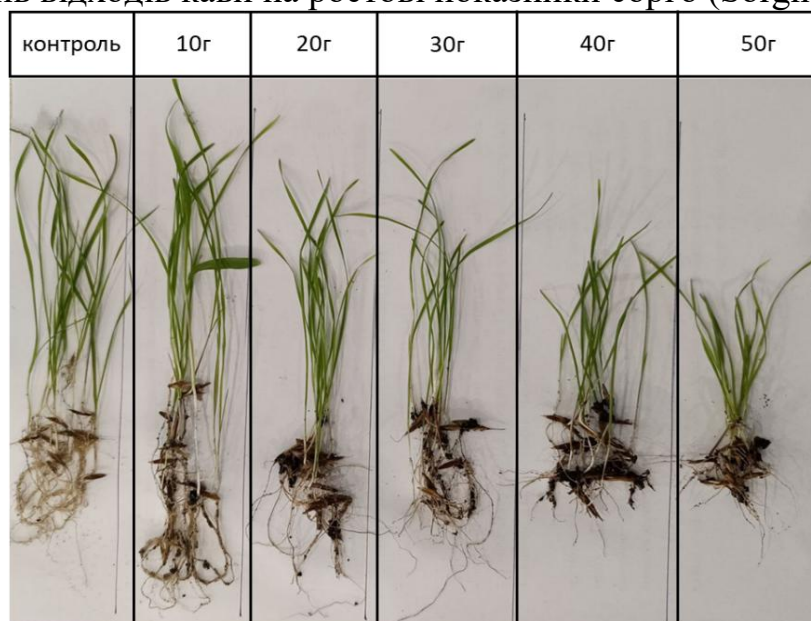


Рис. 3.14 – Вплив відходів кави на ростові показники стоколоса безостого (*Bromopsis inermis*)

Використовуючи дані статистичної обробки результатів вимірювань ростових показників рослин, для візуалізації інформації та статистичного аналізу побудовано графіки впливу різної концентрації кавових відходів на ростові показники рослин (рис. 3.15–3.17).

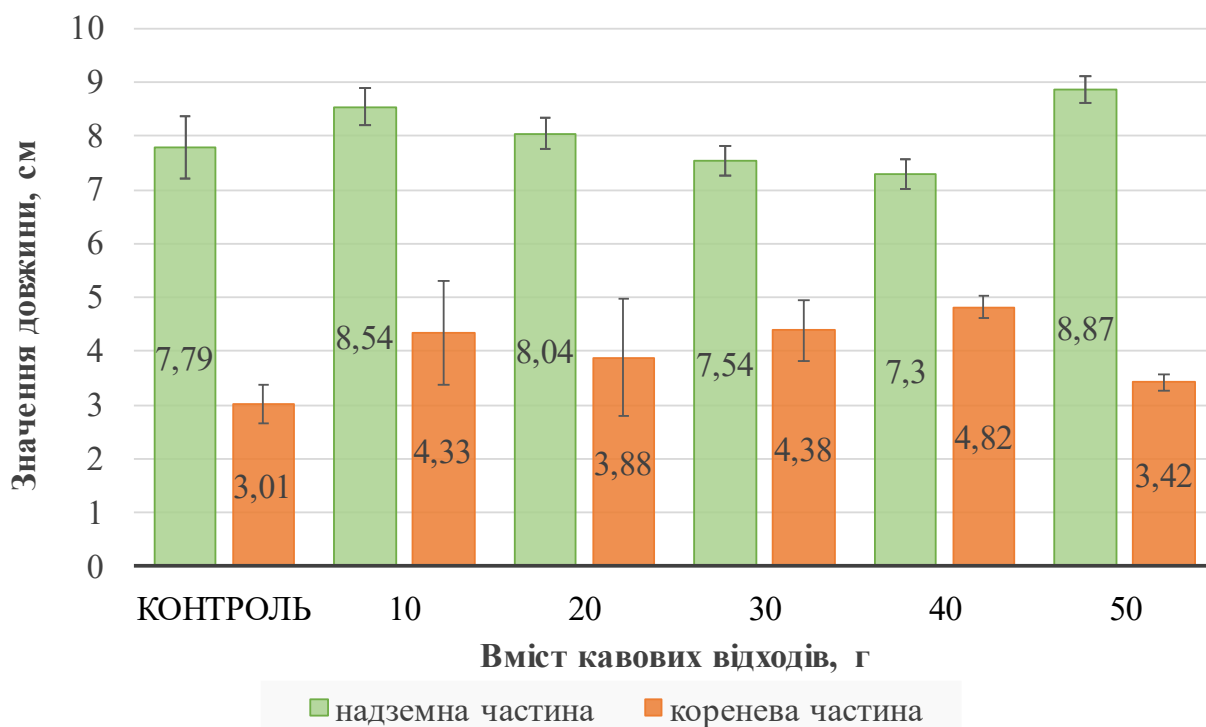


Рис. 3.15 – Динаміка зміни ростових показників гірчиці білої (*Sinapis alba*) залежно від концентрації відходів кави у середовищі

Аналізуючи результати дослідження впливу кавових відходів на ростові показники рослин можна зробити висновок, що внесення незначних концентрацій відходів кави до складу субстрату (10-15%) за масою, у якості елементу загальної системи живлення рослин може сприяти значному процесу інтенсифікації росту рослинних культур.

Таким чином, дослідження впливу кавових відходів на ростові показники рослин свідчать про доцільність та ефективність використання характерного відходу в якості біодобрива у загальній системі живлення рослин.

Наукова новизна отриманих результатів пов'язана з визначенням оптимальної концентрації відходів кави в складі субстрату за якої спостерігаються найкращі показники приросту (10-15%) за біомасою, що дозволяє рекомендувати ефективні дози внесення даного відходу в якості біодобрива для фіторекультивациі деградованих земель. Практичне значення отриманих результатів полягає у зменшенні об'ємів відходів кави, що утворюються та накопичуються за рахунок цільового використання відходу в якості біодобрива.

Часткове внесення такого біодобрива покриває об'єми внесення органічно-мінеральних добрив в загальній практиці фітомеліорації, що сприяє зменшенню впливу на земельні ресурси та може мати певну матеріальну цінність, оскільки відходи є безкоштовним ресурсом.

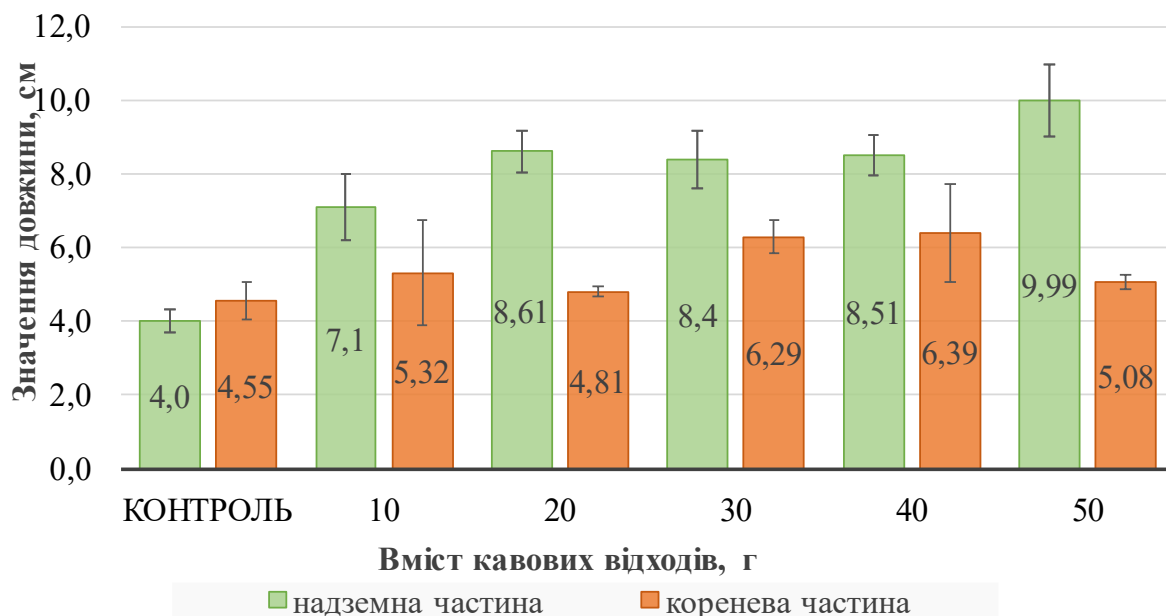


Рис. 3.16 – Динаміка зміни ростових показників сорго трав'янистого (*Sorghum bicolor*) залежно від концентрації відходів кави у середовищі

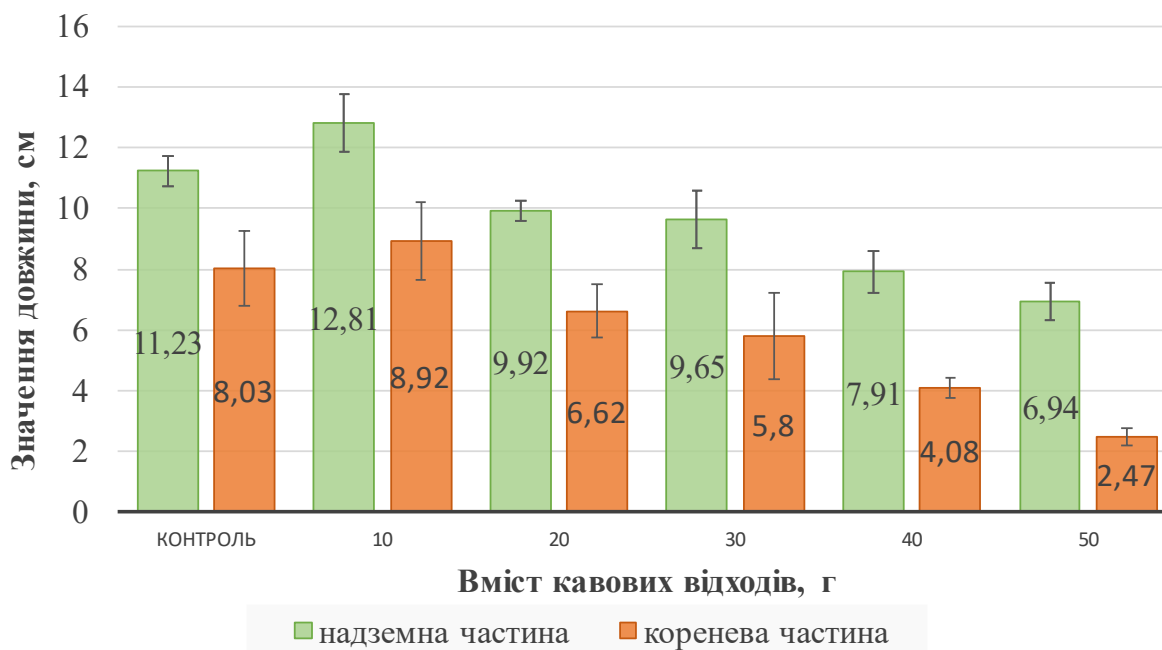


Рис. 3.17 – Динаміка зміни ростових показників стоколоса безостого (*Bromopsis inermis*) залежно від концентрації відходів кави у середовищі

Отримані результати лабораторного дослідження є перспективними і дають підставу рекомендувати внесення незначних концентрацій кавових відходів спільно з рослинами-сидератами для покращення характеристик ґрунтів та часткового живлення рослин органічно-мінеральними речовинами в контексті відновлення земель [48].

3.5. Дослідження впливу важких металів на ростові показники рослин-фіторемедіантів

В сучасному світі важкі метали є одними з найбільших токсичних та найпоширеніших антропогенних забруднювачів довкілля, а зокрема ґрунтового покриву. Вони присутні в усіх рівнях екологічної піраміди. Через ґрунтовий покрив та рослини в організм людини потрапляє близько 40-80 % важких металів, коли через воду та повітря – 20-40 %. Через накопичення в організмі людини, вони порушують обмін речовин, нормальну роботу систем і органів, провокують хвороби та навіть викликають рак і мутації. Цинк є найважливішим та другим за кількістю мікроелементом в організмі людини, проте його надлишок є шкідливим та небезпечним. Рослини-гіперакумулятори мають унікальні властивості щодо поглинання і накопичення важких металів в біомасі, що є найбільш перспективним вирішенням проблеми міграції важких металів та необхідним для збереження природного балансу екосистем. Застосування технологій фіторемедіації для забруднених територій є перспективним в стратегіях відновлення деградованих земель з метою їх подальшого раціонального використання. Для виявлення гіперакумуляційних властивостей і встановлення закономірностей накопичення важких металів в рослинах необхідно виконати низку лабораторних досліджень з використанням методів біотестування.

Ґрунти є основним середовищем для міграції і накопичення важких металів. Вони потрапляють туди у різних формах (солі розчинні/нерозчинні та оксиди) з атмосфери (дощі, вітрова ерозія), гідросфери (поверхневий стоки, підземні і підґрунтові води), а також можуть мігрувати та вторинно їх забруднювати [49].

Єдиним надійним способом вирішити проблему важких металів в довкіллі є фіторемедіація, яка полягає в здатності певних рослин поглинати, концентрувати та метаболізувати забруднюючі речовини через унікальні біологічні механізми гіперакумуляції, іммобілізації, деградації та ін.

Для обґрунтування технологій фіторемедіації і їх ефективного використання на деградованих територіях і забруднених ґрунтах необхідно попереднє виконання лабораторних біотестових досліджень, що дозволить правильно вибрати певні рослини-гіперакумулянти для цілеспрямованого очищення довкілля від конкретного важкого металу.

Мобілізація важких металів людиною шляхом розробки родовищ корисних копалин та процесінгу мінеральних руд призводить до вивільнення цих елементів у навколишнє середовище. Оскільки важкі метали не розкладаються, вони накопичуються в навколишньому середовищі і згодом забруднюють харчові ланцюги екосистем. Це забруднення становить небезпеку для навколишнього середовища та здоров'я людей.

Площа забруднених чи технічно змінених земель в світі швидко зростає та наразі складає 1,9 млрд га. Даними темпами кількість деградованих земель в світі до 2050 року сягне 90% [50].

В Україні площа порушених територій ґрунтового покриву десь 15 млн. га та ще 24 млн. тон гумусу втрачається щорічно. Серед основних проблем – втрата гумусу, переущільнення, замулення, ерозія, забруднення важкими металами, пестицидами, радіонуклідами (цезієм, стронцієм для розпаду яких необхідно близько 300 років) та інші.

У 18 містах України середньорічні концентрації важких металів перевищують ГДК (1,1-11,2), серед них Дніпро, міста Донецької та Київської областей [42].

Значний вміст важких металів у ґрунтах, зокрема цинку, негативно впливає на стан природних екосистем, що може спричинити порушення фізіологічних та біохімічних процесів, які відбуваються у живих організмах [51].

Експериментальні дослідження показують, що цинк достатньо швидко накопичується у ґрунтах і воді та дуже повільно виводиться з них. При надходженні його на поверхню ґрунту він накопичується у ґрунтовій товщі, особливо у верхніх гумусових горизонтах, і повільно видаляється завдяки ерозії, рослинам та вилугованню [52].

Надкритичне надходження поживних елементів, зокрема цинку, на посіви сільськогосподарських культур здатні супроводжувати різні надзвичайні ситуації і порушення екологічної рівноваги [53].

Проте, є рослини, які акумулюють надмірні концентрації цинку: талабан альпійський (*Thlaspi caerulescens*) – 52000 мг/кг сухої маси, а також рослини сімейства Гвоздичні (*Caryophyllaceae*) – до 1500-4900 мг/кг сухої маси, Хрестоцвітні (*Brassicaceae*) – до 5400-13630 мг/кг, Злакові (*Poaceae*) та Кермекові (*Plumbaginaceae*) [54].

Проблема забруднення важкими металами стає більш серйозною зі збільшенням темпів індустріалізації та різноманітних впливів на природні біогеохімічні цикли. На відміну від органічних речовин, важкі метали по суті є небіодеградуючими і тому накопичуються у навколишньому середовищі. Накопичення важких металів у ґрунтах та природних водах становить небезпеку для навколишнього середовища та здоров'я людини. Ці елементи по ланцюгам живлення накопичуються в тканинах живих організмів і внаслідок біоаккумуляції їх концентрація зростає при переході з нижчого трофічного рівня на більш високий. У ґрунті важкі метали чинять токсичну дію на ґрунтову біоту зокрема мікроорганізми, що суттєво впливає на біопродуктивність екосистеми в цілому.

ФітореMediaція є сучасною екотехнологією, яка базується на використанні рослин та пов'язаних з ними ґрунтових мікроорганізмів для зменшення концентрації або токсичного впливу важких металів у довкіллі.

Основні переваги фітореMediaції пов'язані з екологічно прийнятними і економічно доцільними способами вирішення екологічних проблем забруднення ґрунтів з перспективою їх відновлення до стану природних екосистем. Фіторекультивация за допомогою певних рослин сприяє створенню піонерних рослинних угруповань, які дають потенціал для відновлення деградованих територій [55].

Піонерні угруповання формують первинну сукцесію порушеного біоценозу, частіше нерівномірну та без взаємодії між різними видами. Невибагливі до родючості ґрунту, рівня вологості та наявності поживних речовин, морозостійкі, вітрозапильні (насіння легко втримується на поверхні), мають швидкі ростові показники та велику кількість насіння, також полюблять високу освітленість, тому легко ростуть на відкритих ділянках [56].

Для фітореMediaції найкраще та частіше використовують багаторічні трав'янисті рослини, які швидко розвивають біомасу та мають значну толерантність до важких металів, зокрема рослини сімейства Злаків. Разом з фітореMediaнтами доцільно використовувати сидеральні культури, які садять з метою відновлення чи покращення стану ґрунтів, наприклад рослини сімейства Бобових. Кожна рослина здатна поглинати певний забруднювач у більшій, або меншій концентрації. Тому при виборі рослин для фітореMediaції, необхідно звернути увагу, які саме речовини вона поглинає.

Звичайне сорго (*Sorghum bicolor*) – трав'яниста одно- чи багаторічна рослина родини Злакових (*Poaceae*). Висота рослини сягає від 0,5 до 7 м. Має потужну біомасу та розвинену кореневу систему глибиною 2-2,5 м. Не потребує добрив для розвитку і пригнічує ріст бур'янів. Сорго використовують як харчову та промислову культуру, а також для вирішення екологічних проблем пов'язаних з фіторекультивациєю ґрунтів, захисту від ерозії, збереження структури ґрунтового покриву.

Горох посівний (*Pisum sativum*) — трав'яниста однорічна квіткова самозапильна рослина родини Бобових (*Fabaceae*), використовується як зернобобова. Висота рослин сягає від 50 см до 2,5 м. Переваги використання гороху є невибагливість до умов культивування, можливість росту на засолених ґрунтах, збагачення ґрунту азотом завдяки розвиненій ризосфері. Горох використовують в основному як харчову культуру, а також як сидерат для покращення властивостей ґрунту і для фіторекультивациї земель. Він має швидкий ріст, достатньо велику та розлогу біомасу, добре комбінується зі злаками.

Ростовий тест рослин-фітореMediaнтів. Для обґрунтування способів фіторекультивациї забруднених земель і встановлення закономірностей росту рослин-фітореMediaнтів від вмісту важких металів у ґрунтах виконано лабораторні дослідження з використанням методів біотестування.

Ростовий тест складається з обліку змін ростових показників досліджуваної культури, зокрема довжини надземної частини та коріння, вирощеної на індикаторних зразках ґрунту. Тривалість експерименту – 3 тижні.

Для біотестів обрано 2 тест-культури рослин-фітореMediaнтів: зернове сорго (*Sorghum bicolor*) та горох посівний (*Pisum sativum*). В якості модифікатора забруднення ґрунту цинковий купорос ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$).

Для біотестових експериментів використовували цинковий купорос ($ZnSO_4$), який в певних концентраціях позитивно впливає на процес росту, розвитку та врожайності сільськогосподарських рослин. При потраплянні в ґрунтовий покрив $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ розпадається на катіон – Zn^{2+} та аніон – SO_4^{2-} .

Тестові рослини пророщували у спеціальних лотках для пророщування розсади з ємностями для ґрунту об'ємом 200 дм³. Посадка кожної з тестових рослин здійснювалось у 6 ємностей лотка з підготовленою ґрунтовою сумішшю. Загалом використано 12 ємностей, 6 – для насіння зернового сорго, 6 – для гороху посівного. В кожну з 12 тестових ємностей об'ємом 200 дм³ кожна (по 6 ємностей для 2 тест-культур рослин-фіторемедіантів) насипали підготовлений ґрунт по 50 г, додавали по 20 мл води в кожну та розміщували в місці з гарним освітленням на весь час тривалості експерименту. В чашках Петрі наливали 30 мл води та замочували 120-180 насінин обраних рослин-фіторемедіантів (рис. 3.18).

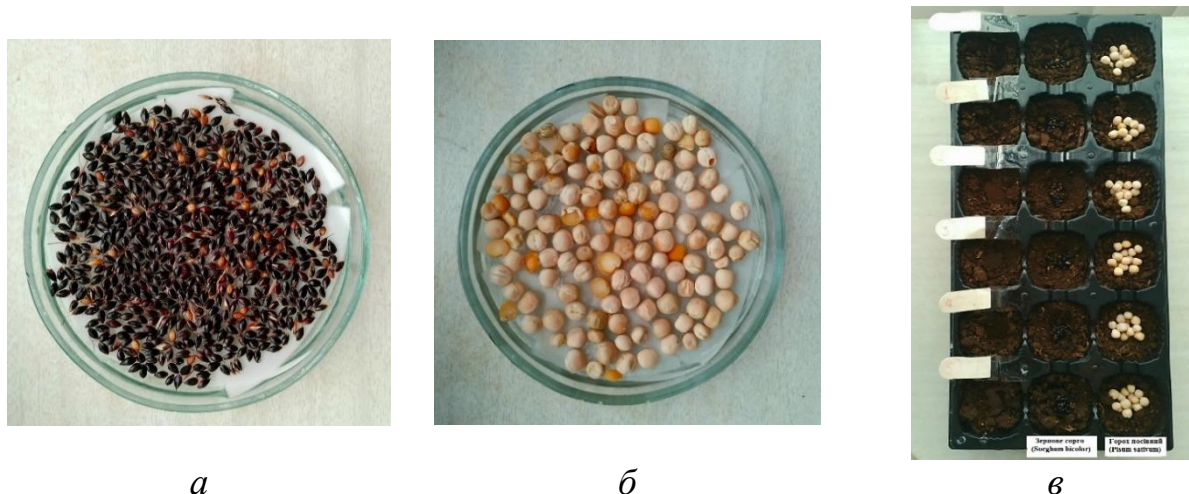


Рис. 3.18 – Підготовка насіння рослин та ємностей з ґрунтовою сумішшю: а – зернове сорго; б – горох посівний; в – ємність для висадки насіння рослин

Після замочування насіння висаджували в підготовлений ґрунт по 20-30 насінин рослин-фіторемедіантів (в залежності від розміру): зернове сорго – 30 насінин (загалом 180 насінин), горох посівний – 20 насінин (загалом 120 насінин). Для створення парникового ефекту ємності з розсадою накривали харчовою плівкою до появи паростків. Необхідною умовою для проведення даного дослідження є підтримка достатньої вологості для проростання насінин.

Для дослідження впливу цинку на ростові показники рослин використано розчин цинкового купоросу ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) для поливу з розрахунку, що 1 мл розчину містить 1 ГДК цинку у перерахуванні на 1 кг ґрунту (23 мг).

Ідея експерименту полягала в тому, щоб протягом терміну експерименту (3 доби) поливати тестові рослини розчинами об'ємом $V=20$ мл, в яких концентрація цинку відповідає 0,5, 1, 2, 4 та 8 ГДК. Рослини в контрольних ємностях поливали тільки чистою водою. Схема поливу тестових ємностей з рослинами наведено на рис. 3.19.

Об'єм одноразового поливу розчином цинкового купоросу становить 20 мл на кожну ємність. Періодичність поливу – 1 раз через добу.

Динаміку росту рослин-фіторемедіантів протягом експерименту наведено на рис. 3.20.

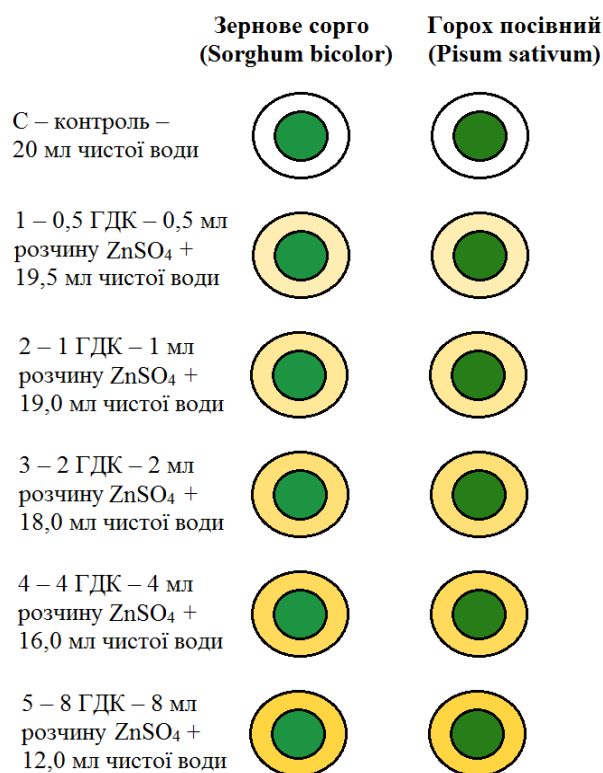


Рис. 3.19 – Схема поливу рослин розчином ZnSO₄·7H₂O

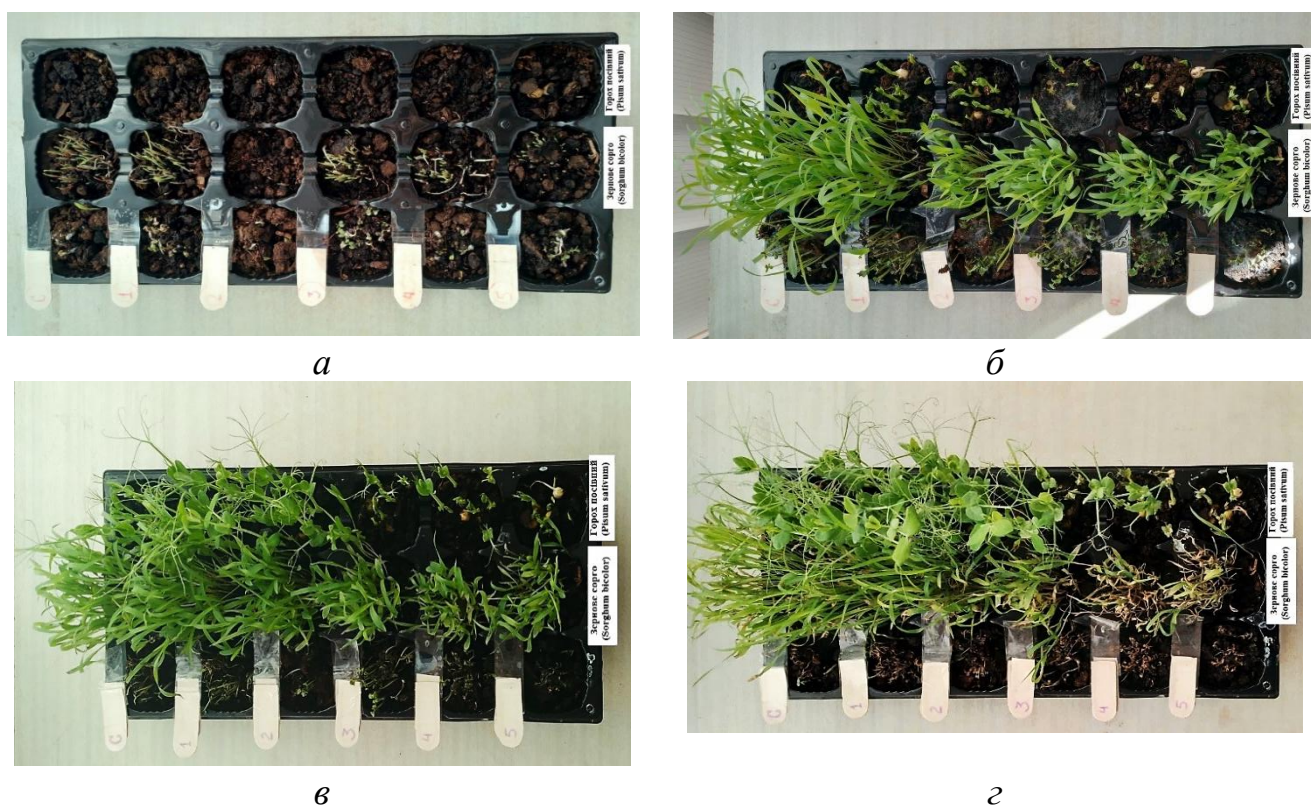


Рис. 3.20 – Динаміка росту рослин-фіторемедіантів протягом експерименту:
а – 3 дні; б – 10 діб; в – 15 діб; з – 21 доба

Після закінченні експерименту зразки рослин акуратно виймали з кожної ємності лотка та вимірювали за допомогою лінійки довжину кореневої і надземної частини паростків. Використовуючи дані експерименту розраховано середньо арифметичні висоти рослин і довжини корінців, середньо арифметичне відхилення та дисперсію, для кожної концентрації цинку в ємностях рослин-фіторемедіантів за результатами вимірів. Результати розрахунків показників зведено у табл. 3.1 і 3.2.

На рис. 3.21–3.22 показано результати статистичного аналізу ростового тесту (середнє значення, дисперсія, стандартне відхилення) для рослин-фіторемедіантів залежно від поглинання цинку.

Таблиця 3.1 – Середні значення ростових показників для *Sorghum bicolor*

| Тестова ємність | Показник | $\bar{x} \pm m$ | σ^2 |
|-----------------|---------------------|-----------------|------------|
| Контроль | Висота рослин, см | 13,88 +/- 0,16 | 0,44 |
| | Довжина коренів, см | 6,51 +/- 0,07 | 0,08 |
| 0,5 ГДК | Висота рослин, см | 14,93 +/- 0,29 | 1,43 |
| | Довжина коренів, см | 8,24 +/- 0,13 | 0,29 |
| 1 ГДК | Висота рослин, см | 18,44 +/- 0,25 | 1,06 |
| | Довжина коренів, см | 9,09 +/- 0,15 | 0,38 |
| 2 ГДК | Висота рослин, см | 11,03 +/- 0,12 | 0,25 |
| | Довжина коренів, см | 7,01 +/- 0,14 | 0,33 |
| 4 ГДК | Висота рослин, см | 7,12 +/- 0,14 | 0,33 |
| | Довжина коренів, см | 5,24 +/- 0,12 | 0,25 |
| 8 ГДК | Висота рослин, см | 5,51 +/- 0,08 | 0,11 |
| | Довжина коренів, см | 3,48 +/- 0,07 | 0,08 |

Таблиця 3.2 – Середні значення ростових показників для *Pisum sativum*

| Тестова ємність | Показник | $\bar{x} \pm m$ | σ^2 |
|-----------------|---------------------|-----------------|------------|
| Контроль | Висота рослин, см | 14,09 +/- 0,18 | 0,55 |
| | Довжина коренів, см | 8,19 +/- 0,11 | 0,21 |
| 0,5 ГДК | Висота рослин, см | 16,84 +/- 0,18 | 0,55 |
| | Довжина коренів, см | 7,13 +/- 0,10 | 0,17 |
| 1 ГДК | Висота рослин, см | 20,14 +/- 0,27 | 1,24 |
| | Довжина коренів, см | 7,73 +/- 0,11 | 0,21 |
| 2 ГДК | Висота рослин, см | 16,06 +/- 0,14 | 0,33 |
| | Довжина коренів, см | 6,58 +/- 0,07 | 0,08 |
| 4 ГДК | Висота рослин, см | 8,63 +/- 0,18 | 0,55 |
| | Довжина коренів, см | 5,71 +/- 0,10 | 0,17 |
| 8 ГДК | Висота рослин, см | 5,57 +/- 0,07 | 0,08 |
| | Довжина коренів, см | 3,58 +/- 0,06 | 0,06 |

Встановлено, що найоптимальніші показники висоти рослин та довжини коренів отримані при концентрації цинку в 1 ГДК.

Слід відзначити, що у ємностях з концентрацією 0,5 ГДК ріст рослин краще порівняно з контролем, що свідчить про стимулюючий ефект цинку у невеликих концентраціях.

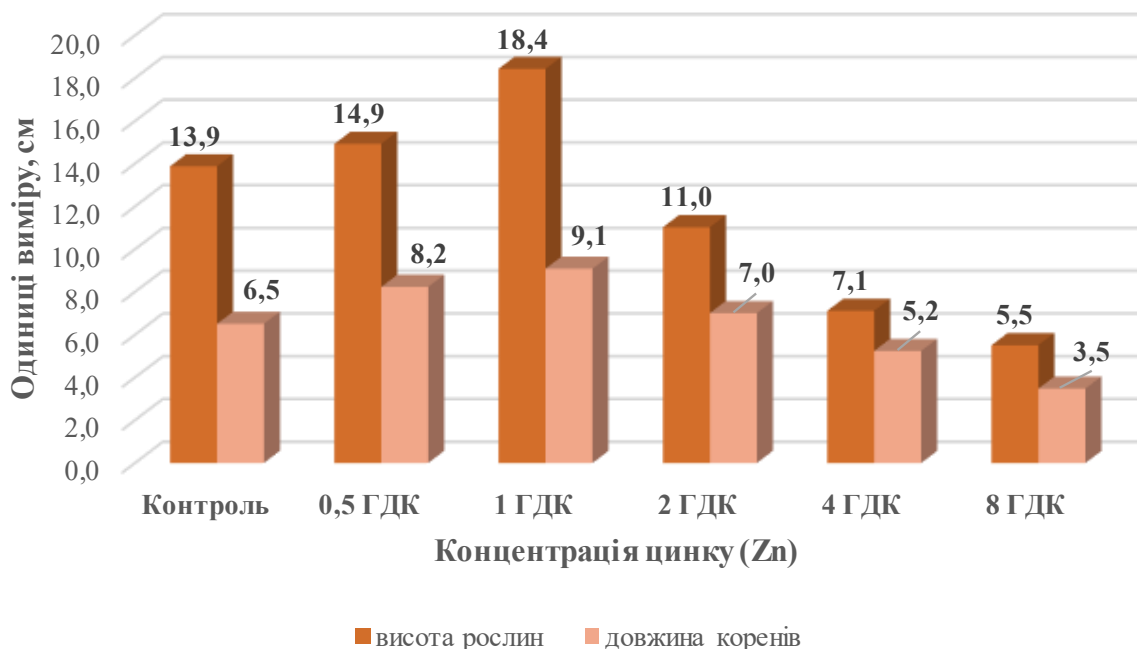


Рис. 3.21 – Вплив концентрацій цинку на ростові показники зернового сорго

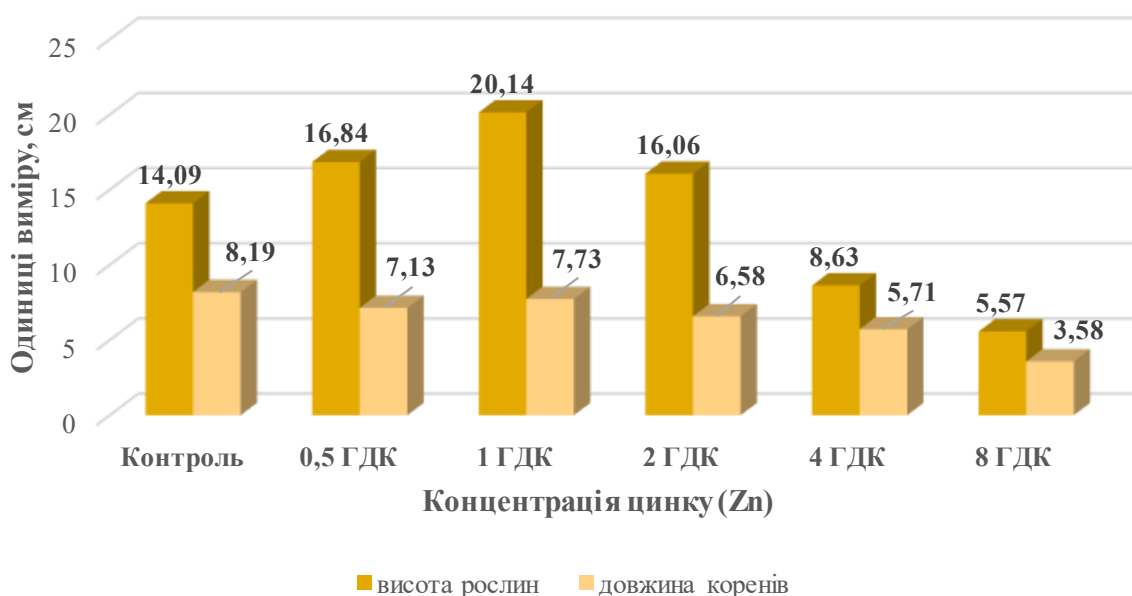


Рис. 3.22 – Вплив концентрацій цинку на ростові показники гороху посівного

Результати розрахунків фітотоксичного ефекту ростових показників обраних рослин наведено у табл. 3.3.

Фітотоксичний ефект у % від впливу різних концентрацій цинку на ростові показники тестових рослин визначається за результатами вимірювань довжини коренів та надземної частини рослин-фіторемедіантів:

$$\Phi E = \frac{M_0 - M_x}{M_0} * 100, \% \quad (1.3)$$

де M_0 – значення обраного параметра рослини з посуду із контрольним розчином (в даному випадку – вода);

M_x – значення обраного параметра рослини з ємності з певною концентрацією цинку [57].

Таблиця 3.3 – Фітотоксичний ефект ростових показників зернового сорго та гороху посівного залежно від концентрацій цинку

| Концентрація цинку (Zn) | Параметр рослинної біомаси | Фітотоксичний ефект, % | |
|-------------------------|----------------------------|--|---|
| | | Зернове сорго (<i>Sorghum bicolor</i>) | Горох посівний (<i>Pisum sativum</i>) |
| 0,5 ГДК | Висота рослин | -7,56 % | -19,52 % |
| | Довжина коренів | -26,57 % | 12,94 % |
| 1 ГДК | Висота рослин | -32,85 % | -42,94 % |
| | Довжина коренів | -39,63 % | 5,62 % |
| 2 ГДК | Висота рослин | 20,53 % | -13,98 % |
| | Довжина коренів | -7,68 % | 19,66 % |
| 4 ГДК | Висота рослин | 48,70 % | 38,75 % |
| | Довжина коренів | 19,51 % | 30,28 % |
| 8 ГДК | Висота рослин | 60,30 % | 60,47 % |
| | Довжина коренів | 46,54 % | 56,29 % |

На рис. 3.23 показано, що найбільший фітотоксичний ефект від цинку за довжиною надземної частини рослин спостерігається при перевищенні ГДК цинку в 8 раз (зернове сорго – 60,30%, горох посівний – 60,47%), а найменший – при 1 ГДК цинку (зернове сорго – -32,85%, горох посівний – -42,94%).

Найбільший фітотоксичний ефект від цинку за довжиною коренів (рис. 3.24) спостерігається при перевищенні ГДК цинку в 8 раз (зернове сорго – 46,54%, горох посівний – 56,29%), а найменший – при 1 ГДК цинку (зернове сорго – -39,63%, горох посівний – 5,62%).

Найоптимальнішою концентрацією цинку в ґрунті для зернового сорго та гороху посівного є 1 ГДК, що свідчить про адекватність встановлених норм вмісту важких металів у ґрунтах зазначених у ДСанПіН 2.2.7.029-99 [58]. При даній концентрації спостерігаються найвищі показники середніх значень висоти рослин та довжини коренів. У зразках з 0,5 ГДК, контролі та 2 ГДК спостерігається вже менший об'єм біомаси, як наземної, так кореневої частини.

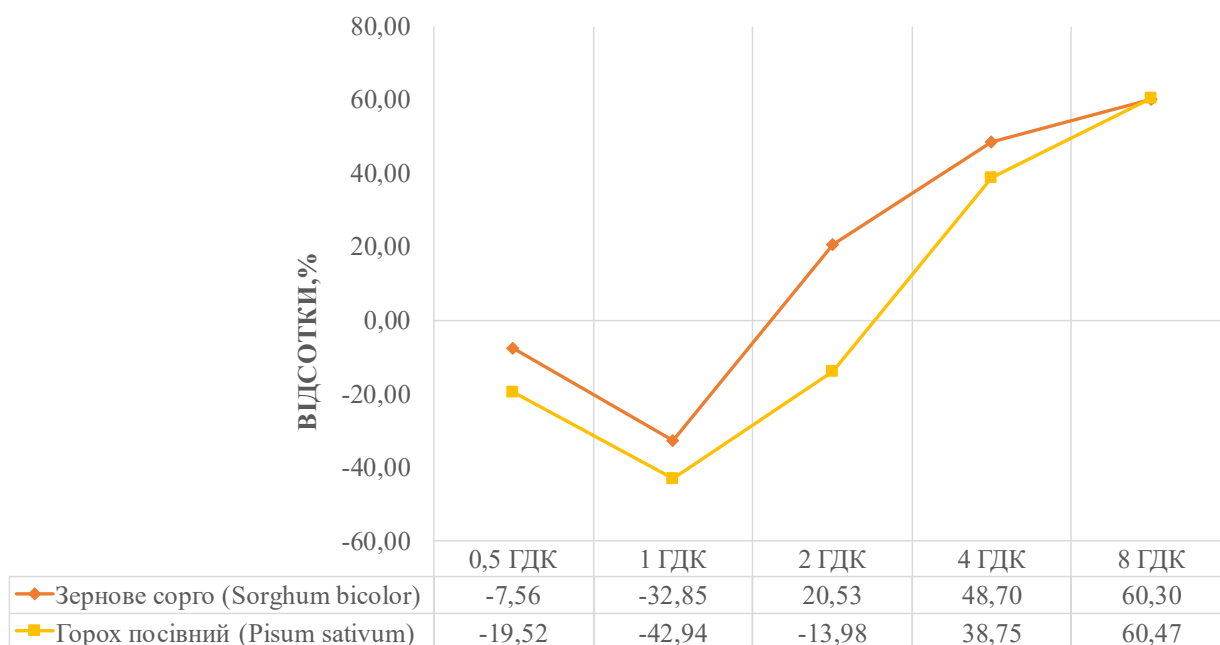


Рис. 3.23 – Фітотоксичний ефект за висотою паростків рослин-фіторемедіантів залежно від концентрацій цинку

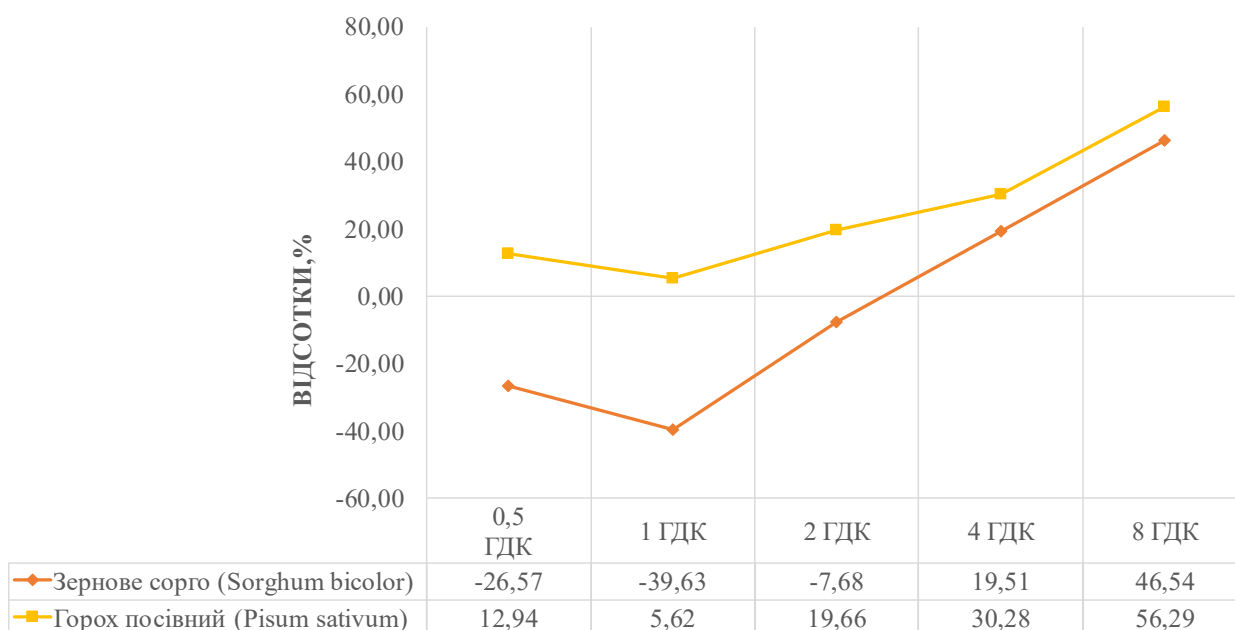


Рис. 3.24 – Фітотоксичний ефект за довжиною коренів рослин-фіторемедіантів залежно від концентрацій цинку

При 4 ГДК вже ростові показники рослин-фіторемедіантів зменшилися більше ніж в 2 рази. А при 8 ГДК спостерігається вже зменшення висоти рослин та довжини коренів майже в 3 рази. Також при 4 ГДК та 8 ГДК рослини-фіторемедіанти поступово деградують та майже не відбувається розвиток біомаси.

Таким чином, досліджено вплив забруднення ґрунтів цинком на ростові показники рослин-фіторемедіантів з метою їх потенційного використання в

технологіях фіторемедіації деградованих земель. Встановлено, що найоптимальнішою концентрацією цинку в ґрунті для зернового сорго та гороху посівного є 1 ГДК, що свідчить про адекватність встановлених норм вмісту важких металів у ґрунтах зазначених у ДСанПіН 2.2.7.029-99. При даній концентрації спостерігаються найвищі показники середніх значень висоти рослин та довжини коренів. При концентраціях цинку 0,5 ГДК, та його збільшення з 2 до 8 ГДК спостерігається зменшення об'єму біомаси, як наземної, так і кореневої частини рослин. При 4 ГДК вже ростові показники рослин-фіторемедіантів зменшилися більше ніж в 2 рази. А при 8 ГДК спостерігається вже зменшення висоти рослин та довжини коренів майже у 3 рази. Також при 4 ГДК та 8 ГДК спостерігається гальмування росту біомаси у часі.

Отримані результати свідчать, що сорго та горох можна використовувати в якості сидератів на техногенно забруднених територіях в якості заходу тимчасової фіторекультивації з метою поліпшення структури та родючості ґрунту, збагачення його азотом та пригнічення рудеральної рослинності [59].

3.6. Використання технологій вермікультивування і отримання біогумусу для поліпшення якості ґрунтів

Дощові черв'яки є ключовими організмами у формуванні ґрунту, оскільки своєю діяльністю вони забезпечують підвищення родючості ґрунту, поліпшують не тільки хімічний склад ґрунту, а також його структуру і фізичні властивості такі як: аерацію, пористість, водопроникність, вологоємність і дрібнозернистість. Ці види не тільки розкладають органічні відходи, але й підвищують мікробіальну популяцію, прискорюючи процеси розкладання та гуміфікації [60], [61].

Дощові черв'яків таких видів як: *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, *Perionyx excavatus*, *Eudrilus eugeniae* і *Dendrobaena veneta*, можна використовувати не тільки для переробляння ряду органічних відходів: осадів стічних вод, гною тварин, харчових відходів і органовмісних промислових відходів в органічне добриво біогумус (вермікомпост), але і як поновлюване джерело повноцінного тваринного кормового білка [62]. Також *Eisenia fetida* є альтернативою для білкової заміни у годівлі риб, птахів [63], [64].

В даний час вермікультивування є екологічно чистим і ефективним способом переробки органічних відходів, тому цей напрям використовується у багатьох країнах для зменшення відходів та покращення ґрунту.

Вермікультивування – це сучасна біотехнологія, за допомогою якої органічні відходи рослинного походження можна не лише ефективно утилізувати, а й перетворити в повноцінні тваринні білки та біологічно активні речовини. Доцільність використання вермікультури як біотехнології для контролю відходів та виробництва білка залежить, серед іншого, від фундаментальних знань про життєвий цикл дощових черв'яків, здатних переробляти відходи. Оскільки мова йде в основному про кількість та біомасу,

обов'язковою умовою є глибоке знання темпів росту і репродуктивного потенціалу відповідних видів [65].

Вид *Eisenia fetida* представляє особливий інтерес, оскільки він може бути ефективно використаний у процесі вермікомпостування завдяки високій швидкості розмноження та значній швидкості переробки органічних відходів. Це вид, протестований багатьма авторами, як з точки зору утримання в лабораторних умовах, так і у вермікультурі [66].

Черв'яки дуже витривалі і можуть витримувати широкий діапазон температурних і вологісних коливань [67]. Але світло прямого сонця та високу температуру вони не витримують.

Продуктивність розмноження та ріст дощових черв'яків в різноманітних субстратах може слугувати корисними біомаркерами для вимірювання ефективності *Eisenia fetida* у вермікомпостуванні або унікальної біотехнології на їх основі [68].

Таким чином, дослідження впливу різноманітних природних та техногенних факторів на життєвий цикл *Eisenia fetida* є ключовим елементом для біотехнологій утилізації органічних відходів та вермікомпостування.

Метою даного дослідження є вивчення життєвого циклу каліфорнійського червоного черв'яка *Eisenia fetida* та оцінка впливу основних біотичних факторів на процес вермікультивування.

Для зазначеної мети були поставлені такі завдання:

1. Дослідити особливості розвитку та стадії життєвого циклу каліфорнійського червоного черв'яка *Eisenia fetida* в лабораторних умовах.
2. Визначити особливості впливу температурних режимів на розвиток черв'яків та біопродуктивність біомаси в цілому.
3. Оцінити ефективність продукції біомаси черв'яків та біогумусу на різноманітних субстратах вермікультивування.

Використання дощових черв'яків для виробництва органічних добрив в даний час набуває широкої популярності. Вермікомпостування дозволяє використовувати різні безпечні відходи як добрива, які будуть позитивно впливати на зростання, укорінення і стресостійкість рослин, а також поліпшувати властивості ґрунтів.

У країнах з помірним кліматом широко використовується гнойовий, або компостний, черв'як *Eisenia fetida* та його підвиди *E. fetida*; *E. Andrei*; звичайний дощовий черв'як *Lumbricus terrestris*, малий червоний черв'як *L. rubellus* і венеціанська Дендробена *Dendrobaena veneta*. З багатьох видів дощових черв'яків найбільш продуктивним і підходящим для технологій переробки органічних відходів виявився компостний черв'як *Eisenia fetida*.

Каліфорнійський черв'як (*Eisenia fetida*) має тіло олігохет, довге, циліндричне завдовжки 40-130 мм, завширшки 2-4 мм з кількістю сегментів від 80 до 120 і більше. Черв'яки *Eisenia fetida* мають пурпурову пігментацію у вигляді широких поперечних смуг, розділених дещо вужчими непігментованими ділянками покривів. На першому сегменті такого виду черв'яка розташований ротовий отвір, над яким нависає виступ, тобто головна лопать, що має форму

епілобічного типу. Такий перший сегмент позбавлений щетинок, а на інших щетинки сильно зближені попарно. Жіночі статеві отвори *Lumbricidae* дуже дрібні та розташовуються на 14-му сегменті, чоловічі статеві отвори розташовані на 15-му сегменті, оточені добре розвинутими залозистими полями, а пасок розташований з 26-27 по 31-32 сегмент [69].

Оптимальна температура для вермікультування каліфорнійського черв'яка становить 25 °С, вологість – 85%, кислотність – 5-9. В таких умовах тривалість життєвого циклу черв'яків від кокона до дорослої особи коливається від 45 діб до 51 доби. Статева зрілість вермікультури може коливатися від 21 доби до 30 діб, а середня маса дорослої особи становить 0,55 г. Відкладення коконів відбувається через 48 годин після спарювання, а середній розмір коконів сягає 4,85 мм × 2,82 мм. Життєздатність черв'яків, які з'явилися складає близько 72-82% [70].

Життєвий цикл каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida* починається з відкладання яєць. Яйця зазвичай знаходяться в коконах, які черв'яки вкладають у вологий ґрунт. Після вилуплення з яєць виходять личинки. Це молоді черв'ячки, які починають шукати їжу та рости. Личинки є доволі невеликими та слабкими. Після того, як черв'ячки досягнуть дорослого стану, вони стають активними учасниками вермікультури. Дорослі черв'яки продовжують їсти та рости, а також розмножуватися.

Розмноження *Eisenia fetida* зазвичай відбувається шляхом спарювання та перехресного запліднення, після чого кожна з паруючих особин виробляє кокони, що містять 1-20 запліднених яєць та відкладає їх і відбувається вилуплення нових личинок. Кокони є стійкими та маленькими і мають лимоноподібну форму [71].

Після загибелі черв'яка його тіло може розкладатися у ґрунті, вносячи вклад у процес гуміфікації та живлення ґрунтової екосистеми.

На рис. 3.25 показано життєвий цикл каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida*.

Каліфорнійські черв'яки відкладають яйця у кокони, які називаються кладками. Ці кладки мають гелеподібну консистенцію і зазвичай білого або кремового кольору. Кожна кладка містить від кількох до десятків яєць, залежно від віку та стану черв'яка.

На рис. 3.35 показані кокони каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida*.

Кокони каліфорнійських черв'яків мають важливе значення для їхнього розмноження та підтримки популяції. Вони допомагають забезпечити безпеку та захист яйцям від зовнішніх чинників, таких як висихання або хижаки, і сприяють успішному вилупленню молодих черв'яків.

Дослідження вмісту коконів *Eisenia fetida* може дати цінну інформацію про різноманітні аспекти життєдіяльності цих черв'яків та їхній вплив на навколишнє середовище. Вивчення хімічного складу коконів може виявити наявність різних речовин, таких як білки, жири, вуглеводи та мінерали. Це може допомогти зрозуміти, які поживні речовини містяться в коконах і як вони можуть впливати на ґрунтову екосистему.

Після відкладення яйця в кладці поступово розвивається зародковий ембріон, і через деякий час з яйця вилуплюється молодий черв'як.

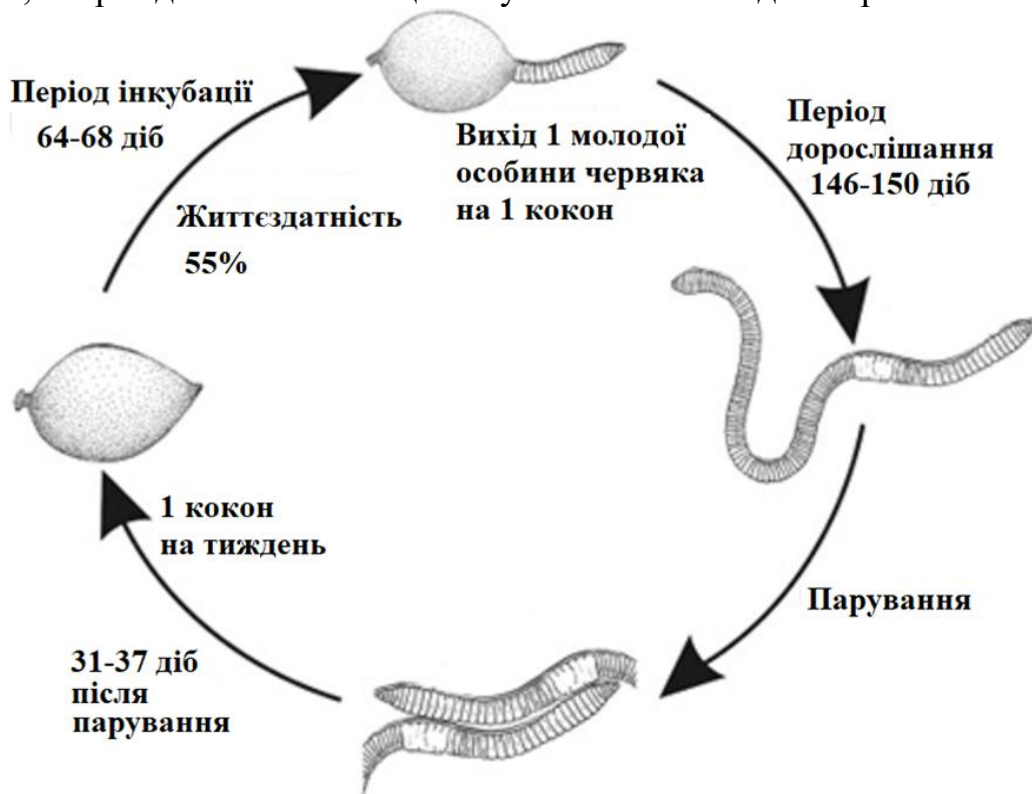


Рис. 3.25 – Життєвий цикл каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida*

Такий процес може займати від кількох тижнів до кількох місяців, залежно від температури та вологості середовища.

Молоді черв'яки каліфорнійського типу, такі як *Eisenia fetida*, вилуплюються з яєць, що знаходяться в коконах (рис. 3.26). Після вилуплення вони зазвичай виглядають як маленькі, тонкі, безбарвні чи слабо рожеві черв'ячки. У початковій стадії їхнього розвитку вони дуже невеликі, але швидко зростають і набирають вагу з кожним линянням, тобто періодично змінюють шкіру.

Молоді черв'яки дуже активні і швидко розпочинають роботу у розкладанні органічних матеріалів. Вони живляться різними рослинними рештками, що містяться у ґрунті, такими як листя, фрукти, овочі та інші органічні речовини. Крім того, молоді черв'яки активно виробляють гумус, багатий на поживні речовини, який відіграє важливу роль у збереженні родючості ґрунту.

На рис. 3.27 показано фото молодих особин каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida*.

У відповідних умовах (температура, вологість, доступ до їжі) молоді черв'яки швидко ростуть та розмножуються, сприяючи підтримці здорової та плідної популяції.

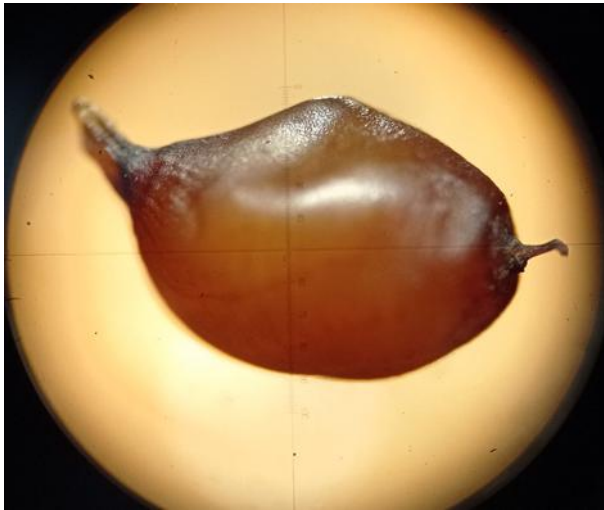
Колонія дорослих черв'яків *Eisenia fetida*: формує маточне поголів'я (сім'ю), в якій налічується декілька сотень дорослих особин (рис. 3.28).



а



б



в



г

Рис. 3.26 – Кокони каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida*:
а – черв'як та кокон; б – збір коконів; в – морфологія кокону;
г – газоутворення у коконі



а



б

Рис. 3.27 – Молоді особини *Eisenia fetida*: а – 1 тиждень; б – 2 тижні



a



б

Рис. 3.28 – Колонія дорослих черв'яків *Eisenia fetida*:
a – маточне поголів'я (сім'я) черв'яків; *б* – доросла особина

Колонія дорослих черв'яків *Eisenia fetida* може складатися з різної кількості особин в залежності від умов середовища та розміру контейнера чи ґрунту, в якому вони перебувають. Ці черв'яки відомі своєю здатністю швидко розмножуватися і утворювати великі популяції відносно невеликого простору.

Типова колонія дорослих черв'яків може містити від кількох десятків до кількох сотень особин. Колонія черв'яків зазвичай активно працює над розкладанням органічних матеріалів у ґрунті. Вони живляться різноманітними рослинними залишками, перетравлюючи їх та перетворюючи на поживну речовину, що сприяє підживленню рослин. Крім того, колонія черв'яків сприяє збереженню родючості ґрунту шляхом продукції гумусу та поліпшенню його структури.

Забезпечення колонії дорослих черв'яків оптимальними умовами середовища, такими як вологість, температура та наявність їжі, допомагає забезпечити їхню активну працездатність та підтримує здорову популяцію.

На стан дощових черв'яків і їх продуктивність дуже впливають фізичні фактори: температура, вологість, кислотність, вміст кисню, щільність. Адже за наявності достатнього корму та сприятливих умов життя будь-яка невідповідність факторів навколишнього середовища призведе до пригнічення фізіологічних функцій черв'яків, зниження продуктивності і навіть загибелі.

Успішне вермікультивування вимагає не лише компосту з потрібними поживними речовинами. Інтенсивність фізіолого-біохімічних процесів у дощових черв'яків безпосередньо залежить від температури середовища проживання і відповідної температури тіла самого дощового черв'яка. Для різних видів черв'яків оптимальна температура залежить від умов, до яких олігохети пристосувалися протягом тривалої еволюції. Гнойові черв'яки мають досить вузьку екологічну специфіку. Вони не зимують у ґрунті, оскільки не витримують мінусових температур і гинуть у перші кілька днів замерзання.

Теоретична біологічна нульова точка ембріонального розвитку для *Eisenia fetida* у субстраті з температурою 3-4°C черв'яки не тільки зберігають активність, а ще й живляться. Після перших осінніх заморозків вони мігрують глибше в

субстрат, але не проникають у щільний ґрунт. Через слабку гідродинамічну структуру ріючого тіла черв'як знаходиться на межі матриці і ґрунту і не може проникати в більш глибокі і щільні шари. Черв'яки добре пристосовуються до температур, близьких до 0°C, і зимують у компості під снігом. Черв'яки, які переселяються на поля з гноєм, гинуть протягом зими і не можуть створити стабільну популяцію протягом тривалого часу.

Багато черв'яків на полях без рослинності гинуть під час ранніх осінніх заморозків. У цей час шкідливі навіть температури, близькі до нуля, а взимку температура в кілька градусів нижче нуля допустима і не завдасть шкоди. При температурі 23°C черв'яки віддають перевагу більш прохолодному середовищу. При температурі 5°C черв'яки впадають у період спокою. Спостереження за личинками протягом 200 днів показали залежність їх росту від температурних умов. Найшвидше дощові черв'яки ростуть за температури 20-25°C. Температура 30°C і вище шкідлива, особливо якщо вологість субстрату занадто висока. При температурі 30°C активність і маса тіла черв'яків знижувалися за рахунок збільшення виділення захисного слизу у відповідь на температурні подразники, а при температурі 37°C вони гинуть. Найбільш сприятлива температура субстрату 28°C, при якій зберігається висока активність і маса тіла не зменшується, а збільшується. Температура є важливим фактором, що впливає на ембріональний розвиток і появу кокона. Тривалість інкубаційного періоду зменшується з підвищенням температури. У країнах з м'яким кліматом вермікультуру практикують у відкритому ґрунті цілий рік. Для підтримки оптимальних температур грядки з черв'яками можна захистити від вимерзання взимку і прямих сонячних променів влітку, уклавши їх сіном, соломною тощо. Для створення необхідного температурного режиму використовується ґрунтовий обігрів, над каркасом якого простягаються тунелі з поліетиленової плівки. Це може продовжити час активності черв'яків і підвищити їх продуктивність. Оптимальними умовами для виживання черв'яків є температура навколишнього середовища +19°C.

Однак температура, що відрізняється від оптимальної на +7-10°C, не матиме шкідливого впливу на них, якщо температура буде на 12°C нижче оптимальної, знадобляться заходи ізоляції.

Температурний режим також впливає на кількість знесених коконів. Так, при культивуванні з лютого по квітень за середнього значення температури $t_{\text{сеп}}=20^\circ\text{C}$ адаптаційний період складає 14 днів, а за 35 днів інкубаційного періоду кількість коконів склала 27 штук. При культивуванні з серпня по жовтень за середнього значення температури $t_{\text{сеп}}=28^\circ\text{C}$ адаптаційний період складає 12 днів, а за 25 днів інкубаційного періоду кількість коконів склала 45 штук.

Лабораторні дослідження щодо визначення впливу температурних режимів на тривалість періоду інкубації коконів (яець) виконувались при температурах 21°C та 28°C. При більш низьких температурних режимах 21°C тривалість періоду інкубації збільшується до 70 днів. Так, при підвищених температурних режимах 28°C тривалість інкубаційного періоду зменшується до 30 днів. Таким чином, температурний режим впливає на тривалість процесу інкубації. Це має

велике значення для підтримання оптимальних температурних режимів в компостному середовищі, що є методом регулювання чисельності *Eisenia fetida*.

Подальші дослідження включали відбір субстрату разом із черв'яками для визначення кількісних показників ефективності вермікультивування. Середня чисельність черв'яків репродуктивного віку в готовому компості (біогумусі) каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida* склала 36 штук при температурі 20 °С та 48 штук при температурі 28°С (рис. 3.29). Чисельність коконів черв'яка на 35 штук більше у досліджуваному субстраті масою 1 кг. Аналогічний результат стосовно молодих особин черв'яків.

Дослідження вагових показників вермібіотичної активності в готовому біогумусі у перерахунку на 1 кг субстрату (табл. 3.4) показало, що середня вага репродуктивного черв'яка становить $3,24 \pm 0,8$ г.

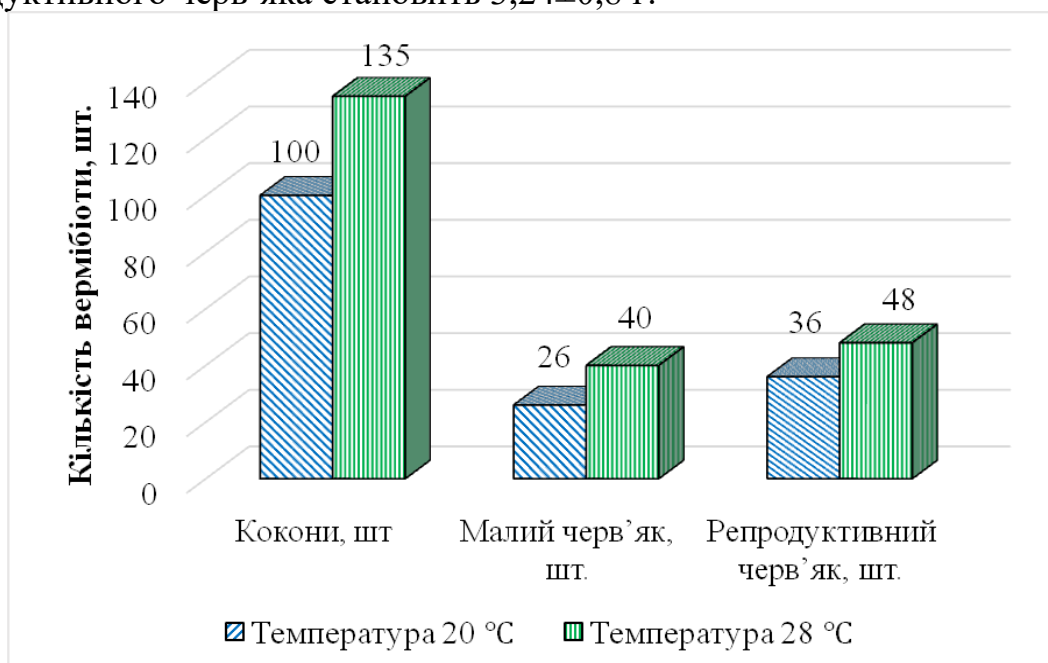


Рис. 3.29 – Усереднені показники вермібіоти *Eisenia fetida* після компостування 1 кг субстрату

В лабораторних умовах досліджували процес вермікультивування черв'яків *Eisenia fetida* контейнерним способом.

Таблиця 3.4 – Показники вермібіотичної активності *Eisenia fetida*

| Вага коконів, г | Вага малих черв'яків, г | Вага дорослих особин, г |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|
| 0,15 | 0,35 | 3,24 |

Схема досліду передбачала закладку двох контейнерів перший розмірами 45x25x12 см, а другий 59x39x17 см. В якості компосту використовувалась 2 типи суміші: опале листя та з соломи, гною, сіна, опалого листя.

Узагальнені показники ефективності вермікультивування представлені на рис. 3.30 та рис. 3.31.

Виходячи з отриманих результатів суміш компосту опалого листя підходить каліфорнійським черв'якам, оскільки є відмінним джерелом органічного матеріалу, тому біогумус збільшився на 400 г за 2 місяці, біомаса збільшилась на 81 особину, субстрат зменшився з 1200 г до 50 г.

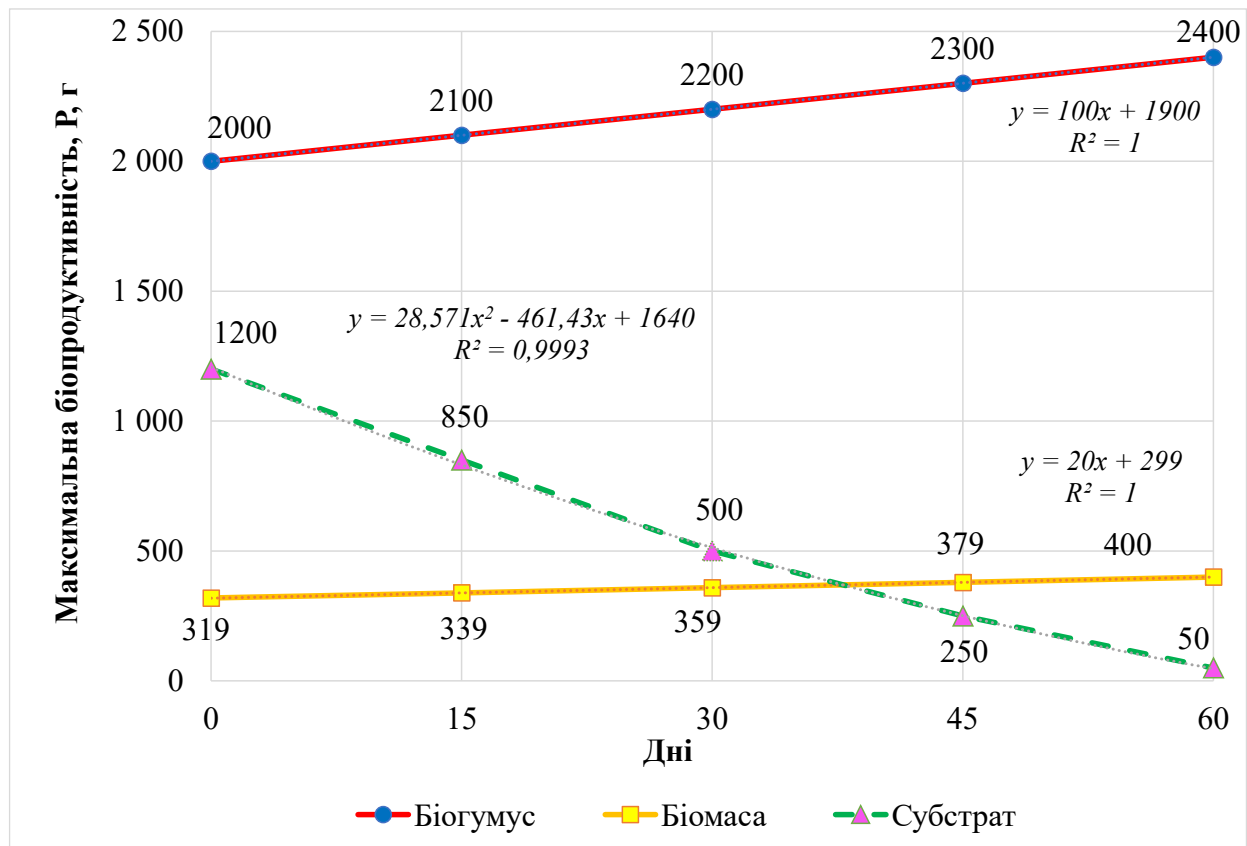


Рис. 3.30 – Узагальнені показники ефективності вермікультування з опалим листям

Виходячи з отриманих результатів суміш компосту з соломи, гною, опалого листя та сіна найкраще підходить каліфорнійським черв'якам, оскільки гній містить велику кількість поживних речовин (азот, фосфор і калій) тому кількість біогумусу збільшилась на 2600 г за 2 місяці, біомаса черв'яків збільшилась на 236 особин, субстрат зменшився з 1800 г до 70 г.

В результаті проведеного дослідження з *Eisenia fetida* побудовано залежності усереднених показників вермібіоти після компостування 1 кг субстрату, в якому середня чисельність черв'яків репродуктивного віку в готовому компості (біогумусі) каліфорнійського черв'яка склала 36 штук при температурі 20°C та 48 штук при температурі 28°C, а чисельність коконів черв'яка на 35 штук більше у досліджуваному субстраті масою 1 кг при температурі 28°C.

Досліджено вагові показники вермібіотичної активності в готовому біогумусі у перерахунку на 1 кг субстрату та показало, що середня вага репродуктивного черв'яка становить $3,24 \pm 0,8$ г.

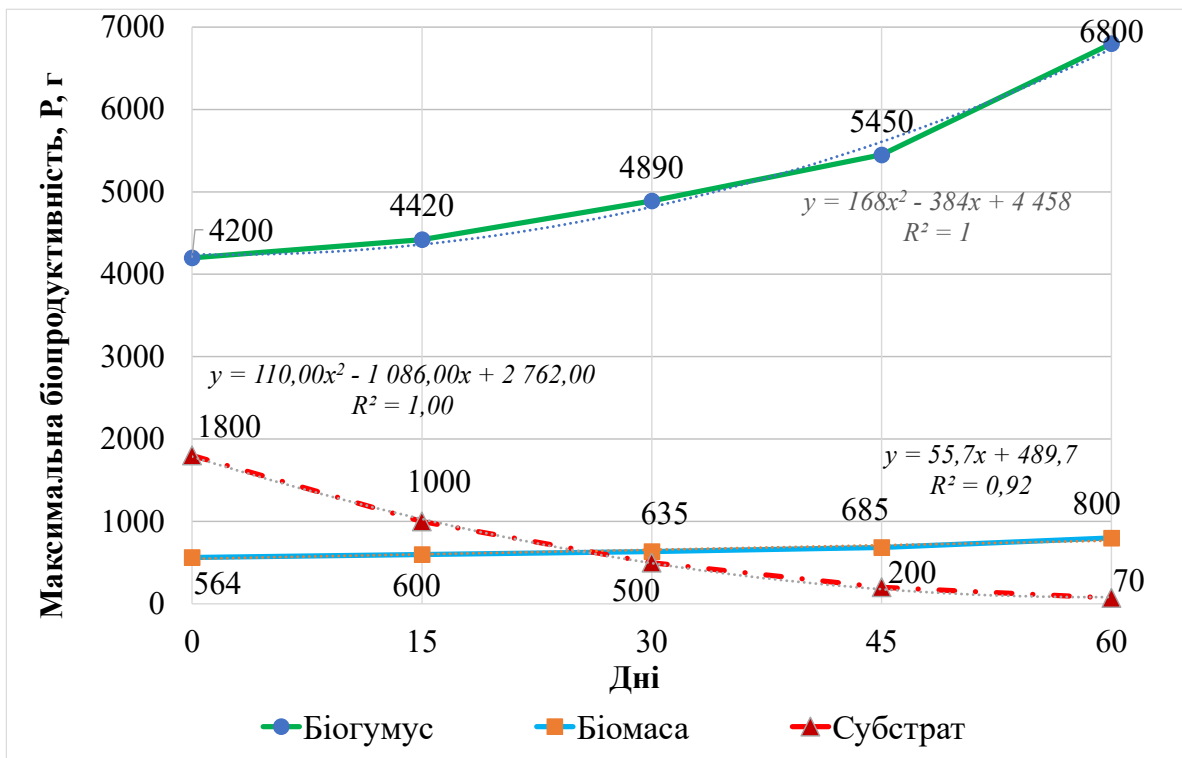


Рис. 3.31 – Узагальнені показники ефективності вермікультивування з суміші соломи, гною, сіна, опалого листя

Було проведено у лабораторних умовах дослід з двома видами субстрату: перший з опалим листям, а другий з суміші гною, сіна, соломи, опалого листя. У першому контейнері з опалого листя біогумус збільшився на 400 г за 2 місяці, біомаса черв'яків збільшилась на 81 особину, субстрат зменшився з 1200 г до 50 г. У другому контейнері з типом суміші компосту з соломи, гною, опалого листя та сіна біогумус збільшився на 2600 г за 2 місяці, біомаса черв'яків збільшилась на 236 особин, субстрат зменшився з 1800 г до 70 г.

Встановлено, що в процесі вермікультивування в лабораторних умовах протягом 60 днів на субстраті з опалим листям та на композитній суміші з соломи, гною, сіна, опалого листя показники біопродуктивності є такими: розкладання органічного субстрату – 66% і 96,7%, збільшення біомаси дорослих черв'яків – 25,4% і 41,8%, продукція біогумусу – 20,0% і 61,9%, відповідно.

Таким чином, результати дослідження дозволяють оптимізувати технологію вермікультивування черв'яків *Eisenia fetida* з урахуванням особливостей субстратів для отримання екологічно чистого біогумусу [72].

3.7. Перспективи фіторекультивациі деградованих земель композитними біогумусовими брикетами

Збереження родючості ґрунтів є одним з ключових напрямів рекультивациі і відновлення наземних екосистем відповідно до стратегічних цілей сталого розвитку [73].

Сучасним способом біологічної рекультивації є використання продукту життєдіяльності червоних каліфорнійських черв'яків, а саме біогумусу. Вермікультивування є відомим напрямом утилізації різноманітних органічних відходів. Черв'яків можна вирощувати як у відкритих, так і закритих приміщеннях. При цьому, в процесі переробки черв'яками 1 т сухого гною отримується до 600 кг біогумусу з вмістом 25–40% гумусових речовин. Останні 400 кг органічних поживних речовин трансформуються в 100 кг біомаси живих черв'яків.

Вермікультивування (від лат. *Vermes* – черв'як), як перспективний напрям біотехнології дозволяє вирішити на біологічній основі низку екологічних і господарських проблем суспільства: утилізацію органічних відходів, підвищення родючості ґрунту, одержання високоякісного екологічно чистого органічного добрива, збільшення виробництва якісної сільськогосподарської продукції тощо [74].

Біомаса черв'яків містить 17–23% сухої речовини і в сухій речовині: протеїну 60–80%, вуглеводів – 17, ліпідів – 6–9, мінеральних солей – 15, азотистих екстрактивних речовин – 7–16%, багато ферментів, вітамінів, мікроелементів, що дозволяє використовувати її як джерело повноцінного білка для збалансування раціонів сільськогосподарських тварин [75].

У біогумусі акумульована велика кількість макро- і мікроелементів, є ростові речовини, вітаміни, антибіотики, амінокислоти і корисна мікрофлора. Він гідрофільний, має високу водостійкість, вологоекмність, механічну міцність, відсутнє насіння бур'янів. Біогумус може утримувати до 70% води і в 15–20 разів ефективніший за будь-яке органічне добриво [76].

Агрохімічні властивості біогумусу мають такі показники: вологість 45,8–55,2 %; вміст органічної речовини 44,8–54,2 %; гумусу 9,7–12,3 %; кислотність (рН) 7,2–8,0; загального азоту 1,8–3,1 %; фосфору (P_2O_5) 1,3–2,6 %; калію (K_2O) – 1,6–3,8 % [77].

Використання композитних біогумусових брикетів дає можливість прискорити відновлення техногенних ландшафтів до природного стану в технологіях фітореMediaції, сприяти біорізноманіттю та відновленню стабільної екологічної системи [78].

Метою даного експерименту є дослідження процесу вермікультивування та переробки органічних відходів каліфорнійськими черв'яками виду *Eisenia fetida*, обґрунтування складу композитної суміші біогумусових брикетів для фітореMediaції деградованих земель.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені такі завдання:

1. Дослідити умови росту черв'яків виду *Eisenia fetida* і процес утворення біогумусу і ефективність його використання для композитних фітомеліоративних сумішей.

2. Провести вегетаційні дослідження на комплексних багатокomпонентних сумішах для аналізу ефективності пророщування насіння дикорослих злаків, зокрема вівсюга пусого (*Avena fatua*), та стоколоса безостого (*Brōmus inērmis*).

3. Обґрунтувати технологічні рішення стосовно виготовлення і

застосування біогумусових брикетів вермікультивування для рекультивації земель.

Для вирішення поставлених завдань використані такі методи дослідження: науковий пошук за літературними та електронними джерелами – при оцінці природного стану земель після проведення гірничих робіт; аналіз діяльності верміферм та переробки органічних відходів за допомогою черв'яків виду *Eisenia fetida*; вегетаційний метод – лабораторний метод вивчення рослин, що полягає у вирощуванні їх в спеціальних компостерах на багатокомпонентних сумішах; методи статистичного аналізу.

Особливості процесу вермікультивування. Інтенсивність фізіологічних і біохімічних процесів в організмі черв'яків знаходиться в прямій залежності від температури місця існування, вологості органічного субстрату, рН середовища та інших другорядних чинників.

Температура і рН. В лабораторних умовах проводились дослідження життєвого циклу черв'яків з урахуванням впливу найбільш вагомих екологічних факторів, зокрема вологості субстрату та температури. Культивування виконувалось у пластикових ємностях розмірами 45 см x 25 см x 12 см, а субстратом для вирощування черв'яків було обрано опале листя з лісопаркової зони м. Дніпро (рис. 3.32, а). В процесі життєдіяльності продукували біогумус (рис. 3.32, б), маса якого вимірювалась протягом тестового періоду.



Рис. 3.32 – Субстрат для культивування (а) та продукт – біогумус (б)

Встановлено, що найбільш сприятлива температура, при якій *Eisenia fetida* зростає з максимальною швидкістю і зберігає високу активність, становить 20–30°C. Для виду *Eisenia andrei* температура повинна бути +18-28°C [79]. Вплив температури на збільшення ваги *Eisenia fetida* представлено на рис. 3.33.

Результати досліджень виявили пряму залежність швидкості росту вермікультури та продукції біогумусу від вологості середовища при постійній температурі 25°C. Вплив температури на продукцію маси біогумусу черв'яків *Eisenia fetida* показано на рис. 3.34.

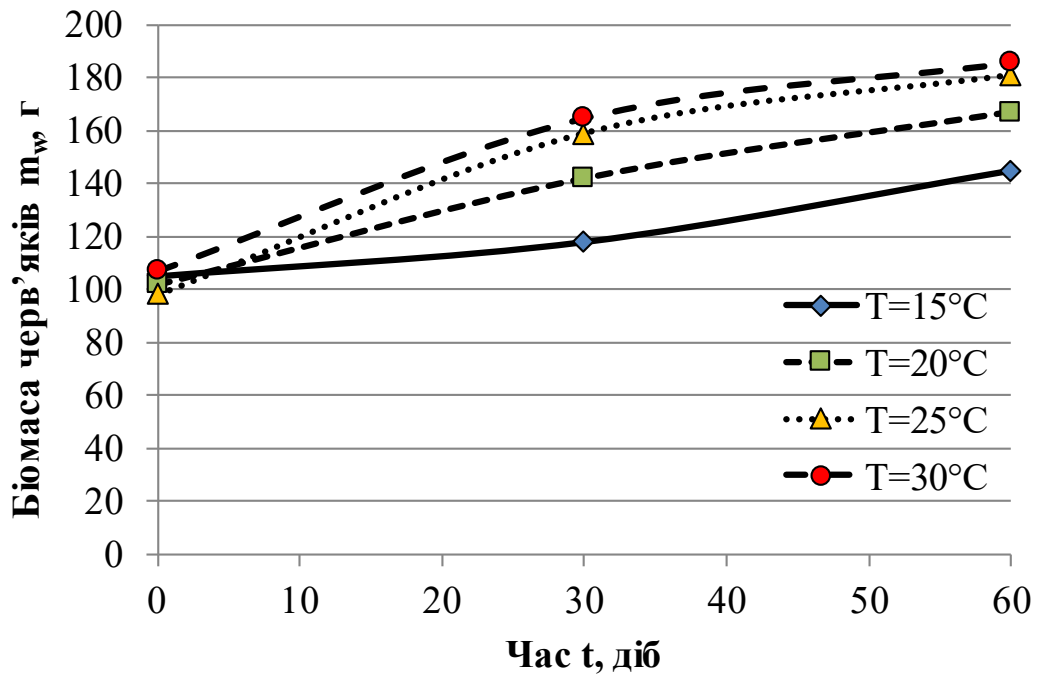


Рис. 3.33 – Вплив температури на біомасу *Eisenia fetida*

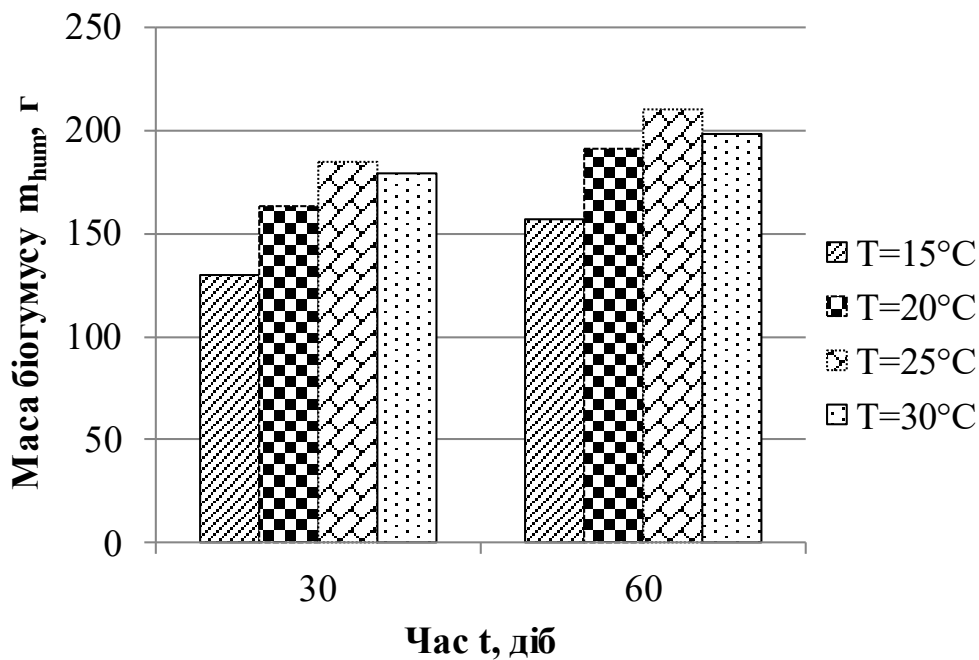


Рис. 3.34 – Вплив температури на продукцію маси біогумусу

Вологість. Оптимальною величиною вологості органічного субстрату вважають 60–80 %. У випадку прогресуючого підсихання спостерігається переміщення черв'яків у більш вологі зони. Якщо вміст води у ґрунті тривалий період нижчий за 30–35 %, чисельність черв'яків знижується, хоча вони можуть втратити без шкоди 50–60 % води від маси тіла.

При вологості ґрунту 22 % черв'яки гинуть протягом тижня. При вирощуванні дощових черв'яків в лабораторних умовах їхня максимальна маса та плодючість досягається при вологості субстрату 70–85 %, бо ця величина

близька до вмісту води у тілі дощового черв'яка.

Кислотність (pH). Оптимальним для черв'яків є нейтральне середовище з $pH = 7,0$. Допускається використання субстрату з pH від 6,2 до 8,0. Черв'яки можуть загинути, якщо реакція середовища кисла ($pH \leq 5,5$) або сильно лужна ($pH \geq 8,5$).

В лабораторних умовах були виконані досліди щодо потенціалу застосування продуктів вермікультивування для фіторекультивациї порушених земель. Основна ідея досліджень полягала у визначенні оптимального складу композитних біогумусових сумішей для фіторемедіациї земель. Композитні суміші (табл. 3.5) складались з трьох інгредієнтів (табл. 3.6): жовто-бурі суглинки, біогумусова суміш (продукт вермікультивування) і насінний матеріал дикорослих рослин сімейства Злаків, зокрема вівсюга (*Avena fatua*), та стоколоса безостого (*Brōmus inērmis*).

Таблиця 3.5 – Склад композитних біогумусових брикетів

| Номер зразка | Інгредієнти, г | | |
|--------------|-------------------|------------------|---------|
| | Біогумусова суміш | Суглиниста суміш | Насіння |
| № 1 | 0 | 50 | 2 |
| № 2 | 10 | 40 | 2 |
| № 3 | 20 | 30 | 2 |
| № 4 | 30 | 20 | 2 |
| № 5 | 40 | 10 | 2 |
| № 6 | 50 | 0 | 2 |

В результаті вегетаційних експериментів визначено найбільш доцільні співвідношення складових композитних біогумусових сумішей для використання в технологіях рекультивациї деградованих земель. Так, у зразках 3 і 4 насіння проросло активніше порівняно з іншими зразками, що свідчить про те, що визначене співвідношення компонентів (20:30 і 30:20 за масою) було найбільш оптимальним для ростових показників рослин (рис. 3.35).

Таблиця 3.6 – Склад композитних брикетів та результати ростового тесту

| Номер зразка | Склад суміші композитного брикету, г | | | Результати ростового тесту | | |
|--------------|--------------------------------------|------------------|---------|----------------------------|-----------------|----------------|
| | Біогумусова суміш | Суглиниста суміш | Насіння | Кількість проростків, шт | Маса коренів, г | Зелена маса, г |
| № 1 | 0 | 50 | 2 | 5 | 0,29 | 1,12 |
| № 2 | 10 | 40 | 2 | 17 | 0,52 | 8,24 |
| № 3 | 20 | 30 | 2 | 46 | 2,78 | 39,1 |
| № 4 | 30 | 20 | 2 | 52 | 3,59 | 51,1 |
| № 5 | 40 | 10 | 2 | 26 | 1,07 | 32,1 |
| № 6 | 50 | 0 | 2 | 24 | 0,76 | 21,2 |

Склад композитних брикетів та результати ростового тесту з аналізом кількості проростків, маси коренів та зеленої маси, представлені в табл. 3.2.

Графіки залежності зеленої маси та маси коренів до кількості проростків подані у рис. 3.36 та 3.37.

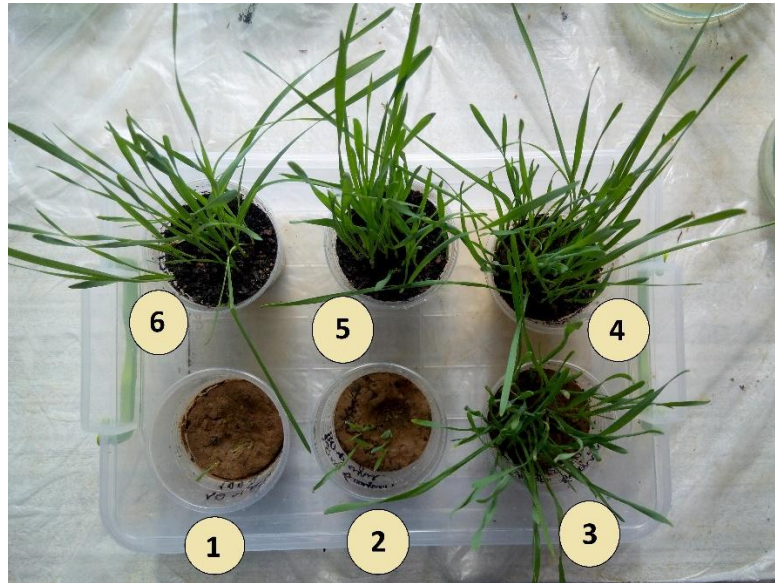


Рис. 3.35 – Результати вегетаційного тесту

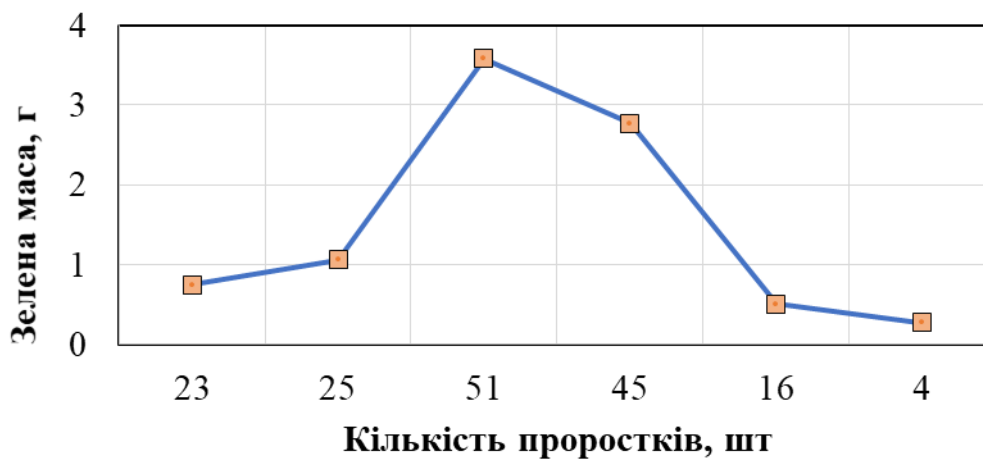


Рис. 3.36 – Залежність зеленої маси до кількості проростків

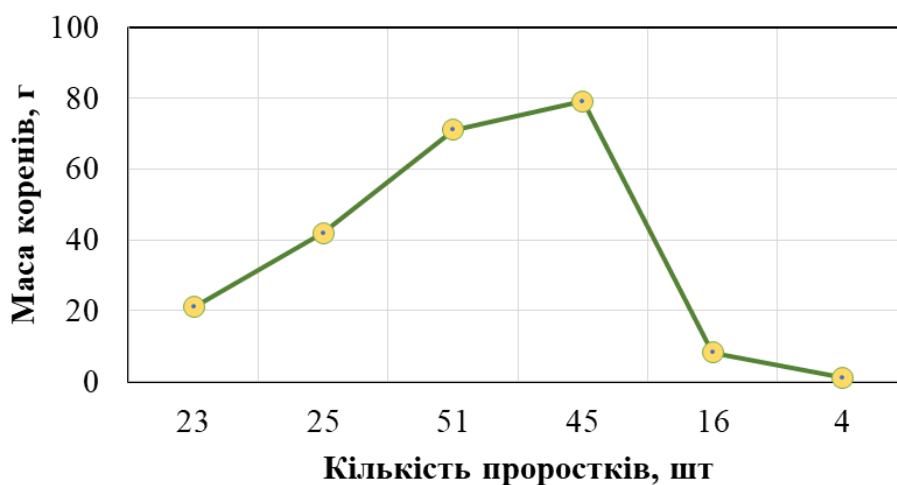


Рис. 3.37 – Залежність маси коренів до кількості зеленої маси

Аналізуючи результати вегетаційного тесту можна зробити висновок, що застосування суто суглинків для рекультиваційних заходів є недоцільним через низький вміст поживних речовин, що обмежує потенціал фітореMediaції порушених земель. Тому, застосування композитних біогумусових сумішей з помірним вмістом гумінової фракції дає оптимальний результат в ростових тестах.

Таким чином, вегетаційні тести свідчать про доцільність використання біогумусу вермікультивування у вигляді композитних сумішей для фітореMediaції порушених земель.

Наукова новизна отриманих результатів пов'язана з перспективою застосування біогумусового продукту вермікультивування у складі композитних сумішей з суглинком та насінням дикорослих злаків для фіторекультивації земель. При цьому, найбільш оптимальне співвідношення біогумусу та суглинку у складі композитних брикетів становить 20:30 і 30:20 за масою, що дозволяє обґрунтувати робочі суміші фітомеліорантів.

Практичне значення отриманих результатів полягає у визначенні способу фіторекультивації з використанням біогумусових брикетів з насінням стійких дикорослих злаків, що допоможе поліпшити стан та продуктивність порушених земель, забезпечити механічну стабільність, що важливо для закріплення схилів, довготривалий і ефективний захист поверхні схилів від водної і вітрової ерозії.

Отримані результати дають підставу для розвитку запропонованого методу фіторекультивації порушених і забруднених земель з використанням дикорослих видів злаків для створення піонерних рослинних угруповань, що є ефективним попереднім етапом біологічного відновлення ландшафту [80].

Перелік літературних джерел до розділу 3

1. Ali H, Khan E, Sajad M. Phytoremediation of heavy metals – Concepts and applications *Chemosphere*. 2013. Vol. 91, no. 7. P. 869–881. URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075> (date of access: 06.06.2020)

2. Sharma P., Pandey S. Status of Phytoremediation in World Scenario. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. 2014. Vol. 2 no. 4, P. 178–191.

3. Shustov O., Pavlychenko A., Bielov O., Adamchuk A., Eluzakh M. Prospects for systematization of lignite deposits to provide Ukraine with raw materials in the postwar period. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2024, Vol. 1348 no. 1, 012044. URL: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1348/1/012044>. (date of access: 09.08.2024)

4. Національна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Україні у 2019 році. Видавництво Мінприроди України. 559 с. URL: <http://surl.li/fhexee>. (дата звернення: 05.10.2024)

5. Україна: родючість ґрунту для посилення кліматичної стійкості. Попередня оцінка потенційних переваг природозберігаючого сільського господарства 2014 р. Світовий банк і Продовольча та сільськогосподарська організація ООН. URL: <http://www.fao.org/3/i3905e/i3905e.pdf>. (дата звернення: 09.06.2024)

6. Klimkina I., Kharytonov M., Wiche O., Heilmeyer H. Phytoremediation of spoil coal heaps in Western Donbas (Ukraine). *Geophysical Research Abstracts*, 19, EGU2017-1312, EGU General Assembly. 2017. URL: <http://surl.li/scuzej>. (date of access: 12.04.2024)
7. Krasovskyi S., Kovrov O., Klimkina I., Wiche O. Impact of substrate acidification on the plant availability of some trace elements in a coal waste material. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*. 2022. Vol. 17, no. 1. P. 171–178. URL: <https://doi.org/10.26471/cjees/2022/017/211> (date of access: 12.09.2024)
8. Надточій П.П., Мислива Т.М. Охорона та раціональне використання природних ресурсів і рекультивація земель. Житомир, 2007. 420 с.
9. Самохвалова В. Л., Фатєєв А. І., Зуза С. Г., Погромська Ю. А., Зуза В. О., Панасенко Є. В. та Горпинченко П. Ю. Фіторемедіація техногенно забруднених ґрунтів. 2015. *Агроекологічний журнал*. №1. С. 92–100. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/agrog_2015_1_13. (дата звернення: 08.07.2024)
10. Ковров О., Федотов В., Зворигін К. Обґрунтування технології фіторемедіації деградованих ландшафтів на основі екосистемного підходу. Аудит технології та резерви виробництва. 2019. 6/3(50) С. 3–9. URL: <https://doi.org/10.15587/2312-8372.2019.185204> (дата звернення: 12.06.2024)
11. Pavlychenko, A., Adamchuk, A. and Shustov, O. Technology of deep open-cast mines reclamation. In: *Modern forms of development of resource-saving technologies for minerals mining and processing*. UNIVERSITAS Publishing. 2024. P. 180-199. URL: <https://doi.org/10.31713/m1311> (date of access: 13.10.2024)
12. Kharytonov M.M., Klimkina I.I., Wiche, O., Multiple Environment Assessment of Artificial Profiles of Reclaimed Minelands, Actual problems of natural sciences: modern scientific discussions: Collective monograph. Riga: Izdevnieciba “Baltija Publishing”. 2020. P. 600–624. URL: <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-45-7.29>. (date of access: 12.09.2024)
13. Kharytonov M. Geochemical assessment of reclaimed lands in the mining regions of Ukraine, NATO ARW Soil chemical pollution, risk assessment, remediation and security. Springer, Printed in the Netherlands. 2007. P. 57–60. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8257-3_16 (date of access: 18.11.2024)
14. Kharytonov M.M., Klimkina I.I., Martynova N.V., Rula I.V., Gispert M., Pardini G. Estimation of the Biochar Effect on Annual Energy Crops Grown in Post-Mining Lands, *Ecological Engineering & Environmental Technology*. 2021 22(2) P. 15–26. URL: <https://doi.org/10.12912/27197050/133257>. (date of access: 18.11.2024)
15. Kharytonov, M.M., Klimkina, I.I., Martynova, N.V., Rula, I.V., Gispert M., Pardini G.M. The biochar impact on miscanthus and sunflower growth in marginal lands. *Agrology*. 2019. Vol. 3, no. 1. P. 3-11. URL: <https://doi.org/10.32819/020001>. (date of access: 12.10.2024)
16. Frolova L., Kharytonov M., Klimkina I., Kovrov O., Koveria A. Investigation of the adsorption of ions chromium by mean biochar from coniferous trees. *Applied Nanoscience*. 2022. Vol. 12. P. 1123–1129. URL: <https://doi.org/10.1007/s13204-021-01995-1> (date of access: 11.10.2024)
17. Гавриляк М.Ю., Баранов В.І. 2010 Спосіб очищення ґрунтів відвалу вугільних шахт від важких металів. Патент на корисну модель 50789 UA <http://surl.li/jocppg>.
18. Лаврик М.О., Павличенко А.В. Фіторемедіація засоленних ґрунтів вугледобувних регіонів України. *Геотехнічна механіка*. 2013. 111 С. 77–85. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/87347/09-Lavryk.pdf?sequence=1> (дата звернення: 23.11.2024)

19. Zverkovsky V.M., Sytnyk S.A., Lovinska V.M., Kharytonov M.M., Lakyda I.P., Mykolenko S.Yu., Pardini G., Margui E., Gispert M. Remediation potential of forest forming tree species within northern steppe reclamation stands, *Ecologia* (Bratislava). 2018. Vol. 37, no. 1, P. 69–81. URL: <https://doi.org/10.2478/eko-2018-0007> (date of access: 11.11.2024)
20. Lovynska V.M., Holoborodko K.K., Sytnyk S.A., Ivanko I.A., Buchavyi Yu.V., Alekseeva A.A. Study on accumulation of heavy metals by green plantations in the conditions of industrial cities, *Naukovyi Visnyk Natsionalnoho Hirnychoho Universytetu*, 2022. no. 6. P. 117-122. URL: <https://doi.org/10.33271/nvngu/2022-6/117> (date of access: 12.11.2024)
21. Зубов А.А., Зубова Л.Г., Зубов А.Р. Лісова рекультивация відвалів Екологічний вісник Північного Кавказу. 2020. Т. 16, №3. С. 64–73 URL: <http://surl.li/yaqaky>. (дата звернення: 01.12.2024)
22. Bilal E., Bellefqih H., Bourgier V., Mazouz H., Dumitraş D.-G., Bard F. Phosphogypsum circular economy considerations: A critical review from more than 65 storage sites worldwide. *Journal of Cleaner Production*. 2023. P. 414 URL: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137561> (date of access: 10.11.2024)
23. Plyatsuk L., Balintova M., Chernysh Y., Demcak S., Holub M., Yakhnenko E. Influence of Phosphogypsum Heap on the Soil Ecosystem in the Sumy region (Ukraine). *Appl. Sci.*, 2019. Vol. 9 no. 24, 5559. URL: <https://doi.org/10.3390/app9245559>. (date of access: 09.11.2024)
24. Dushenkov S., Mikheev A., Prokhnevsky A., Ruchko M., Sorochinsky, B. Phytoremediation of Radiocesium-Contaminated Soil in the Vicinity of Chernobyl, Ukraine. *Environ. Sci. Technol.* 1999. Vol. 33. P. 469–475.
25. Chernysh Y., Balintova M., Shtepa V., Skvortsova P., Skydanenko M., Fukui M. Integration of Processes of Radionuclide-Contaminated Territories Decontamination in the Framework of their Ecological-Socio-Economic Rehabilitation, *Ecological Engineering and Environmental Technology*. 2022. Vol. 23, no. 1. P. 110-124. URL: <https://doi.org/10.12912/27197050/143002> (date of access: 06.09.2024)
26. Борецька І Ю, Джура Н. М. та Романюк О. І. ФітореMediaція техногенно забруднених ґрунтів з використанням енергетичних культур. *Екологічні науки*. 2021. 6(39) С. 72–76 URL: <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2021.eco.6-39.11>. (дата звернення: 11.10.2024)
27. Булавенко Р. В. Можливості використання фітолікувальних рослин для захисту ґрунтів Полтавської області від діяльності об'єктів нафтової промисловості. *Екологічна безпека*. 2013. №1. С. 99 – 102. URL: [http://www.kdu.edu.ua/EKB_jurnal/2013_1\(15\)/Pdf/99.pdf](http://www.kdu.edu.ua/EKB_jurnal/2013_1(15)/Pdf/99.pdf). (дата звернення: 03.09.2024)
28. Романюк О. І., Шевчик Л. З. Використання обліпихи для фітореMediaції нафтозабруднених ґрунтів. *Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету*. 2016. 6(3) С. 472–480.
29. Цвілинюк О., Буньо Л. В., Карпін О. Л. та Пенцак А. Я. ФітореMediaція нафтозабруднених ґрунтів із застосуванням *Carex hirta*. *Будівництво, матеріалознавство, інженерія: зб. науки тр.* 2017. 99. С. 187–193.
30. Клепач Г., Кречківська Г., Іскович Л. та Волошанська С. Оцінка методів рекультивации насипу Бориславського озокеритового родовища *Вісник Львівського університету*. 2015. Серія біологічна. 70. С. 100–109. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/VLNU_biol_2015_70_14. (дата звернення: 19.09.2024)
31. Самарська А., Ковров О. та Зеленко Ю. Дослідження джерел важких металів на залізницях: баластний шар і гербіциди. *Журнал екологічної інженерії*. 2020. 21(8) С. 32–46. URL: <https://doi.org/10.12911/22998993/127393>. (дата звернення: 19.09.2024)

32. Yakovyshyna T. Integrated Approach of Phytostabilization for Urban Ecosystem Soils Contaminated with Lead. *Environmental Research Engineering and Management*. 2021. Vol. 77, no. 2, P. 43–52. URL: <https://doi.org/10.5755/j01.arem.77.2.28633> (date of access: 16.10.2024)
33. Yakovyshyna T.F. Improvement of phytoextraction technology of heavy metals from soil, *Bulletin of the Sumy National Agrarian University. Series: Agronomy and Biology*. 2013. Vol. 3. P. 72–76. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_agro_2013_3_21. (date of access: 16.11.2024)
34. Mykola Kharytonov, Nadia Martynova, Mykhailo Babenko, Oleksandr Kovrov, Liliya Frolova, Paloma Hueso González. Application of flocculated sewage sludge for growing miscanthus on post-mining lands. *International Journal of Environmental Studies*. 2023. URL: <https://doi.org/10.1080/00207233.2023.2262867>. (date of access: 15.09.2024)
35. Корж О.П., Савченко І.Г. та Гура Н.О. 2013 Фіторемедіаційний спосіб очищення ґрунтів від важких металів Патент на корисну модель 76416 UA. <http://surl.li/qkrbnn>.
36. Prysedykyi Y. Lykholat, Y. Influence of sulfite and fluoride soil contamination on the pigment content in some species of arboreal plants. *Biologija*. 2017. Vol. 63, no. 3. P. 264–269. URL: <https://doi.org/10.6001/biologija.v63i3.3581>. (date of access: 15.09.2024)
37. Korol K., Popovych, V. Spectral Analysis Method for Distinguishing Heavy Metals Pollution in the Pioneer Vegetation of Landfills Located within the Prikarpatian Geobotanical District of Ukraine, *Ecological Engineering & Environmental Technology*. 2023. Vol. 1. P. 29–37. URL: <https://doi.org/10.12912/27197050/154910>. (date of access: 15.09.2024)
38. Красовський С.А. Розробка технології фіторекультивації відвалів відходів вуглевидобування. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 183 – «Технології захисту навколишнього середовища». Національний технічний університет «Дніпровська політехніка», Дніпро, 2024. <http://surl.li/czxtfz>.
39. Ковров, О.С. Красовський С.А. (2024). Спосіб біологічної рекультивації відвалів відходів вуглевидобування. Патент на корисну модель 155114, Україна. Режим доступу: <https://iprop-ua.com/inv/xiz6z11o>.
40. Паньків З. П., Наконечний Ю. І. – Львів : ЛНУ імені Івана. Франка, 2020. – 196 с.
41. Черба О.В., Квасов В.А. . Комплексна інтегральна оцінка антропогенного впливу на навколишнє природне середовище України. *Scientific and educational dimensions of natural sciences: Scientific monograph*. Baltija Publishing. 2023. С. 256–273.
42. Національна доповідь про стан Національна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Україні у 2021 році. Київ, 2022. URL: <https://mepr.gov.ua/wp-content/uploads/2023/01/Natsdopovid-2021-n.pdf> (дата звернення: 23.11.2024).
43. Бузіна І.М. Фіторемедіаційні технології в агроландшафтних екосистемах *Міжнародна науково-практична конференція «Перспективи виробництва біосировини енергетичних культур на рекультивованих землях» / м. Дніпро, 23–24 червня 2022 року, С. 207–210.*
44. Макас А., Крусір Г. Утилізація відходів кавового виробництва, як необхідні заходи природоохоронних технологій. *7-й Міжнародний молодіжний конгрес «Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування»/ Львів, 10-11 лютого 2022, 180.*

45. Tombarkiewicz B., Antonkiewicz J., Lis M.W., Pawlak K., Trela M., Witkiewicz R., Gorczyca O. Chemical properties of the coffee grounds and poultry eggshells mixture in terms of soil improver. *Scientific Reports*. 2022. Vol. 12 no. 1. 2592.
46. Wang X., Wang Y., Hu G., Hong D., Guo T., Li J., Li Z., Qiu M. Review on factors affecting coffee volatiles: From seed to cup. *J. Sci. Food Agric*. 2022. P. 1341–1352.
47. Горова А.І., Павличенко А.В., Борисовська О.О., Грунтова, В.Ю., Деменко О.В. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт студентами напряму підготовки 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування». 2014. Дніпро: Національний гірничий університет.
48. Ковров О.С., Маліченко В.В., Кулікова Д.В., Бучавий Ю.В., Грунтова В.Ю. Дослідження перспектив використання композитних брикетів з відходів кави для технологій фіторемедіації деградованих земель. *Збірник наукових праць НГУ*. 2024. Дніпро: Національний ТУ «Дніпровська політехніка», 2024. № 76. С. 283–291. URL: <https://doi.org/10.33271/crpnmu/76.283>. (дата звернення: 09.08.2024)
49. Цицюра Я.Г., Шкатула Ю.М., Забарна Т.А., Пелех Л.В. Інноваційні підходи до фіторемедіації та фіторекультивації у сучасних системах землеробства: монографія. Вінниця: ТОВ «Друк», 2022. 1200 с.
50. Бобильов Ю.П., Бригадиренко В.В., Булахов В.Л. та ін. Екологія: підручник для студентів вищих навчальних закладів / за заг. ред. О.Є. Пахомова. Харків: Фоліо, 2014. 666 с.
51. Тонха О.Л., Галімова В.М. Моніторинг важких металів у системі ґрунт-рослина-тварина в залежності від обробітку ґрунту. *Науковий вісник Національного аграрного університету*. 2005. № 81. С. 200–206.
52. Андрієвська О.А. Геохімічний огляд розподілу цинку у компонентах техногенних ландшафтів поблизу військових полігонів України. *Пошукова та екологічна геохімія*. 2009. № 1(9). С. 48–52.
53. Єгорова Т.М., Корнілова Н.А., Мінералов О.І. Вплив критичного надлишку мікроелементів на розвиток культури ячмінь (*Hordeum*). *Agroecological journal*. 2022. № 2. С. 86–91. <https://doi.org/10.33730/2077-4893.2.2022.263322>.
54. Цицюра Я.Г. Рекультивація і фіторемедіація деградованих земель: метод. вказівки. Вінниця: ВНАУ, 2023. 360 с.
55. Кучерявий В.П., Генік Я.В., Дида А.П., Колодко М.М. Рекультивація та фітомеліорація. Львів: Вид-во НЛТУ України, 2006. 116 с.
56. Prasad M.N.V., Freitas H. Feasible Biotechnological and Bioremediation Strategies for Serpentine Soils and Mine Spoils. *Electron. J. Biotechnol*. 1999. Vol. 2. P. 35–50.
57. Горова А.І., Павличенко А.В., Борисовська О.О., Грунтова В.Ю., Деменко О.В. Біоіндикація: метод. рекомендації. Д.: Національний гірничий ун-т, 2014. 76 с.
58. Державні санітарні правила та норми. 2. Комунальна гігієна. 2.7. Ґрунт, очистка населених місць, побутові та промислові відходи, санітарна охорона ґрунту. «Гігієнічні вимоги щодо поводження з промисловими відходами та визначення їх класу небезпеки для здоров'я населення»: ДСанПіН 2.2.7.029-99. URL: <https://surli.cc/lgaklj>. (дата звернення: 23.03.2024).
59. Ковров О.С., Сушко З.Л. Дослідження впливу цинку на ростові показники рослин-фіторемедіантів. *Екологічні науки*, 2024. № 2(53), С. 90–98. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2024.eco.2-53.13>. URL: (дата звернення: 28.09.2024)
60. Shetty A., Biradar P.M. Biology of the epigeic earthworm *Eisenia fetida* in different organic wastes. *J. Environ. Biol*. 2023. 44. P. 736-743. URL: <http://doi.org/10.22438/jeb/44/5/MRN-5133>. (date of access: 12.10.2024)

61. Iordache M.. Survival, weight and prolificacy of *Eisenia fetida* (Savigny 1826) in relation to food type and several soil parameters. *Pol. J. Environ. Stud.* 2018 Vol. 27, no.1. P. 109-115. URL: <https://doi.org/10.15244/pjoes/74902> (date of access: 12.10.2024)
62. Hartenstein R., Neuhauser E., Kaplan D. Reproductive potential of the earthworm *Eisenia foetida*. *Oecologia.* 1979. Vol. 43. P. 329–340. URL: <https://doi.org/10.1007/BF00344959> (date of access: 02.11.2024)
63. Salazar-Murillo L., Chacón-Villalobos A., Herrera-Muñoz Juan I. Crecimiento, eficiencia y composición de tilapia (*Oreochromis aureus*) alimentada con lombriz roja (*Eisenia fetida*). *Nutrición Animal Tropical.* 2023. Vol. 17, no. 1. P. 1–35 URL: <https://doi.org/10.15517/nat.v17i1.54085> (date of access: 02.11.2024)
64. Edwards C.A. Production of feed protein from animal waste by earthworms. *Philosophical Transactions of the Royal Society-B.Biol. Sci.* 1985. Vol. 310, no. 1144. P. 299-307. URL: <https://doi.org/10.1098/rstb.1985.0120> (date of access: 22.09.2024)
65. Venter J.M., Reinecke A.J. The life-cycle of the compost worm *Eisenia fetida* (*Oligochaeta*), *South African Journal of Zoology.* 1988. Vol. 23, no 3. P. 161-165. URL: <https://doi.org/10.1080/02541858.1988.11448096> (date of access: 13.11.2024)
66. Podolak A., Kostecka J., Mazur-Pączka A., Garczyńska M., Pączka G., Szura R. Life cycle of the *Eisenia fetida* and *Dendrobaena veneta* earthworms (*Oligochaeta*, *Lumbricidae*), *Journal of Ecological Engineering.* 2020. Vol. 21, no. 1. P. 40–45. URL: <https://doi.org/10.12911/22998993/113410> (date of access: 19.10.2024)
67. Beyginiya V., Khoramivafa M., Sayadiyan K., Yeganehpour F. Effect of seasons and substrates different on the quality of the compost produced by worms *Eisenia fetida*. *Intl J Farm & Alli Sci.* 2013. Vol. 2, no. 20. P. 816-820.
68. Ali S., Kashem M.A. Life cycle of vermicomposting earthworms *Eisenia fetida* and *Eudrilus eugeniae* under laboratory controlled condition. *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research.* 2018. Vol. 10, no. 5. P. P. 8110-8113. URL: <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.10.002015> (date of access: 22.11.2024)
69. Шарга Б.М., Ніколайчук В.І., Мага І.М. Вермікультура. Методичні рекомендації для студентів з курсу „Ґрунтознавство”. Вид-во Ужгородського національного університету. 126 с.
70. Жариков Г.А., Шаланда А. В. Проблема оцінки ризику при вермікомпостуванні органічних відходів. *Агро XXI.* 2008. 1, С. 33–35.
71. Reynolds J.W., & Wetzel, M.J. *Nomenclatura Oligochaetologica. Supplementum Quartum.* A catalogue of names, descriptions and type specimens of the *Oligochaeta*. Illinois Natural History Survey Special Publication. 2004.
72. Гетта А.А., Ковров О.С., Федотов В.В., Грунтова В.Ю., Панова Є.А. Дослідження життєвого циклу каліфорнійського черв'яка *Eisenia fetida*. Збірник наукових праць НГУ. – Дніпро: Національний ТУ «Дніпровська політехніка», 2024 – № 77. URL: <http://znp.nmu.org.ua/index.php/en/archives>. (дата звернення: 28.11.2024)
73. Панас, Р.М. (2005). *Рекультивация земель.* Львів: Новий світ.
74. Сендецький, В.М., Колісник, Н.М., Мельник, І.П. (2010). *Спосіб одержання біологічного стимулятора росту рослин «Верміюодіс»* (Патент 55998 Україна, МПК7 A01N59/00).
75. Сендецький, В.М. (2009). Еколого-агрохімічне обґрунтування переробки органічних відходів агропромислового комплексу в біодобриво «Біогумус» методом вермікультивування. *Агроекологічний журнал*, 3, 295-297.
76. Ковров, О.С., Колісник, К.В. (2023). Біологічна рекультивация ґриничопромислових земель біогумусовими матеріалами // Міжнародна науково-

технічна конференція «MININGMETALTECH 2023 – Гірничо-металургійний комплекс: інтеграція бізнесу, технологій та освіти», 29–30 листопада 2023 року. – С. 196–199. DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-361-3-144>.

77. Кулик, А.П., Гармаш, С.М. (2000). Технологія переробки відходів сільськогосподарського виробництва. *Новини Українського товариства інженерів та механіків*, 2(1, 2), 55-56.

78. Ковров О. С., Клімкіна І. І., Кодаченко Л. В. Обґрунтування способу фітореMediaції деградованих та забруднених земель композитними біогумусовими брикетами. *Technology audit and production reserves: Industrial and technology systems*. – 2019. – Vol. 5/3 (49). – P. 28–32. <https://doi.org/10.15587/2312-8372.2019.183078>.

79. Харитонов, Н.Н., Кулік, О.П., Гармаш, С.Н., Мельничук, Т.М. (2003). Дослідження ефективності біогумата – продукту переробки рослинних відходів вермікультурою *Eisenia foetida*. *Питання хімії та хімічної технології*, 4, 128-130.

80. Ковров О. С. (2023). Перспективи фіторекультивації деградованих земель композитними біогумусовими брикетами / О. С. Ковров, А. А. Гетта, В. В. Федотов, В. Ю. Грунтова, А. Д. Баланюк // Національний гірничий ун-т. Збірник наукових праць. – Дніпро : НТУ «Дніпровська політехніка», № 75. – С. 103-110.

ВИСНОВКИ

Деградація та забруднення земель є світовою екологічною проблемою сьогодення, яка пов'язана з втратою гумусу і зменшенням родючості, розвитком ерозійних процесів, забрудненням ґрунтів тощо. Виснаження і забруднення ґрунтів здебільшого пов'язане з атмосферними викидами промислових підприємств і автотранспортних засобів, із видобуванням та переробкою корисних копалин, розташуванням побутових і промислових відходів. Існує проблема забруднення земель важкими металами, особливо навколо промислових міст, на узбіччях доріг, у зонах екологічних катастроф. Таким чином, виникає нагальна потреба у запровадженні екологобезпечних технологій відновлення земель, які зазнали змін у структурі рельєфу та стані ґрунтів внаслідок тривалого техногенезу і розробки родовищ корисних копалин.

Аналіз стану досліджень проблематики за напрямом проекту свідчить, що обрання саме «зелених» технологій реабілітації техногенно деградованих земель постає сучасним трендом сьогодення для забезпечення стратегій стійкого розвитку.

Оскільки забруднення ґрунтів токсичними важкими металами є серйозною екологічною проблемою, необхідні ефективні методи відновлення. Фізичні та хімічні методи очищення та відновлення забруднених важкими металами ґрунтів мають низку серйозних обмежень, як висока вартість, незворотні зміни властивостей ґрунту, руйнування самородних ґрунтових угруповань та створення вторинних проблем забруднення. На відміну від цього, технології біомайнінгу і фітореMediaції є кращими рішеннями цієї проблеми. Ці екологічно чисті і відповідальні технології базуються на природних процесах відновлення довкілля і позитивно сприймаються громадськістю.

Ідея біомайнінгу у поєднанні з фітореMediaцією полягає в розробці нових екологобезпечних технологій відновлення техногенно деградованих та порушених внаслідок розробки корисних копалин земель, що базуються на системному підході з використанням напрямів фіторекультивації і мікробного біовилуговування важких металів на гірничопромислових територіях.

Реалізація стратегій біомайнінгу та фітореMediaції досягається через комплексне використання методів аналізу фізико-хімічних та екологічних параметрів територій з обґрунтуванням найкращих екологобезпечних технологій відновлення природних ландшафтів, сільськогосподарських земель, промислових та урбанізованих територій, які були пошкоджені або деградовані внаслідок впливу техногенних факторів, таких як гірничі роботи та переробка корисних копалин, сільське господарство, а також природних катастроф, воєнних дій або інших негативних впливів.

Реалізація описаних в монографії інновацій, методичних підходів та технологічних рішень дозволить створити базу нових знань та прикладних технологій призначених для стратегій відновлення земель України на національному та регіональному рівнях.

Перелік умовних скорочень

Af – *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. ferrooxidans*)

Lf – *Leptospirillum ferrooxidans* (*L. ferrooxidans*)

At – *Acidithiobacillus thiooxidans* (*A. thiooxidans*).

EPS – extracellular polymeric substances (позаклітинні полімерні речовини)

AFM – atomic force microscopy (атомно-силова мікроскопія)

CLSM – confocal laser microscopy (конфокальна лазерна мікроскопія)

RISCs – reduced inorganic sulfur compounds (відновлені неорганічні сполуки сірки)

CSTR – continuous stirred tank reactor (резервуарний реактор безперервної дії з перемішуванням)

PLS – pregnant leach solution (насичений розчин вилуговування)

Наукове видання

Ковров Олександр Станіславович
Клімкіна Ірина Іванівна

БІОМАЙНІНГ

Монографія

Видано в авторській редакції.

Підписано до друку 13.03.2025 р. Формат 60x84/16.
Папір офсетний. Друк цифровий. Ум. друк. арк. 12,5.
Обл.-вид. арк. 12,5. Тираж 100 прим. Зам. №

Підготовлено до друку
в Національному технічному університеті «Дніпровська політехніка».
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру ДК № 1842 від 11.06.2004 р.
49005, м. Дніпро, просп. Д. Яворницького, 19.

Видавництво «Журфонд»
49000, м. Дніпро, просп. Д. Яворницького, 60.
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру ДК № 684 від 21.11.2001 р.

Віддруковано:
ФОП Вахмістров О.Є.,
м. Дніпро, вул. Писаржевського, буд. 18

Ковров О.С.

К56 Біомайнінг: монографія / О.С. Ковров, І.І. Клімкіна; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка». – Дніпро: Журфонд, 2025. – 164 с.

ISBN 978-966-934-674-2

В монографії наведено ґрунтовний аналіз існуючих екологічних технологій біомайнінгу з фокусом на механізми біовилуговування металів з руд та гірничих відходів. Розглянуто сучасні технології фіторе mediaції забруднених важкими металами земель із застосуванням методів фітоекстракції, фітостабілізації, фітодеградації, фітодесалінізації.

Монографія є результатом наукових досліджень і частиною дисциплін «Біотехнології в гірництві» та «Інноваційні екологічні технології в ЄС та Україні» розроблених та впроваджених в навчальний процес в рамках освітнього проєкту «Стандарти Європейського Союзу щодо екологічної реабілітації гірничопромислових земель» (EUSERML 101085715), який реалізовано в НТУ «Дніпровська політехніка» за підтримки програми Європейського Союзу Еразмус+.

УДК 502:504