

УДК 606:662.7:[546.3+504]

**І.А. Блайда, Т.В. Васильєва, В.Ф. Хитрич, Н.Ю. Васильєва,
О.І. Джамбек, О.А. Джамбек**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: +38 (048) 746 51 02,
e-mail: iblayda@ukr.net

ФІЗИКО-ХІМІЧНА ТА МІКРОБІОЛОГІЧНА ХАКТЕРИСТИКА ПОРОДНИХ ВІДВАЛІВ ЗБАГАЧЕННЯ ВУГІЛЛЯ

***Мета.** Вивчення фізико-хімічних та мікробіологічних особливостей техногенних субстратів в залежності від часу їх зберігання. **Методи.** Атомно-емісійна і атомно-абсорбційна спектроскопія, потенціометричний метод і авторська запатентована електрохімічна комірка, стандартний мікробіологічний метод накопичувальних культур. **Результати.** Встановлено, що в відвалах при тривалому зберіганні відбувається концентрування за більшістю складових і окиснення йонів металів сировини до вищого ступеня з утворенням більш стійких рівноважних структур. Показано вплив власної мікробіоти субстратів відвалів на їх стійкість в процесі переробки. Отримано і кількісно оцінено накопичувальні культури мікроорганізмів різних фізіологічних груп, які формують мікробіоценоз субстратів. Встановлено кількісне переважання представників основних груп ацидофільних хемолітотрофних бактерій, як мезофільних, так і помірно термофільних, власної мікробіоти відвалів з тривалим часом зберігання, що призводить до більш вираженого прояву впливу біоценозу на фізико-хімічні характеристики цих субстратів. **Висновки.** В процесі накопичення та зберігання відвалів у їх складі відбуваються значні фізико-хімічні та мікробіологічні зміни, які повинні враховуватися при виборі умов утилізації цих техногенних субстратів біотехнологічними методами з використанням активності представників власної мікробіоти.*

Ключові слова: відвали, мікробіота, вилуговування, ацидофільні хемолітотрофні бактерії.

Попередні дослідження [1, 6, 15] показали, що породні відвали Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) «Червоноградська» ПАТ «Львівська вугільна компанія» можуть розглядатися як джерело отримання цінного рідкісного металу германію сучасними біотехнологічними методами шляхом використання активності мікроорганізмів аборигенної мікробіоти. ЦЗФ збагачує кам'яне вугілля шахт Львівсько-Волинського вугільного басейну гравітаційним і флотаційним методами, є найбільшою збагачувальною фабрикою у Європі.

© І.А. Блайда, Т.В. Васильєва, В.Ф. Хитрич, Н.Ю. Васильєва, О.І. Джамбек, О.А. Джамбек, 2016



За термін своєї діяльності ЦЗФ накопичила десятки мільйонів тон відвалів. Основний породний відвал ЦЗФ має висоту більш 60 метрів, займає площу близько 75 га і має відсіпки породи, які відрізняються за кольором: червоний – з тривалим часом зберігання, чорний – з коротким (рис. 1).

Нами було встановлено, що у своїй загальній масі за мінералогічним, хімічним, дисперсним складом породні відвали ЦЗФ «Червоноградська» є дуже складною сировиною, екологічно небезпечною за рахунок підвищених концентрацій токсичних компонентів і важких металів, а також цінною з точки зору вилучення рідкісних та кольорових металів [4, 5]. Відвали мають перспективу для отримання рідкісного металопродукту та знешкодження шляхом використання для їх переробки сучасного екологічно безпечного біотехнологічного методу.



Рис.1. Породний відвал ЦЗФ «Червоноградська»

Fig. 1. The waste dumps of “Chervonogradska” CCP

Запропонована авторами біотехнологія переробки породних відвалів ЦЗФ передбачає використання корисних окиснювальних властивостей власної мікробіоти відвалів по відношенню до цінних та важких металів. Було встановлено [5], що під впливом певних техногенних і природних чинників у процесі утворення, складування та зберігання в досліджуваних техногенних екосистемах формується особливе за своїм складом аборигенне співтовариство, яке представлене переважно гетеротрофними і ацидофільними хемолітотрофними бактеріями. В процесі зберігання у відвалах під впливом зовнішніх чинників (вологість, атмосферний кисень, вітер, температура і ін.) відбуваються зміни фізико-хімічних та мікробіологічних властивостей, що впливають на мікробіоценоз і на здатність сформованих рівноважних структур, які представлені в основному аргілітом алевролітістим (з переважанням монтморилоніту), каолінітом, кварцовим мінералом типу пісковика, піритом [6], до деструкції.

Мета роботи – встановлення особливостей фізико-хімічних та мікробіологічних властивостей породних відвалів збагачення вугілля відвалів Центральної збагачувальної фабрики «Червоноградська» залежно від часу їх зберігання.

Матеріали і методи

Для досліджень використовували зразки відвалів вуглезбагачення ЦЗФ «Червоноградська», які відрізнялися часом збереження в природних умовах: червоний – з тривалим (понад 6 місяців); чорний – з коротким (менше за 6 місяців). Кількісний аналіз твердих субстратів здійснювали на атомно-емісійному спектрометрі ЭМАС-200 ССД. Хімічний аналіз розчинів на вміст металів здійснювали із застосуванням методу спектроскопії атомної абсорбції на приладах ААС-1 і С-115ПК Selmi [13]. Для вимірювання окиснювально-відновного потенціалу (Eh, мВ) і рН використовували потенціометричний метод і авторську запатентовану електрохімічну комірку [16]. Вимірювання проводили за допомогою рН-метра InoLab. Межа основної абсолютної похибки становить $\pm 0,05$ (для рН) і ± 5 мВ (для Eh). Дослідження проводили з природним (з власною мікробіотою) та автоклавованим (без мікробіоти) субстратом, при співвідношенні твердого до рідкого субстрату Т:Р=1:10, за температури $24,0 \pm 0,5$ °С. В роботі використовували мезофільний штам MFLv37, який був ідентифікований за допомогою класичних мікробіологічних методів як *Acidithiobacillus ferrooxidans* [7], виділений з відвалу Львівсько-Волинського вугільного басейну, найбільш активний, який швидко росте. Його додавали до розчину для прискорення процесу біовилуговування цінних і важких металів.

Для визначення впливу власної мікробіоти субстратів на процес вилуговування металів використовували, як вилуговуючі реагенти, воду (рН 5,6) і сірчаноокислий розчин (рН 1,4), дослідження проводили за температури $24,0 \pm 0,5$ і $80,0 \pm 0,5$ °С, співвідношення Т:Р=1:4, терміну вилуговування (τ) 4 години. За контроль слугували попередньо автоклавовані мінеральна сировина і реактиви.

Для виявлення різних фізіологічних груп мікроорганізмів власної мікробіоти використовували метод накопичувальних культур. Інкубування проб проводили на відповідних стандартних живильних середовищах за загальними мікробіологічними методиками [2, 8, 10, 11]. Для виявлення представників хемолітотрофних ацидофільних бактерій використовували середовища 9К і 9К*, нейтрофільних хемолітотрофних – середовище Бейерінка, для представників роду *Leptospirillum* – середовище 882 [8, 10], для помірно термофільних представників роду *Acidithiobacillus* – середовище 150a [8, 10], для гетеротрофних – середовище Горбенко, для міцеліальних грибів – середовище Чапека, для «силікатних» – середовище А-27.

Статистичне опрацювання даних здійснювали стандартними методами; достовірність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента з вірогідністю $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Аналіз даних хімічного складу відвалів, наведених у таблиці 1, свідчить про те, що основними пороодоутворювальними елементами в обох субстратах є кремній, алюміній, залізо і сірка, що формують досить стійкі алюмосилікатні, сульфідні і оксидні структури. Однак в червоних відвалах при тривалому зберіганні за рахунок вивітрювання складових компонентів відбувається концентру-



Таблиця 1

Хімічний склад породних відвалів ЦФ «Червоноградська»

Table 1

Chemical compound of the "Chervonogradska" CCF waste dumps

Елемент	Клас небезпеки	ГДК для ґрунту, мг/кг	Промислові концентрації, мг/кг [12, 14]	Виявлені концентрації, мг/кг	
				Чорний	Червоний
1	2	3	4	5	6
Мідь	2	3,0	45,0-60,0	62,18±0,05	78,90±0,05
Цинк	1	23,0	65,0-70,0	112,52±0,05	130,87±0,05
Марганець	3	1,5·10 ³	850,0 – 10 ³	317,72±0,05	812,86±0,05
Свинець	1	30,0	18,0-22,0	42,20±0,05	57,92±0,05
Нікель	2	4,0	80,0-120,0	134,20±0,05	132,90±0,05
Кадмій	1	2,0	45,0-55,0	2,82±0,05	3,63±0,05
Залізо	немає	3,7·10 ³	(1,5-2,0)·10 ³	(44,57±0,05)·10 ³	(128,30±0,05)·10 ³
Олово	2	4,5	90,0-120,0	351,9±0,1	587,5±0,1
Хром	2	6,0	190,0-210,0	99,1±0,1	76,2±0,1
Ванадій	3	150,0	140,0 -160,0	150,0±0,1	162,1±0,1
Кобальт	2	12,0	37,0-42,0	116,1±0,1	188,8±0,1



Прожовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6
Алюміній	немає	даних немає	$(2,5-5,0) \cdot 10^3$	$(13,9 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(8,9 \pm 0,1) \cdot 10^3$
Сірка	немає	160,0	даних немає	$(11,7 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(56,5 \pm 0,1) \cdot 10^3$
Кремній	немає	даних немає	даних немає	$(158,6 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(104,2 \pm 0,1) \cdot 10^3$
Галій	немає	даних немає	10,0-15,0	12,1 \pm 0,1	14,5 \pm 0,1
Германій	немає	даних немає	5,0-7,0	26,0 \pm 0,1	30,0 \pm 0,1
Цирконій	немає	даних немає	160,0-220,0	173,0 \pm 0,1	178,0 \pm 0,1
Ніобій	немає	даних немає	19,0-22,0	14,0 \pm 0,1	15,0 \pm 0,1
Лантан	немає	даних немає	25,0-29,0	48,0 \pm 0,1	50,2 \pm 0,1
Церій	немає	даних немає	25,0	69,0 \pm 0,1	71,0 \pm 0,1
Рубідій	немає	даних немає	90,0	141,0 \pm 0,1	165,9 \pm 0,1
Стронцій	3	даних немає	80,0	211,0 \pm 0,1	234,7 \pm 0,1
Барій	3	даних немає	250,0-400,0	519,0 \pm 0,1	587,5 \pm 0,1
Берилій	1	2,0	3,8-50,0	50,55 \pm 0,05	62,18 \pm 0,05
Титан	немає	даних немає	4,0 \cdot 10 ³	$(4,19 \pm 0,05) \cdot 10^3$	$(5,03 \pm 0,05) \cdot 10^3$
Кальцій	немає	даних немає	даних немає	$(17,2 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(35,9 \pm 0,1) \cdot 10^3$
Калій	немає	даних немає	даних немає	$(134,1 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(94,1 \pm 0,1) \cdot 10^3$

вання за деякими породоутворювальними елементами і елементами-домішками. При термообробці ($t=200\pm 10$ °С протягом 3 год в потоці повітря) червоний зразок втрачає до 10% маси, а чорний – до 1%. Це відбувається переважно за рахунок видалення вологи, якої в червоному зразку набагато більше у зв'язку з тривалістю зберігання. Тому можна припустити, що під впливом вологого повітря при тривалому зберіганні в червоному зразку відвалів відбувається крім насичення незв'язаною водою, окиснення металів техногенної сировини (Fe^{2+} , Mn^{2+} та інш.) до вищого ступеня з утворенням більш стійких (порівняно з чорним) рівноважних структур.

Для того, щоб прогнозувати спрямованість і результативність протікання реакцій і, як кінцевий результат, управляти процесом і інтенсифікувати його, треба вивчити зміни рН і Eh в системах, що досліджували, оскільки ці показники є характеристиками співвідношень окисненої і відновленої форм для кожного компонента середовища, тобто ступеня активності електронів в окисно-відновних реакціях (реакціях, що пов'язані з приєднанням або передачею електронів). Залежності рН і Eh вивчали в системах із розчинами: А – $0,1\text{н H}_2\text{SO}_4$ (рН=1,4); Б – $0,1\text{н H}_2\text{SO}_4 + 5\text{ г/дм}^3\text{ Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times 7\text{H}_2\text{O} + 1\text{ г/дм}^3\text{ FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$; В – живильне середовище 9К з $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 44,2\text{ г/дм}^3$ (рН – $1,6 \div 1,8$); Г – середовище 9К з $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 44,2\text{ г/дм}^3 +$ штамп MFLv37 (у кількості 20% (об.)).

Аналіз даних (рис. 2) показує значні відмінності значень і характеру ходу кривих залежності рН від часу викугування між червоним і чорним відвалами.

Так, в чорному субстраті спостерігається тенденція значного зростання рН від часу (з більшою швидкістю) з досягненням величин рН 3,20 (рис. 2в), для червоного субстрату хід кривих більш плавний і рівномірний з максимальними значеннями рН 2,25 (рис. 2а), що є підтвердженням і наслідком рівноваги в червоному субстраті. Введення до складу розчину А солей заліза знижує швидкість зростання рН в $\sim 1,5-2$ рази для чорного зразка і практично не позначається для червоного. Живильне середовище 9К з більшим вмістом Fe^{2+} (розчин В) характеризується різким зростанням рН в перші 3–4 доби до максимальних значень 3,30 (для чорного) і 2,35 (для червоного субстрату) з подальшим плавним зниженням до рівноважних значень. Присутність бактерій в розчині 4 збільшує швидкість зростання рН як для чорного, так і для червоного зразків сировини по відношенню до розчину В за рахунок активного руйнування поверхневих шарів твердого субстрату під впливом діяльності бактерій. В результаті будь-яка з систем прагне до рівноважних значень рН, які на 12–14 добу експерименту відповідають для більш рівноважного червоного субстрату діапазону рН = $1,6 \div 2,2$, для менш рівноважного чорного субстрату діапазону рН = $2,2 \div 2,6$.

Меншою мірою хід кривих змінюється при переході від субстрату з власною мікробіотою до субстрату автоклавованого. Основна відмінність полягає в тому, що в субстратах без мікробіоти криві швидше виходять на рівноважні значення рН, не мають настільки виражених максимумів (червоний субстрат) або не досягають максимальних значень, зафіксованих для субстратів з мікробіотою (чорний зразок). Це є підтвердженням безпосередньої участі і впливу груп мікроорганізмів, які формують власну мікробіоту субстратів, на процеси,



які протікають в досліджуваних системах. І цей вплив більше виражений в червоних відвалах.

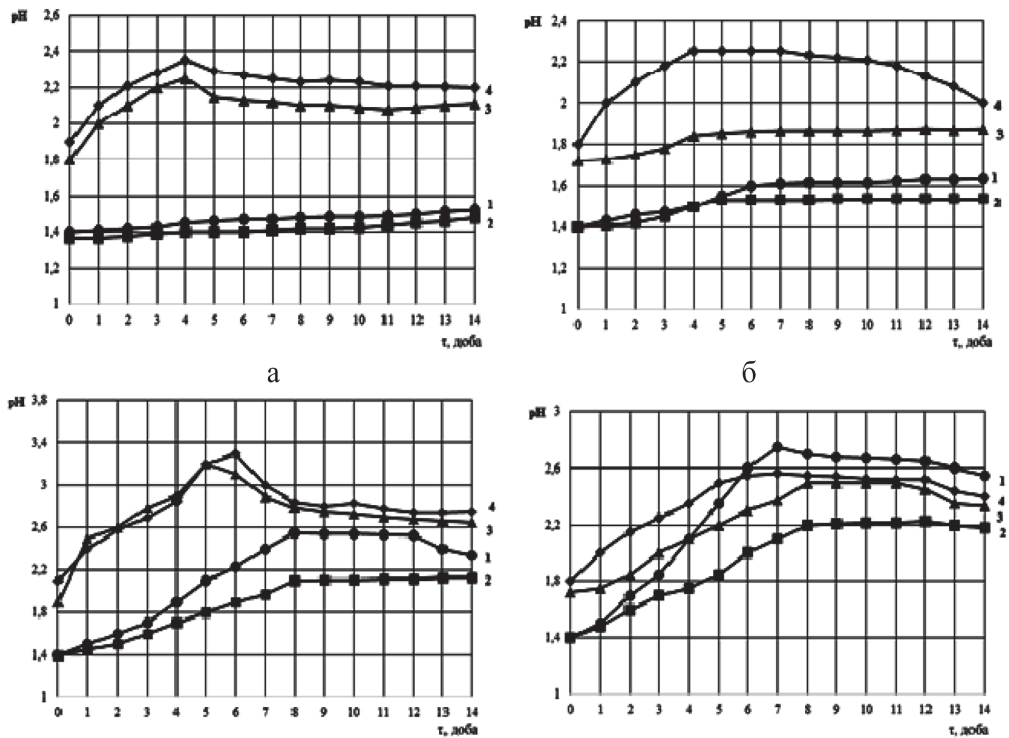


Рис. 2. Залежність рН від часу вилуговування для червоного (а, б) та чорного (в, г) субстратів: а, в – з мікробіотою; б, г – без мікробіоти

(склад розчинів А–Г відповідає номерам кривих)

Fig. 2. Dependence of pH against leaching time for the red (а, б) and black (в, г) waste dumps: а, в – with microorganisms; б, г – without microorganisms

(the composition of the solutions А–Г were correspond to the numbers of curves)

Виходячи зі складу досліджуваних субстратів і розчинів, можна припустити, що в цілому залежності рН і Eh систем від часу, які спостерігаються, будуть визначатися зміною ступеня окиснення заліза (що входить до складу субстратів і живильних середовищ) в ході протікання паралельних процесів:

- (1) – перехід йонів Fe^{2+} з відвалу в розчин в результаті взаємодії з H_2SO_4 ;
- (2) – окиснення Fe^{2+} бактеріями або киснем повітря до Fe^{3+} по реакції



- (3) – гідроліз солей Fe^{3+} з утворенням малодисоційованих йонів $(FeOH)^{2+}$;
- (4) – відновлення бактеріями Fe^{3+} до Fe^{2+} до настання рівноваги $Fe^{3+} \leftrightarrow Fe^{2+}$.

По суті, процеси (2) і (4) є зворотними: із збільшенням кислотності (зменшенням рН) рівновага (2) зміщується в бік утворення Fe^{3+} і навпаки. Крім того,



відомо [6], що бактеріальні процеси за участю ацидохемолітотрофних бактерій уповільнюються з ростом рН і практично припиняються при $\text{pH} \geq 5,0$, що так само позначається на спрямованості процесів (2) і (4).

Отже, для чорного зразка з більшим вмістом йонів Fe^{2+} всі процеси протікають більш інтенсивно (рис. 2 в, г) з переходом до вищих значень рН в результаті переважання процесу (1). Після досягнення максимумів у всіх системах величина рН починає знижуватися до рівноважних значень в результаті протікання процесів (2) – (4). Величина рН стабілізації залежить від співвідношення $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ в розчині.

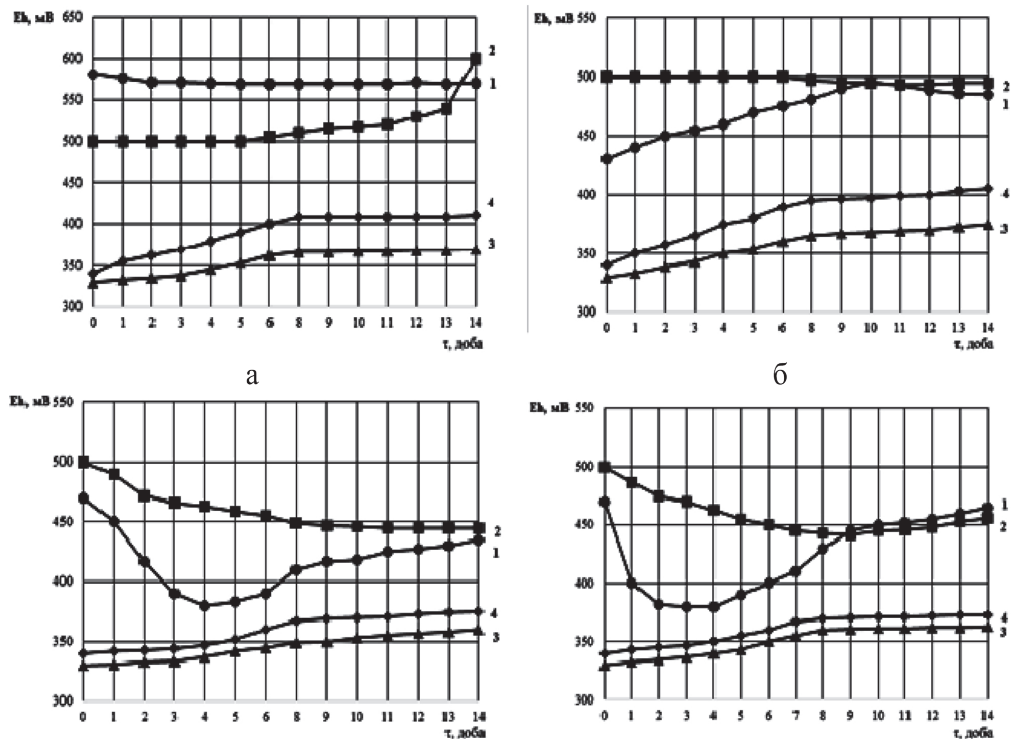


Рис. 3. Залежність Eh від часу вилюговування для червоного (а, б) та чорного (в, г) субстратів: а, в – з мікробіотою; б, г – без мікробіоти

(склад розчинів А–Г відповідає номерам кривих)

Fig. 3. Dependence of Eh against leaching time for the red (а, б) and black (в, г) waste dumps: а, в – with microorganisms; б, г – without microorganisms

(the composition of the solutions А–Г were correspond to the numbers of curves)

На величину потенціалу системи значно впливає склад розчину для вилюговування (рис. 3), меншою мірою – природа субстрату (червоний або чорний) та наявність власної мікробіоти. При цьому йони заліза, яких в вихідній сировині та живильному середовищі міститься значна кількість, є потенціал визначальним, оскільки і окиснена, і відновлена форма перебувають в розчині. Реальний потенціал пари $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, який відповідає рівновазі $\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$, для хлорсрібного електрода порівняння розраховується за рівнянням:



$$E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}^{\circ} = E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}^{\circ} + 0,059 \lg (a_{\text{Fe}^{3+}}/a_{\text{Fe}^{2+}}) - E_{\text{AgCl}} \quad (5)$$

де $E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}^{\circ} = 0,771 \text{ В}$ – стандартний електродний потенціал при $a_{\text{Fe}^{3+}} = a_{\text{Fe}^{2+}} = 1$; $E_{\text{AgCl}} = 0,222 \text{ В}$ – потенціал хлорсрібного електрода порівняння в насиченому розчині КСl при 25°C і $a_{\text{H}^{+}} = 1$. Значення E_h , більш ніж $0,549 \text{ В}$, вказує на перевагу Fe^{3+} в розчині, а значення менше за дану величину – на перевагу Fe^{2+} .

В розчинах А та Б хід кривих для обох субстратів має тенденцію до зниження з досягненням рівноваги або проходженням через мінімум, що пов'язано з розчиненням внутрішніх шарів даних зразків відвалу, які містять більше йонів Fe^{2+} . Ця тенденція більше виражена для чорного зразка. В розчинах В і Г (до складу яких входить значна кількість Fe^{2+}) обидва субстрати поведуть себе однаково: E_h поступово зростає до рівноваги, але з різними термінами стабілізації. Наведені результати свідчать про виражений вплив сформованої мікробіоти відвалів на рівновагу та стійкість досліджуваних систем. Якщо говорити про вплив тривалості зберігання субстрату на формування в ньому специфічної власної мікробіоти, то можна відзначити тенденцію більш вираженого прояву біоценозу в червоних відвалах.

У табл. 2 і 3 наведені результати розрахунків коефіцієнта (К) впливу власної мікробіоти на вилучення металів у розчин для чорного і червоного субстратів. Формула його розрахунку наведена у таблиці 2 і 3. Незалежно від умов проведення процесу вилуговування існує значний вплив мікроорганізмів на ефективність процесу в цілому. Збільшення коефіцієнта впливу на показники процесів при підкисленні вилуговуючого розчину свідчить на користь присутності та активізації представників власних ацидофільних мікроорганізмів. При збільшенні температури процесу також зростає величина К, що згідно з даними літератури, пов'язано з діяльністю термофільних мікроорганізмів [2, 3].

Зміна рН розчинів під час проведення експериментів є також прикладом прояву активності власної мікробіоти сировини. При вилуговуванні металів із досліджуваного продукту водою зміщення рН спостерігається у бік закислення порівняно з вихідним середовищем. Зменшення показника рН при високій температурі є більш вираженим. Це пов'язано із присутністю у сировині слабко кислих оксидів та інших сполук заліза, цинку, свинцю і германію, які при розчиненні у воді створюють у результаті гідролізу слабкі мета- і ортокислоти типу H_2GeO_3 , при чому рівновага процесу $\text{GeO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HGeO}_3^- + \text{H}^+$ при нагріванні зміщується у бік створення цих кислот [14]. Однак у нестерильних продуктах за присутності власної мікробіоти це зміщення менш вираженим. За умов, що активізують діяльність ацидофільних мезофільних тіонових бактерій (рН 1,4 при $t = 80 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$), реєстрували різке зміщення значень рН у нейтральну область (табл. 2, 3). Таким чином, за всіх умов досліджень спостерігається наявний вплив власної мікробіоти на вилучення металів у розчин для чорного і червоного субстратів, і для червоного зразка ця перевага більше виражена (К досягає $1,57 \div 2,22$).



Таблиця 2

Вплив власної мікробіоти чорного зразка відвалу на процес вилугування

Table 2

The effect of own microbiota of the black sample dump on leaching process

Умови біовилугування	рН розчину після вилугування		Коефіцієнт впливу мікроорганізмів на вилучення металів, К $K = E_{n/a}/E_a^*$				
	рН _{n/a}	рН _a	Ge	Ga	Fe	Pb	Zn
H ₂ O (рН 5,6) t = 24±0,5 °С	3,8	3,2	1,37 6,15/4,49	1,42 5,96/4,20	1,39 6,75/4,86	1,32 5,78/4,38	1,41 5,25/3,72
H ₂ O (рН 5,6) t = 80±0,5 °С	3,6	3,1	1,39 12,95/9,32	1,43 10,14/7,09	1,37 13,15/9,60	1,29 11,60/8,99	1,39 8,34/6,00
H ₂ SO ₄ (рН 1,4) t = 80±0,5 °С	7,0	2,9	2,04 18,17/8,91	1,93 17,96/9,30	2,13 21,46/10,08	1,54 18,14/11,78	2,01 17,46/8,69

*E_{n/a} (рН_{n/a}) і E_a (рН_a) – відповідно ступінь вилучення металу (рН розчину) з вихідного продукту неавтоклаваного (n/a) і після автоклавування (a), %

*E_{n/a} (рН_{n/a}) and E_a (рН_a) – in accordance with the degree of extraction metal (рН of solution) of the original product not autoclaving (n/a) and after autoclaving (a), %

Таблиця 3

Вплив власної мікробіоти червоного відвалу на процес вилугування

Table 3

The effect of own microbiota of the red sample dump on leaching process

Умови біовилугування	рН розчину після вилугування		Коефіцієнт впливу мікроорганізмів на вилучення металів, К $K = E_{n/a}/E_a^*$				
	рН _{n/a}	рН _a	Ge	Ga	Fe	Pb	Zn
H ₂ O (рН 5,6) t = 24±0,5 °С	4,0	3,3	1,47 5,45/3,71	1,52 5,07/3,34	1,49 6,05/4,06	1,50 4,98/3,32	1,49 5,15/3,46
H ₂ O (рН 5,6) t = 80±0,5 °С	3,7	3,0	1,40 11,05/7,89	1,47 9,44/6,42	1,39 13,05/9,39	1,41 11,20/7,94	1,47 8,05/5,48
H ₂ SO ₄ (рН 1,4) t = 80±0,5 °С	6,6	3,1	2,10 17,97/8,56	1,97 16,96/8,61	2,22 19,76/8,90	1,57 17,94/11,43	2,04 17,00/8,33

Наступним етапом було вивчення кількісного та якісного складу та відмінностей специфічного мікробного ценозу зразків відвалів, яке формується залежно від часу їх зберігання (табл. 4). Аналіз даних свідчить про наявність



Таблиця 4

Чисельність бактерій (КУО/мл) в живильних середовищах при культивуванні на відвалах ЦЗФ (через 5 діб)

Table 4

The number of bacteria (CFU/ml) in the media under cultivation on the CCF waste dumps (after five days)

Субстрат	Хемолітогенні бактерії											
	Ацидофільні											
	Мезофільні					Помірно термофільні						
	9К		882			9К*		150a				
	Na ₂ S ₂ O ₃		Fe ⁺²			Fe ⁺²		Na ₂ S ₂ O ₃			Бейеринка	
	S ⁰		1,6±0,3 x10 ³			6,4±0,6 x10 ⁵		1,7±0,3 x10 ³		8,9±0,6 x10 ⁷		1,4±0,3 x10 ²
Чорний	5,3±0,3 x10 ⁴		1,2±0,1 x10 ²			4,2±0,3 x10 ⁶		1,2±0,3 x10 ⁷		3,2±0,3 x10 ⁴		2,0±0,24 x10 ⁴
Червоний	2,5±0,3 x10 ⁶		9,3±0,3 x10 ³			3,9±0,3 x10 ⁶		1,2±0,3 x10 ⁷		3,2±0,3 x10 ⁴		3,8±0,3 x10 ⁴



у відвалах широкого спектру мікроорганізмів – представників різних фізіологічних груп, незалежно від часу зберігання. Виявлені представники гетеротрофних бактерій (споротвірні та неспоротвірні), у тому числі «силікатних»; встановлено присутність ацидофільних хемолітотрофних мезофільних та помірно термофільних бактерій. Серед мезофільних виявлено бактерії двох груп: перша здатна окиснювати сірку, її сполуки (тіосульфат, тіосечовину та ін.) і двовалентне залізо; друга використовує як джерело енергії тільки сполуки сірки (тіосульфат, тіосечовину та ін.). Це дозволяє припустити наявність у мікробних ценозах представників не тільки «універсальних» бактерій *Acidithiobacillus ferrooxidans*, а і *Acidithiobacillus thiooxidans*, які, згідно з літературними даними, зустрічаються у природних сульфідних рудах та промислових концентратах значно рідше [9].

Серед мезофільних бактерій встановлена присутність у породних відвалах різного терміну зберігання залізоокиснювальних бактерій, що належать до представників *Leptospirillum*, а також нейтрофільних тіонових бактерій, що зростають на живильному середовищі Бейерінка та використовують як джерело енергії сірку та тіосульфат. Це дозволяє віднести їх до представників роду *Thiobacillus*.

Крім мезофільних, у породних відвалах незалежно від часу зберігання виявлені представники помірно термофільних бактерій: на середовищі 9К* – роду *Sulfobacillus*, на середовищі 150a – роду *Acidithiobacillus* та *Sulfobacillus*.

Незважаючи на відсутність відмінностей у якісному складі мікробіоценозу субстратів, кількісний склад представників виявлених груп мікроорганізмів мікробіоти істотно відрізняється: кількість мікроорганізмів у червоних породних відвалах, які тривалий час накопичуються та зберігаються на площадках, значно, на 2–3 порядки більша, ніж у чорних. Ця різниця найбільш помітна для основних груп ацидофільних хемолітотрофних бактерій, як мезофільних, так і помірно термофільних. Отримані результати повністю узгоджуються з наведеними вище.

Таким чином, проведені дослідження показали, що в процесі накопичення та зберігання відвалів збагачення на ЦЗФ «Червоноградська» в їх складі відбуваються значні фізико-хімічні та мікробіологічні зміни, які повинні враховуватися при виборі умов утилізації цих техногенних субстратів біотехнологічними методами з використанням активності представників власної мікробіоти. Встановлено, що у червоних відвалах при тривалому зберіганні за рахунок вивітрювання складових компонентів відбувається концентрування за деякими породоутворювальними елементами і елементами-домішками. Під впливом вологого повітря відбувається насичення незв'язаною водою і окиснення йонів металів сировини до вищого ступеню з утворенням більш стійких (порівняно з чорним) рівноважних структур. Вплив власної мікробіоти субстратів відвалів на рівновагу і стійкість досліджуваних систем є помітним і також залежить від термінів зберігання відвалів. Встановлений якісний склад мікробіоценозу субстратів не залежить від часу зберігання, оскільки формується в процесі утворення та при збагаченні вугілля. Проте кількісна перевага



в червоних відвалах представників різних груп мікроорганізмів власної мікробіоти є наслідком змін, які відбуваються при зберіганні у цих субстратах під впливом зовнішніх чинників.

**И.А. Блайда, Т.В. Васильева, В.Ф. Хитрич, Н.Ю. Васильева,
О.И. Джамбек, А.А. Джамбек**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, тел.: +38(048) 746 51 02,
e-mail: iblayda@ukr.net

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОРОДНЫХ ОТВАЛОВ ОБОГАЩЕНИЯ УГЛЯ

Реферат

Цель. Изучение физико-химических и микробиологических особенностей техногенных субстратов в зависимости от срока их хранения. **Методы.** Атомно-эмиссионная и атомно-абсорбционная спектроскопия, потенциометрический метод и авторская запатентованная электрохимическая ячейка, стандартный микробиологический метод накопительных культур. **Результаты.** Установлено, что в отвалах при длительном хранении происходит концентрирование по основным составляющим и окисление ионов металлов сырья до высшей степени с образованием более устойчивых равновесных структур. Показано влияние собственной микробиоты субстратов отвалов на их устойчивость в процессе переработки. Получены и количественно оценены накопительные культуры микроорганизмов различных физиологических групп, формирующих микробиоценоз субстратов. Установлено количественное преобладание представителей основных групп ацидофильных хемолитотрофных бактерий, как мезофильных, так и умеренно термофильных в собственной микробиоте отвалов с длительным сроком хранения, что приводит к более выраженному влиянию биоценоза на физико-химические характеристики этих субстратов. **Выводы.** В процессе накопления и хранения отвалов в их составе происходят значительные физико-химические и микробиологические изменения, которые должны учитываться при выборе условий утилизации этих техногенных субстратов биотехнологическими методами с использованием активности представителей собственной микробиоты.

Ключевые слова: отвалы, микробиота, выщелачивание, ацидофильные хемолитотрофные бактерии.



I.A. Blayda, T.V. Vasyleva, V.F. Chitrich, N.Yu. Vasyleva, O.I. Dgambek,
O.A. Dgambek

Odesa National Mechnykov University, 2, Dvoryanska St., Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +38 (048) 746 51 02, e-mail: iblayda@ukr.net

PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE WASTE DUMPS AFTER COAL ENRICHMENT

Summary

Aim. The physical-chemical and microbiological characteristics of technogenic substrates depending on the duration of their storage have been studied. **Methods.** Atomic emission and atomic absorption spectroscopy, potentiometric method and the author's patented electrochemical cell, standard microbiological method of cumulative cultures. **Results.** It was established, that during long storage of waste dumps there occurs the components concentration and oxidation of metal ions, that were found in the waste dumps, to the highest degree of oxidation and were formed more stable equilibrium structures. The effect of indigenous microbiota of waste dumps to increase their resistance to the processing has been shown. As it has been shown the indigenous microbiota of waste dumps are facilitated of increase their resistance to the recycling. The cumulative culture of microorganisms of different physiological groups forming microbiocenosis of waste dumps were obtained and quantified. The quantitative predominance of representatives of major groups of chemolithotrophic acidophilus bacteria (both mesophilic and moderately thermophilic) of indigenous microbiota from waste dumps with extended storage period, has been established. That, in turn, leads to a more pronounced effect of microbiota on the physicochemical characteristics of these waste dumps. **Conclusion.** The physical, chemical and microbiological changes are significant in storage dumps composition in the process of their accumulation. This should be taken into account in selecting the conditions of utilization of technogenic substrates by biotechnological methods using active members of their own microbiota. **Key words:** waste dumps, microbiota, bioleaching, chemolithotrophic acidophilus bacteria.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Blayda I., Vasyleva T., Slyusarenko L., Abisheva Z., Ivanytsia V. The germanium extraction from industrial wastes by microbiological methods//XXVI International Mineral Processing Congress (IMPC 2012), New Delhi, India, September 24-28, 2012. – P. 550–558.
2. Bogdanova T.I., Tsaplina I.A., Kondrat'eva T.F. SulFOBacillus thermotolerans sp. nov., a thermotolerant, chemolithotrophic bacterium //International journal systematic and evolutionary microbiology. – 2000. – 56. – P. 1039–1042.
3. Zeng Wei-min, Wu Chang-bin, Zhang Ru-bing, Hu Pei-lei, Qiu Guan-zhou, Gu Guo-hua, Zhou Hong-bo. Isolation and identification of moderately thermophilic acidophilic iron-oxidizing bacterium and its bioleaching characterization //Trans. Nonferrous Met. Soc. China. – 2009. – V. 19. – P. 222–227.
4. Блайда. И.А., Васильєва Т.В., Баранов В.И., Слюсаренко Л.И., Баклан В.Ю. Возможности бактериального и химического выщелачивания отходов углеобо-



гашения с целью извлечения германия и галлия. //Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2013. – № 1(4). – С. 54–60.

5. *Блайда И.А.* Состав и активность бактериального сообщества отходов углеобогащения//Biotechnologia Acta. – 2014. – Vol. 7 (5). – P. 94–100. doi:10.15407/biotech7.05.094.

6. *Блайда И.А., Васильева Т.И., Баранов В.И.* Использование биогидрометаллургических технологий в решении проблем утилизации техногенных отходов с получением ценных металлов // Комплексное использование минерального сырья. – 2015. – № 3. – С. 75–82.

7. *Блайда И.А., Васильева Т.В., Баранов В.И., Семенов К.И., Слюсаренко Л.И., Барба И.Н.* Свойства новых штаммов хемолитотрофных бактерий, выделенных из техногенных субстратов/Properties of chemolithotrophic bacteria new strains isolated from industrial substrates // Biotechnologia Acta. – 2015. – Vol. 8 (6). – P. 56–62. doi: 10.15407/biotech8.06.056.

8. *Каравайко Г.И.* Практическое руководство по биогеотехнологии металлов. – М., АН СССР, 1989. – 371 с.

9. *Кузякина Т.И., Хайнасова Т.С., Левенец О.О.* Биотехнология извлечения металлов из сульфидных руд//Вестник наук о Земле. – 2008. – Т. 60, Вып. 12. – С. 76–85.

10. *Методы общей бактериологии.* Т. 2. М.: Мир, 1984. – 265 с.

11. *Современная микробиология.* Прокариоты. Ленгелер Й., Древис Г.И., Шлегель Г. (ред.). Т. 2. М.: Мир, 2005. – 496 с.

12. *Усова Т.Ю., Линдер Т.П.* Конъюнктура мирового рынка редких металлов. – В кн. «Рідкісні метали України – погляд у майбутнє». – Київ. – 2001. – С. 102–103.

13. *Хавезов И., Цалев Д.* Атомно-абсорбционный анализ. – Л.: Химия, 1983. – 144 с.

14. *Химия и технология редких и рассеянных элементов/Под ред. К.А. Большакова* – М.: Высшая школа, 1976. – Т. 3. – 368 с.

15. *Пат.* на винахід № 102926 UA. Спосіб вилучення рідкісних металів з відходів вугільної промисловості//Блайда И.А., Васильева Т.В., Слюсаренко Л.И., Хитрич В.Ф., Барба И.М., Іваниця В.О., Баранов В.И. Бюл. № 16. Заявл. 20.03.2012. Опубл. 27.08.2013.

16. *Пат.* 104788 UA. Спосіб виготовлення двокамерної триелектродної електрохімічної комірки // Джамбек О.А., Джамбек О.І., Блайда И.А., Іваниця В.О., Васильева Т.В. Бюл. № 4. Заявл. 05.05.2015. Опубл. 25.02.2016.

REFERENCE

1. Blayda I., Vasyleva T., Slyusarenko L., Abisheva Z., Ivanytsia V. The germanium extraction from industrial wastes by microbiological methods. In: XXVI International Mineral Processing Congress (IMPC 2012), New Delhi, India. September 24-28, 2012:550-558.



2. Bogdanova T.I., Tsaplina I.A., Kondrat'eva T.F. *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov., a thermotolerant, chemolithotrophic bacterium. *International journal systematic and evolutionary microbiology*. 2000; (56):1039 – 1042.
3. Zeng Wei-min, Wu Chang-bin, Zhang Ru-bing, Hu Pei-lei, Qiu Guan-zhou, Gu Guo-hua, Zhou Hong-bo. Isolation and identification of moderately thermophilic acidophilic iron-oxidizing bacterium and its bioleaching characterization. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*. 2009;(19):222 – 227.
4. Blayda I.A., Vasyleva T.V., Baranov V.I., Slyusarenko L.I., Baklan V.Yu. Opportunities bacterial and chemical leaching of coal refuse with aim to germanium and gallium extraction. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*. 2013;(4):54-60.
5. Blayda I.A. The study of composition and activity of bacterial community of coal tailing. *Biotechnologia Acta*. 2014;(5):94-100. doi:10.15407/biotech7.05.094.
6. Blayda I.A., Vasileva T.V., Baranov V.I.. The use of bio-hydrometallurgical technologies in solving problems utilization of manmade waste and receiving from them valuable metals. *Kompleksnoe ispolzovanie mineralnogo syrya*. 2015;(3):75-82.
7. Blayda I. A., Vasileva T.V., Baranov V.I., Semenov K.I., Slyusarenko L.I., Barba I.N. Properties of chemolithotrophic bacteria new strains isolated from industrial substrates. *Biotechnologia Acta*. 2015;(6):56-62. doi: 10.15407/biotech8.06.056.
8. Karavayko G.I. *Prakticheskoe rukovodstvo po biogeotekhnologii metallov*. Moscow: Academy science of the USSR, 1989. 371 p.
9. Kuziakina T.I., Khainasova T.S., Levenetc O.O. Biotechnology extraction of metals from sulphide ores. *Vestnik nauk o Zemle*. 2008;(12):76-85.
10. *Methods for General Bacteriology*. V. 2. Moskva: Mir, 1984. 265 p.
11. *Sovremennaya mikrobiologiya. Prokaryoty (Modern microbiology. Prokaryotes)*. Lengeler I., Drevs G. I., Shlegel G. (eds.). M.: Mir, 2005. V.2: 496 p.
12. Usova T.Yu., Linder T.P. The conjuncture of the world market of rare metals. In: *Redkie metally Ukrainy – vzglyad v budushchee*. Kiev, 2001:102–103.
13. Khavezov I., Tsalev D. *Atomic absorption analysis*. Leningrad: Khimiya, 1983. 144 p.
14. *Khimiya i tekhnologiya redkikh i rasseyannykh ehlementov (Chemistry and technology of rare and trace elements)*. K.A. Bol'shakov (ed.). Moscow: Vysshaya shkola, 1976. V.3:368 p.
15. A.s. 102926 UA, MBI C 22 B 3/18. The method of extracting rare metals from waste coal industry. Blayda I.A., Vasileva T.V., Slyusarenko L.I., Khitrich V.F., Barba I.M., Ivanitsia V.O., Baranov V.I. (UA). – zayavl. 20.03.2012; opubl. 27.08.2013, Byul. N 16.
16. A.s. 104788 UA, MBI H 01M 4/00. Two-cell production method with three electrode electrochemical cell. Dzhambek O.A., Dzhambek O.I., Blayda I.A., Ivanitsia V.O., Vasileva T.V. (UA). – zayavl. 05.05.2015; opubl. 25.02.2016, Byul. N 4.

Стаття надійшла до редакції 30.05.2016 р.

