

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ФИЦ Биотехнологии РАН)**

На правах рукописи

КОЛОСОВ АЛЕКСАНДР ВЛАДИМИРОВИЧ

**«РАЗРАБОТКА БИОГИДРОМЕТАЛЛУРГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ
ПЕРЕРАБОТКИ ПРИРОДНОГО И АНТРОПОГЕННОГО СЫРЬЯ»**

1.5.6. Биотехнология

Диссертация на соискание
ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Кандидат биологических наук
Александр Генрихович Булаев

Москва — 2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1 Биогидрометаллургия как технологическая платформа: от переработки сульфидных руд к антропогенному сырью	12
1.1.1 Промышленное применение и технологические схемы в горнодобывающей отрасли	14
1.1.1.1 Скважинное выщелачивание	16
1.1.1.2 Отвальное и кучное выщелачивание	17
1.1.1.3 Чановое (агитационное) биовыщелачивание и биоокисление	19
1.1.2 Потенциал для переработки вторичного металлосодержащего сырья	21
1.2 Гидрометаллургические подходы к извлечению металлов из электронных отходов и другого антропогенного сырья	23
1.2.1 Химические методы гидрометаллургии: реагенты и механизмы	25
1.2.2 Биогидрометаллургические методы: достижения и фундаментальные ограничения	27
1.3 Ацидофильные микробные сообщества как платформа для гибридных технологий	31
1.3.1 Микробиологические основы: таксономическое разнообразие и функциональные группы ацидофильных сообществ в биогидрометаллургии	34
1.3.1.1 Бактерии рода <i>Acidithiobacillus</i>	35
1.3.1.2 Бактерии рода <i>Leptospirillum</i>	38
1.3.1.3 Бактерии рода <i>Sulfobacillus</i>	39
1.3.1.4 Ацидофильные археи	40
1.3.1.5 Микроорганизмы родов <i>Acidiphilium</i> , <i>Ferrimicrobium</i> , <i>Acidimicrobium</i>	43
1.3.2 Физиолого-биохимические механизмы устойчивости к экстремальным условиям	45
1.3.2.1 Окисление двухвалентного железа	46
1.3.2.2 Восстановление трехвалентного железа	48
1.3.2.3 Окисление серы.....	50
1.3.3 Сообщества ацидофильных микроорганизмов, механизмы их формирования и межвидовые взаимодействия в биогидрометаллургических процессах	52
1.3.3.1 Взаимодействие температуры и минерального состава сырья на состав сообществ ацидофильных микроорганизмов.....	53
1.3.3.2 Влияние источников углерода.....	57
1.4 Заключение	60
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	61
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	61
2.2 Материалы исследования.....	62
2.2.1 Элементный и минеральный состав использованных образцов сырья.....	62
2.2.1.1 Упорный пирит-арсенопиритный концентрат	62
2.2.1.2 Сульфидный полиметаллический концентрат	63
2.2.1.3 Лежалые хвосты флотации	63
2.2.1.4 Образец измельченных печатных плат.....	64
2.2.2 Жидкие среды.....	65
2.2.2.1 Минеральная питательная среда	65

2.2.2.2 Растворы сульфата железа III и серной кислоты	66
2.2.3 Экспериментальное оборудование	67
2.3 Методы исследования	68
2.3.1 Постановка экспериментов	68
2.3.1.1 Биоокисление упорного золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата в стрессовых условиях	68
2.3.1.2 Биоокисление полиметаллического мышьяк-содержащего сульфидного концентрата	71
2.3.1.3 Лабораторные эксперименты по биовыщелачиванию измельченных печатных плат.....	75
2.3.1.4 Химическое выщелачивание меди и никеля из измельченных печатных плат	77
2.3.1.5 Одностадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат	78
2.3.1.6 Двухстадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат	81
2.3.2 Физико-химические методы анализа образцов	83
2.3.3 Метод определения численности микроорганизмов.....	84
2.3.4 Подготовка твердых образцов	85
2.3.5 Анализ состава микробных сообществ методом метабаркодирования фрагментов генов 16S рРНК.....	86
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	90
3.1 Биоокисление упорного золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата в стрессовых условиях	90
3.1.1 Влияние CO ₂ при «стрессовых условиях», вызванных повышением температуры и плотности пульпы.....	90
3.1.1.1 Динамика параметров жидкой фазы	91
3.1.1.2 Биоокисление сульфидных минералов в «нормальных» и «стрессовых» условиях	99
3.1.1.3 Изменение состава сообщества микроорганизмов.....	100
3.1.2 Влияние CO ₂ при снижении времени пребывания пульпы в реакторе	103
3.1.2.1 Динамика параметров жидкой фазы	103
3.1.2.2 Биоокисление сульфидных минералов при изменении времени пребывания в реакторах биоокисления.....	106
3.1.2.3 Влияние CO ₂ на состав популяций микроорганизмов в биореакторе	107
3.1.3 Обсуждение полученных результатов.....	109
3.2 Биоокисление полиметаллического мышьяк-содержащего сульфидного концентрата	113
3.2.1 Биовыщелачивание меди и цинка из полиметаллического концентрата с применением мелассы и диоксида углерода.....	113
3.2.1.1 Динамика параметров жидкой фазы при 45 °С	113
3.2.1.2 Динамика параметров жидкой фазы при 55 °С	122
3.2.1.3 Изменение состава сообщества микроорганизмов при 45 и 55 °С в периодическом и непрерывном процессах биовыщелачивания	131
3.2.2 Биовыщелачивание меди и цинка из полиметаллического концентрата с применением хлорида натрия и диоксида углерода в каскаде биореакторов	136

3.2.2.1 Параметры жидкой фазы пульпы при трех разных режимах добавления 100 мМ хлорида натрия	137
3.2.2.2 Анализ микробных популяций	140
3.2.3 Обсуждение полученных результатов	144
3.3 Базовые закономерности периодического биовыщелачивания измельченных печатных плат.....	149
3.3.1 Зависимость эффективности биовыщелачивания от используемых сред и наличия микроорганизмов	149
3.3.2 Зависимость скорости окисления железа и роста численности микроорганизмов от концентрации внесенных измельченных плат, температуры и наличия органического субстрата	155
3.3.2.1 Зависимость скорости окисления железа и роста численности микроорганизмов от концентрации внесенных измельченных плат.....	156
3.3.2.2 Влияние наличия органического субстрата и температуры на рост численности микроорганизмов и скорость окисления железа в присутствии плат....	160
3.4 Химическое выщелачивание меди и никеля из измельченных печатных плат	167
3.5 Одностадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат.....	171
3.5.1 Результаты эксперимента в периодическом режиме	171
3.5.1.1 Динамика параметров жидкой фазы	171
3.5.1.2 Изменение состава сообщества микроорганизмов.....	175
3.5.2 Результаты эксперимента в непрерывном режиме.....	178
3.5.2.1 Динамика параметров жидкой фазы	178
3.5.2.2 Изменение состава сообщества микроорганизмов.....	182
3.5.3 Обсуждение полученных результатов	184
3.6 Двухстадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат.....	190
3.6.1 Результаты химического выщелачивания	190
3.6.2 Результаты биологического окисления	193
3.6.3 Результаты исследования микробных популяций реакторов.....	196
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	201
ВЫВОДЫ.....	203
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	205
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	206

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Биогидрометаллургические процессы — это совокупность методов извлечения металлов из руд, концентратов и техногенных отходов с использованием микробных биотехнологий. Биогидрометаллургические методы являются важной частью металлургии цветных и драгоценных металлов, таких как медь, цинк и золото. В основе этих методов лежит окисление сульфидных минералов ацидофильными микроорганизмами, что обеспечивает переход цветных металлов в раствор или вскрытие благородных металлов для последующего извлечения (Иванов, Каравайко, 2004; Каравайко и др., 1972; Johnson et al., 2014; Van Niekerk et al., 2023).

Биогидрометаллургические подходы дешевле и экологичнее традиционных пирометаллургических методов, поскольку позволяют избегать образования токсичных газовых выбросов. Наибольшее распространение они получили при переработке сульфидных концентратов, в том числе содержащих мышьяк. Несмотря на это, существующие биогидрометаллургические технологии обладают рядом ограничений: низкой скоростью процесса по сравнению с конкурирующими технологиями и использованием относительно невысокой плотности пульпы при биоокислении сульфидных концентратов. Поэтому биогидрометаллургические процессы обеспечивают низкую удельную производительность и требуют большого рабочего объема реакторов биоокисления. Кроме того, несмотря на успешное промышленное применение технологий биоокисления сульфидных концентратов, биогидрометаллургические технологии на практике используются для переработки ограниченного перечня минерального сырья (золотосодержащие сульфидные концентраты, бедные сульфидные руды) (Каравайко и др., 1972; Gahan et al., 2012; Gericke & Govender, 2011; Johnson, 2015; Mahajan et al., 2016; Van Niekerk et al., 2023; Panyushkina & Muravyov, 2025). Повышение продуктивности, связанное с увеличением плотности пульпы или сокращением времени пребывания, затруднено, поскольку такие изменения параметров процесса ингибируют окислительную активность микроорганизмов. Поэтому необходимо проведение исследований, направленных на повышение продуктивности и стабильности процессов биоокисления (Roberto & Schippers, 2022; Petersen, 2023; Vera et al., 2022).

Одним из типов перспективного вторичного техногенного сырья для получения металлов является электронный лом (Liu et al., 2023). Электронный лом содержит медь, золото, серебро, палладий, никель и другие ценные металлы, содержание которых в ряде случаев выше, чем в первичных рудах. Для извлечения этих металлов применяются как физические, так и химические методы. К первым относится, например, магнитная сепарация, позволяющая отделять металлические фракции от полимерных и керамических компонентов. Ко вторым — пирометаллургические и гидрометаллургические процессы, основанные соответственно на высокотемпературной переработке или на растворении металлов в химических реагентах. Сложность состава электронного лома ограничивает эффективность традиционных методов: физические, пирометаллургические и гидрометаллургические подходы не всегда обеспечивают достаточную полноту извлечения ценных компонентов и селективность разделения. Переработка электронного лома методами биогидрометаллургии может позволить не только снизить операционные расходы и экологический вред процесса переработки, но и интегрировать переработку данного сырья в существующие процессы (Anaya-Garzon et al., 2021).

Биогидрометаллургические процессы всегда осуществляются сообществами микроорганизмов, состав которых определяется технологическими параметрами процесса. Поэтому для интенсификации технологических процессов важным аспектом является изучение влияния состава сообщества ацидофильных микроорганизмов биореакторов на эффективность процесса и разработка методов их регуляции (Каравайко и др., 2006; Darvanjooghi et al., 2022; Luo et al., 2024).

Таким образом, актуальными направлениями развития биогидрометаллургии являются разработка подходов к интенсификации процессов биоокисления, направленная на повышение производительности, а также создание технологий, позволяющих вовлекать в переработку новые типы сырья, в том числе техногенные отходы (Ferreira-Filipe et al., 2025; Roberto & Schippers, 2022; Vera et al., 2022).

Цель и задачи исследования

Целью работы было выявление факторов, ограничивающих эффективность биогидрометаллургических процессов переработки природного и антропогенного сырья, и разработка подходов для повышения эффективности данных процессов.

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить влияние дополнительного источника углерода (диоксида углерода) на процесс биоокисления упорного золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата при отклонении технологических параметров (плотности пульпы, температуры и времени пребывания) от оптимальных значений; и определить лимитирующие факторы и оценить возможность компенсации их негативного воздействия.
2. Оценить влияние дополнительных источников углерода (диоксида углерода и мелассы) и температуры на эффективность биовыщелачивания цветных металлов из медно-цинкового концентрата, содержащего мышьяк, в том числе в условиях двухстадийного выщелачивания с использованием каскада биореакторов.
3. Определить состав популяций микроорганизмов реакторах биоокисления пирит-арсенопиритного и медно-цинкового концентратов при изменении технологических условий и применении дополнительных источников углерода.
4. Оценить влияние отходов переработки печатных плат на ростовые и окислительные характеристики железоокисляющих ацидофильных микроорганизмов и установить основные факторы, лимитирующие процесс биовыщелачивания металлов из этого сырья.
5. Исследовать технологический потенциал совместного биовыщелачивания отходов переработки печатных плат и пиритных хвостов флотационного обогащения медно-цинковой руды в одностадийном режиме и установить факторы, лимитирующие эффективность процесса.
6. Исследовать технологический потенциал совместного биовыщелачивания измельченных печатных плат и пиритных хвостов флотационного обогащения медно-цинковой руды в двухстадийном режиме, оценить возможность создания замкнутого технологического цикла с рециклом раствора выщелачивания.

Научная новизна

В ходе исследования установлено, что дополнительная подача диоксида углерода при биоокислении пирит-арсенопиритного концентрата снижает негативное влияние отклонений технологических параметров — плотности пульпы и температуры — на процесс. Это обеспечивает рост степени окисления пирита и арсенопирита, а также

позволяет сократить время пребывания пульпы в биореакторе с 5 до 3 суток с превышением контрольных показателей. Показано, что введение дополнительных источников углерода (CO_2 и мелассы) стабилизирует биовыщелачивание медно-цинкового концентрата при повышенной температуре ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$) и увеличивает извлечение цинка и меди. Выявлены качественные и количественные изменения состава микробных популяций реакторов биоокисления пирит-арсенопиритного и медно-цинкового концентратов, а также изменения общей численности микроорганизмов при варьировании технологических условий и применении дополнительных источников углерода. Впервые количественно охарактеризовано негативное влияние отходов печатных плат на ростовые и окислительные характеристики железоокисляющих ацидофильных микроорганизмов с использованием традиционных подходов к культивированию. Внесение в пульпу пылевой фракции измельчения плат в концентрации 2 г/л ингибирует рост и метаболическую активность ацидофилов. Доказана возможность адаптации ацидофильного консорциума при совместном одностадийном выщелачивании пиритсодержащих хвостов флотации и отходов печатных плат, что позволило расширить допустимую концентрацию пылевой фракции плат до 12 г/л и достичь извлечения 80% меди и 38% никеля.

Обоснована перспективность двухстадийной схемы биогидрометаллургической переработки печатных плат, обеспечивающей интенсификацию извлечения металлов при повышенной плотности пульпы (50 г/л), селективное выделение целевых компонентов за счет формирования концентрированных продуктивных растворов и создание замкнутого оборотного цикла технологических растворов.

Теоретическая и практическая значимость

Разработаны принципиальные технологические подходы к повышению эффективности и стабильности существующих промышленных технологических процессов выщелачивания. Показано, что поддержание стабильного процесса окисления сульфидных минералов может снизить потребление серной кислоты в процессах биоокисления. Разработаны два технологических подхода для переработки пылевой фракции печатных плат, переработка которых традиционными способами экономически невыгодна и несет экологические риски. Показана возможность вовлечения в оборот

отходов обогащения, содержащих пирит, совместная переработка которых с отходами электроники позволит снизить нагрузку на хвостохранилища.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Дополнительная подача диоксида углерода позволяет повысить эффективность биоокисления упорного пирит-арсенопиритного и медно-цинкового концентратов.
2. Состав сообществ ацидофильных микроорганизмов в реакторах зависит от источника углерода, температуры и плотности пульпы и определяет способность микроорганизмов сохранять окислительную активность в стрессовых условиях.
3. Разработанные технологические подходы одно- и двухстадийной биогидрометаллургической переработки измельченных печатных плат позволили преодолеть токсический эффект плат на рост и метаболическую активность ацидофильных микроорганизмов и обеспечить извлечение металлов, что экспериментально подтверждает возможность их промышленного применения.
4. Совместная переработка измельченных печатных плат и пиритных хвостов флотации позволяет использовать оба вида отходов в качестве вторичного сырья для получения цветных металлов.
5. Применение двухстадийной схемы выщелачивания позволяет использовать раствор выщелачивания повторно и создать замкнутый производственный цикл с минимальным количеством стоков.

Личный вклад автора

Результаты, представленные в работе, были получены автором лично и при непосредственном участии автора в составлении планов экспериментов, проведении исследований, сборе и обработке полученных данных, оформлении результатов и подготовке их к публикации. Автор принимал непосредственное участие в работах по биоокислению полиметаллического концентрата, содержащего мышьяк, и упорного пирит-арсенопиритного концентрата. Разработка технологических подходов и последующие эксперименты по химическому выщелачиванию измельченных печатных компьютерных плат, а также по совместной переработке измельченных плат и отходов флотационного обогащения сульфидной медно-цинковой руды с определением

эффективности извлечения металлов и биоокисления сульфидных минералов были также проведены автором работы.

Публикации и апробация работы

По материалам диссертации были опубликованы 10 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах Перечня ВАК РФ и международных реферативных баз и 6 тезисов докладов конференций. Материалы диссертации были представлены на следующих конференциях и конгрессах: IX Международная научно-практическая конференция «Инновационная экономика и менеджмент: методы и технологии» (2024), XXXVII зимняя молодежная научная школа "Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии" (2025), Международная научно-практическая конференция «Рациональное природопользование: наука, практика, образование» (2026), XV Конгресс Молодых Ученых ИТМО (2026), III Международной конференции «Геномика, метагеномика и молекулярная биология микроорганизмов» (2025), Отчетная конференция аспирантов ФИЦ Биотехнологии РАН (2023, 2024, 2025).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 229 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием объектов, материалов и методов исследований, результатов исследований, заключения и выводов. Работа содержит 94 рисунка, 32 таблицы и 2 формулы; библиографический список включает 262 наименования, в том числе 7 на русском и 255 на иностранных языках.

Методы и методология исследования

В процессе выполнения настоящей работы для получения и анализа результатов был применен широкий спектр микробиологических, молекулярно-биологических и аналитических методов, а также биоинформатического и статистического анализа. Разнообразие использованных методов и подтверждение результатов с их помощью свидетельствует о достоверности и воспроизводимости полученных данных. Работа выполнена с использованием современного научного оборудования. Достоверность результатов также подтверждается опубликованием материалов в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах.

Место выполнения работы и благодарности

Работа выполнена в лаборатории хемолитотрофных микроорганизмов ФИЦ Биотехнологии РАН с 2022 по 2026 годы. Соискатель выражает глубокую признательность сотрудникам ФИЦ Биотехнологии РАН: д.б.н., профессору А.В. Марданову и к.б.н. В.В. Кадникову за определение состава микробных сообществ методом метабаркодинга; к.т.н. Бодуэн А.Я. за предоставление проб минерального сырья; сотрудникам лаборатории хемолитотрофных микроорганизмов Дюбарь А.М., Меламуду В.С., к.т.н. Муравьеву М.И., д.т.н. Фомченко Н.В., к.б.н. Панюшкиной А.Е., Елкиной Е.А., Нечаевой А.В. и Артыковой А.В. за помощь в освоении новых методов, в анализе полученных результатов и моральную поддержку. Наибольшую благодарность соискатель выражает своему научному руководителю к.б.н. Александру Генриховичу Булаеву за профессиональные наставления, за помощь в выборе и построении собственного научного пути, за генерацию новых идей и скрупулезную огранку старых, за понимание и поддержку в тяжелые периоды жизни и за неугасимую веру в соискателя.

Работа выполнена в соответствии с планами лаборатории хемолитотрофных микроорганизмов ФИЦ Биотехнологии РАН, определяемыми Госзаданиями Минобрнауки РФ, частично поддержана грантом Российского научного фонда (№ 21-64-00019-П).

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биогидрометаллургия как технологическая платформа: от переработки сульфидных руд к антропогенному сырью

Биогидрометаллургия — это направление гидрометаллургии и биотехнологии, которое основано на извлечении металлов с использованием микроорганизмов из руд, концентратов, вторичных отходов и другого сырья цветных и благородных металлов. Существует две основные разновидности данной технологии: биовыщелачивание и биоокисление (Johnson et al., 2014; Mahajan et al., 2016).

Биовыщелачивание — это процесс перевода нерастворимых сульфидов цветных металлов в раствор с последующим извлечением металлов из жидкой фазы. Этот метод широко применяется для извлечения меди и урана из бедных руд (Gahan et al., 2012).

Биоокисление — микробиологическое разрушение сульфидной матрицы для высвобождения ценного металла. Данная методика часто используется как стадия предварительной обработки золотосодержащих концентратов перед традиционным цианированием (Darvanjooghi et al., 2022).

Более широкие термины «биодобыча» («biomining») и «биоэкстракция» описывают опосредованную микроорганизмами мобилизацию элементов из твердых материалов и также могут применяться в синонимичном значении.

Промышленное применение биогидрометаллургии началось в 1958 году в виде кучного процесса выщелачивания на медном руднике Бингем-Каньон в штате Юта (США) (Brierley & Brierley, 2001; Brierley & Brierley, 2008) и с тех пор объем промышленного применения данной технологии возростал. В период с 1980 по 1998 год доля всей меди, полученной с помощью биотехнологий, увеличилась с 10% до 25% (Brombacher et al., 1997). Значительный вклад в становление биогидрометаллургии как самостоятельной научной дисциплины и технологической платформы внесли советские и российские ученые. Фундаментальные основы отечественной школы геомикробиологии были заложены в классических трудах Г. И. Каравайко, С. И. Кузнецова и А. И. Голомзика (Каравайко и др., 1972), где впервые на системном уровне была доказана определяющая роль хемолитоавтотрофных микроорганизмов в процессах промышленного выщелачивания сульфидных руд. Последующие многолетние

исследования Г. И. Каравайко позволили детально охарактеризовать масштабы деятельности микроорганизмов в литосфере, сформировав теоретический базис геологической микробиологии. Разработка и внедрение практических регламентов крупномасштабного кучного и чанового биовыщелачивания металлов неразрывно связаны с созданием комплексных руководств по биогеотехнологии (Каравайко и др., 1989), а детальное изучение физиологии и филогенетического разнообразия ключевых агентов окислительных циклов серы и железа (Каравайко и др., 2006) открыло возможности для направленного управления микробными ценозами в промышленных биореакторах. Работы отечественных исследователей доказали, что интенсификация биологического окисления упорного минерального сырья напрямую зависит от глубокого понимания кинетики и механизмов бактериального метаболизма.

Биогидрометаллургия рассматривалась как основной способ извлечения металлов из бедных руд, заняв ранее пустующую нишу извлечения цветных металлов из бедного и упорного сырья. Изначально биогидрометаллургические подходы применяли для меди, с 1960-х — для урана, а с середины 1980-х вместе с совершенствованием специальных систем биореакторов была внедрена технология предварительной биологической обработки золотосодержащих концентратов. Применение биоокисления, позволяющего удалить соединения мышьяка из арсенопиритного концентрата, открыло новые возможности для золотодобычи (Bosecker et al., 1997).

На текущий момент, биогидрометаллургические процессы в промышленных и опытно-промышленных масштабах применяются в добыче широкого спектра металлов из сульфидных руд: меди (Watling, 2006), никеля (Johnson, 2015; Panyushkina & Muravyov, 2025; Gericke & Govender, 2011), цинка (Abdollahi et al., 2022), свинца (Cozma et al., 2024), золота (Abashina & Vainshtein, 2023; Zhang et al., 2024). Однако практическое применение данных технологий неразрывно связано с постоянным изучением как технологических, так и биологических процессов, протекающих в ходе переработки минерального сырья.

На фоне растущего спроса на цветные металлы и падения доступных объемов природного минерального сырья возник спрос на создание устойчивой технологии переработки альтернативных источников металлов: вторичных отходов промышленности и электроники. Поэтому по всему миру исследуется возможность переработки такого сырья, как печатные компьютерные платы (Liu et al., 2023), аккумуляторы и батареи

(Liang et al., 2021; Davis & Demopoulos, 2023), гальванические шламы (Zhang et al., 2023) и катализаторы (Le & Lee, 2021; Paiva et al., 2022).

Биогидрометаллургические методы зачастую являются предпочтительным технологическим решением для переработки бедных и упорных руд, поскольку они, как правило, экологичнее физико-химических процессов и сопряжены с низкими капитальными и эксплуатационными расходами и не сопровождаются вредными выбросами в атмосферу (Brierley & Brierley, 2013; Johnson et al., 2014; Kržanović et al., 2019; Panyushkina & Muravyov, 2025). Данные преимущества биогидрометаллургических подходов также позволили им стать перспективным направлением для извлечения металлов и из вторичных отходов (Darvanjooghi et al., 2022; Liu et al., 2023; Xavier et al., 2023).

Однако, несмотря на эти значительные преимущества, биогидрометаллургические подходы имеют свои ограничения. Ключевым недостатком данных подходов является сравнительно низкая скорость выщелачивания металлов, приводящая к гораздо более длительному времени обработки по сравнению с химическими процессами (Ferreira-Filipe et al., 2025). Также негативным фактором является чувствительность микроорганизмов к воздействию компонентов сырья, что приводит к замедлению процесса выщелачивания и биоокисления (Anaya-Garzon et al., 2021; Maluleke et al., 2024).

Поэтому разработка способов повышения эффективности биогидрометаллургических процессов, направленных на извлечение цветных и благородных металлов, является актуальной проблемой как в рамках существующих технологий переработки природного сырья, так и антропогенного вторичного сырья (Arya & Kumar, 2020; Darvanjooghi et al., 2022; Darvanjooghi et al., 2024; Martell-Nevárez et al., 2025; Vera et al., 2022; Villares et al., 2017).

1.1.1 Промышленное применение и технологические схемы в горнодобывающей отрасли

Металлургические процессы включают в себя несколько этапов извлечения металлов из руд. Первоначально производится геологическая разведка и разработка стратегии разработки месторождения (Ben-Awuah et al., 2016; Molina et al., 2024). Извлечение минералов из недр земли осуществляется в процессе горнодобывающих

работ, которые могут осуществляться различными способами, такими как открытая (карьерная) разработка (Meagher et al., 2014), подземная и скважинная разработка (Alpay & Yavuz, 2009; Baltosser & Lawrence, 1970), разработка подводных морских месторождений (Hein et al., 2013).

Добываемая руда транспортируется на предприятия по переработке полезных ископаемых или перерабатывается в непосредственной близости от месторождений. На этом этапе руда подвергается измельчению, что представляет собой комплексный процесс, включающий дробление, измельчение, классификацию. Эта процедура предназначена для увеличения площади поверхности для проведения последующих процессов разделения и высвобождения ценных минералов, содержащихся в руде. Впоследствии руда подвергается обогащению с использованием таких методов, как гравитационная сепарация, магнитная сепарация, флотация и флокуляция (Ankireddy et al., 2023; Diab, 2025). В результате этой стадии образуется рудный концентрат, содержащий необходимые минералы, и хвосты, которые представляют собой отходы производства. Затем обогащенная руда (концентрат) подвергается экстрактивному металлургическому процессу посредством пирометаллургических, гидрометаллургических или биогидрометаллургических методов для извлечения ценных металлов, а отходы обогащения складываются в специальных накопителях отходов горнорудного производства (хвостохранилищах).

После экстракции извлеченный металл подвергается дальнейшей очистке от примесей с помощью таких методов, как пирометаллургическое и гидрометаллургическое рафинирование (Liddell et al., 2011). Выбор методов рафинирования зависит от нескольких факторов, включая присущие металлу характеристики, наличие специфических примесей и предполагаемое использование рафинированного металла.

В то же время обращение с хвостами, которые являются остаточными материалами после переработки полезных ископаемых и извлечения ценных минералов, а также побочными продуктами процессов добывающей металлургии, имеет важное значение для снижения ущерба окружающей среде. Данные отходы содержат некоторое количество ценных металлов и могут быть пригодны для биогидрометаллургических процессов экстрактивной металлургии, поскольку принципы биогидрометаллургии применимы к

низкосортным рудам, металлургическим отходам или комплексным рудам, где традиционные методы могут быть менее эффективными или нерентабельными (Chen et al., 2022; Fomchenko & Muravyov, 2020; Lorenzo-Tallafigo et al., 2022).

Биогидрометаллургические технологии включают скважинное (подземное), отвальное, кучное и чановое (реакторное, агитационное) биоокисление или биовыщелачивание. Выбор конкретного метода зависит от типа перерабатываемого сырья и технико-экономических условий процесса (Brierley, 2010; Bryan & Harrison 2022).

1.1.1.1 Скважинное выщелачивание

При скважинном (подземном или *in situ*) биовыщелачивании осуществляется подача раствора, содержащего серную кислоту и окисляющий агент (Fe^{3+}), непосредственно в место залегания руды с последующей рециркуляцией раствора. Подземная добыча меди биогидрометаллургическим способом проводилась в ходе проекта BIOMore® (Filiprov et al., 2017), где была реализована принципиальная технологическая схема, приведенная на Рисунке 1.

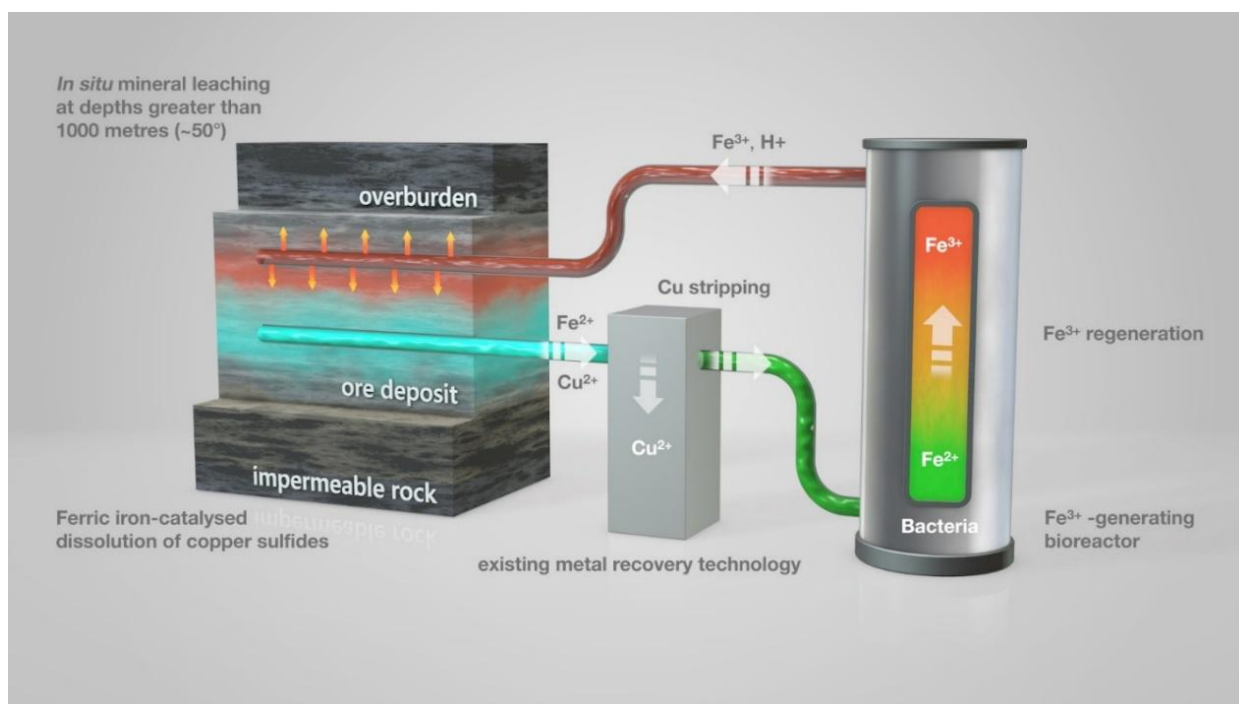


Рисунок 1 — Схема подземного выщелачивания сульфидных минералов меди (ковелина (CuS), халькозита (Cu_2S), борнита (Cu_5FeS_4) и халькопирита (CuFeS_2)) в рамках проекта BIOMore® по разработке руды на руднике Рудна, Польша. Цитировано по Filiprov et al., 2017.

Применение такой технологии имеет ряд преимуществ: отсутствие потребности во вскрытии месторождения, низкие операционные затраты, минимальное воздействие на природный ландшафт и возможность добычи глубоко залегающих руд. Однако, скорость процесса может быть относительно низкой (Brierley & Brierley, 2013; Richter et al., 2018). Данная технология широко применяется при добыче урана (Li & Yao, 2024), ведутся разработки промышленной технологии подземной добычи марганца (Borkar & Eisele, 2025) и меди (Richter et al., 2018).

1.1.1.2 Отвальное и кучное выщелачивание

Отвальное и кучное выщелачивание представляют собой принципиально схожий технологический процесс, при котором металлы извлекаются посредством орошения извлеченной на поверхность породы выщелачивающим раствором. Проходя через слой породы, раствор скапливается на непроницаемой подложке, отводится по специальной системе каналов в приемный пруд, откуда вновь поступает в систему орошения. В процессе циркуляции раствора выщелачивания через систему цветные металлы постепенно переходят в жидкую фазу, из которой они выделяются различными методами экстракции.

Отвал представляет собой размещенные на поверхности пустые вскрышные породы или низкокондиционные (забалансовые) руды, которые образуются в процессе разработки месторождения. Отвалы могут быть сформированы из относительно крупной фракции породы и иметь значительные габариты: площадь до нескольких квадратных километров и мощность в диапазоне от 15 до 100 м и более (Lizama, 2021; Pashkevich et al., 2023). Отвальное выщелачивание — одна из ключевых технологий для переработки бедных руд, обогащение и транспортировка которых нерентабельна. Основными преимуществами отвального биовыщелачивания являются низкие капитальные и эксплуатационные расходы, простота технологии и оборудования (Lizama, 2021). Однако, процесс выщелачивания напрямую связан с проницаемостью отвала для перколяции раствора, поэтому данная технология имеет низкую эффективность для глинистых пород (Dixon, 2003; Herrera et al., 2023).

При кучном выщелачивании порода проходит стадию дополнительной механической обработки, после которой измельченное и, в большинстве случаев,

агломерированное сырье укладывается в специальные кучи. Габариты кучи в сравнении с отвалом небольшие: высота обычно составляет 6 – 10 м, поэтому при переработке больших объемов руды формируют систему из нескольких куч. Куча отличается от отвала также наличием более строгой структуры укладки породы и наличием аэрирующей системы (Ghorbani et al., 2016). Выбор между отвальным и кучным выщелачиванием основывается на содержании целевых металлов в руде и ее физических характеристиках (Lizama, 2021). Для проведения кучного биовыщелачивания требуется больше капиталовложений. Этот метод является более эффективным в сравнении с отвальным выщелачиванием благодаря более равномерному распределению раствора в подготовленной куче и аэрации (Каравайко и др, 1989, с. 375). В ходе кучного выщелачивания процесс контролируется за счет регулирования скорости потока при орошении и подаче воздуха, а также происходит постепенная замена выработанной породы на новую (Petersen, 2016). Поэтому данный подход применяют к сырью с относительно большим содержанием целевых металлов.

В ходе кучного и отвального выщелачивания применяются различные растворы: раствор серной кислоты для выщелачивания меди, никеля, урана и цинка в ходе биогидрометаллургического процесса, нейтральные растворы солей для выщелачивания щелочных и щелочноземельных металлов, а также щелочные растворы цианидов для извлечения золота, серебра и металлов платиновой группы (John., 2011).

Принципиальная технологическая схема кучного и отвального биовыщелачивания и биоокисления представлена на Рисунке 2.

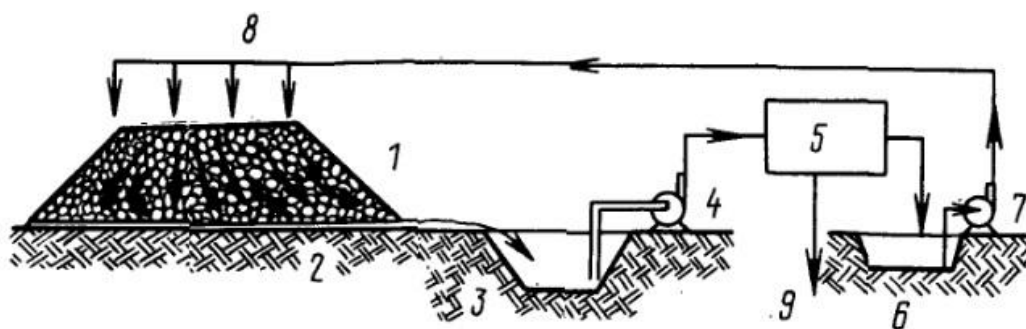


Рисунок 2 — Принципиальная схема процесса кучного и отвального выщелачивания.

1 — куча или отвал, 2 — поверхность почвы, 3 — пруд для сбора продуктивных растворов, 4, 7 — насосы, 5 — установка для экстракции металла из раствора, 6 — пруд для отработанного раствора, 8 — система орошения отвала или кучи, 9 — экстракт металла. Цитировано по Каравайко и др, 1989, с. 375.

Несмотря на распространение отвального и кучного выщелачивания, данные подходы характеризуются общими недостатками — низкой скоростью процесса и относительно невысокой степенью извлечения металлов (Jia et al., 2024). Поэтому оптимизация данных процессов является актуальным направлением исследований и по сей день (Petersen, 2023; Jia et al., 2024).

1.1.1.3 Чановое (агитационное) биовыщелачивание и биоокисление

В ходе переработки концентратов сульфидных руд для интенсификации процесса биологического окисления используют чановое выщелачивание. В чановом выщелачивании применяются реакторы с механической мешалкой. На текущий момент такие системы, как барботажные реакторы (пачуки), реакторы колонного типа и роторные реакторы не нашли широкого применения, однако, рассматривались в качестве альтернативы реакторам с мешалками (Herrera et al., 1998; Rossi, 2001).

В ходе биологического окисления сульфидных рудных концентратов важную роль играют скорость роста и метаболическая активность ацидофильных микроорганизмов. Поэтому реакторы биоокисления должны обеспечивать оптимальное перемешивание, сводя к минимуму возникновение градиентов концентрации, температуры и pH и поддерживая подходящие условия для роста микроорганизмов. Условия перемешивания в реакторах с мешалкой зависят от таких факторов, как плотность пульпы (отношение массы концентрата к объему пульпы), скорость аэрации и перемешивания, конструктивных особенностей реактора и мешалки (Gallego et al., 2013).

Реакторное биовыщелачивание применяется, в основном, для переработки золотосодержащих концентратов. На данный момент в мире функционирует около 15 предприятий биоокисления арсенопиритного концентрата в нескольких странах (ЮАР, Австралия, Бразилия, США, Канада, Замбия, Гана, Россия) и примерно 5% золота извлекаются посредством биотехнологий (Logan et al., 2007). Чановое биовыщелачивание нашло применение также для получения кобальта и никеля из кобальто-пиритного концентрата (Mahmoud et al., 2017).

На данный момент компания «Полус» эксплуатирует единственное предприятие в России, применяющее биогеотехнологии в промышленных масштабах. На предприятии осуществляется чановое биоокисление золотосодержащего концентрата

пирротинсодержащей пирит-арсенопиритной руды Олимпиадинского месторождения по технологии БИОНОРД® (Belyi et al., 2017; Muravyov, 2019). По объемам получаемого золота данное предприятие является крупнейшим в мире среди биогидрометаллургических производств (Совмен и др., 2007, с.144).

Одной из самых распространенных технологий биологического окисления пирит-арсенопиритных концентратов является BIOX® (Azizitorghabeh et al., 2022; Dew et al., 1997; Muravyov, 2019). Многотоннажный процесс проводится в каскаде реакторов смешения, которые могут достигать колоссальных объемов: например, на заводе Bogoso BIOX® установлены реакторы биоокисления с рабочим объемом по 1500 м³ (van Niekerk et al., 2022). Типичная технологическая схема данного процесса представлена на Рисунке 3.

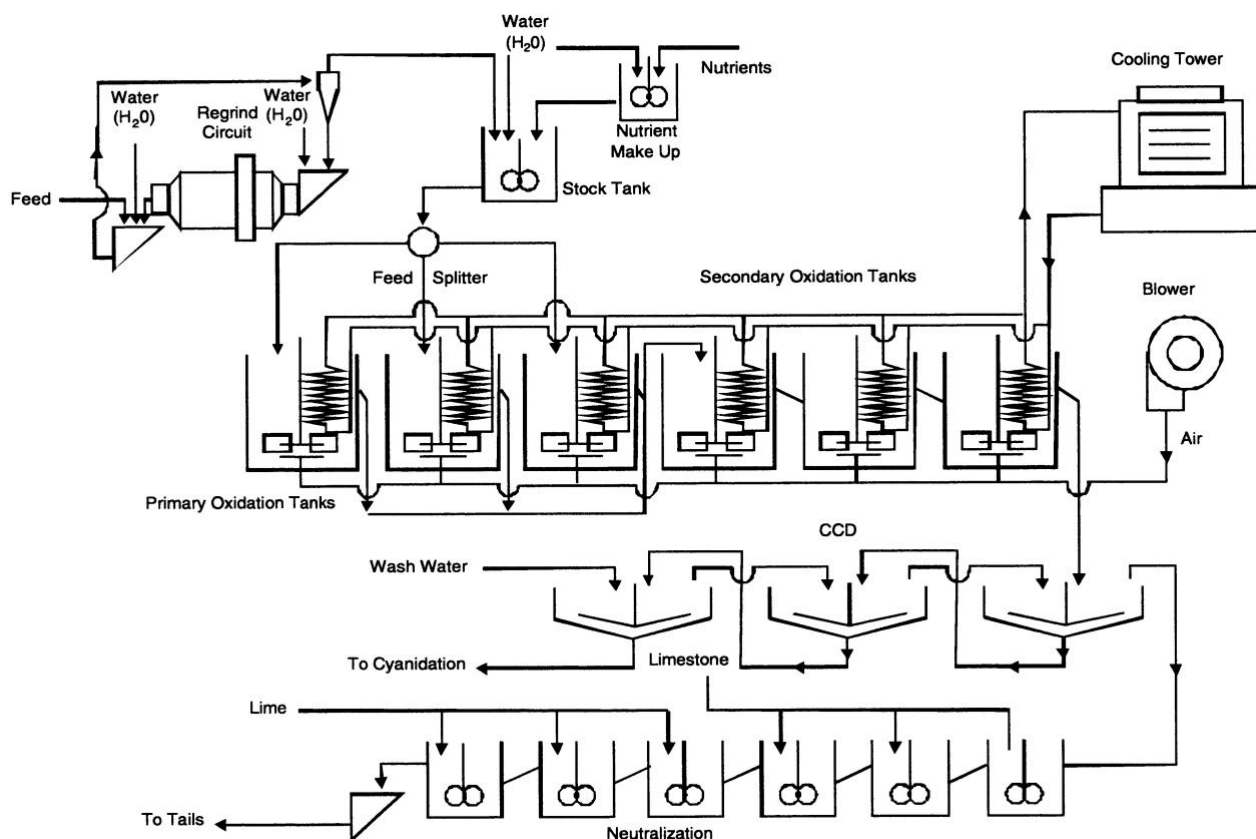


Рисунок 3 — Принципиальная схема процесса биоокисления золотосодержащего арсенопиритного концентрата по технологии BIOX®. Цитировано по Dew et al., 1997, р. 47.

При агитационном биовыщелачивании окисление измельченного минерального сырья может осуществляться в цепи последовательно соединенных реакторов (каскаде) или в одном реакторе. В реакторах поддерживается интенсивное перемешивание и аэрация, поддерживается заданная температура. В первичных реакторах происходит накопление биомассы ацидофильных микроорганизмов, необходимой для стабильного протекания процесса в следующих реакторах.

Чановое биоокисление обеспечивает переработку руд и концентратов с большей скоростью по сравнению с тремя другими типами, однако является более технологически сложным и затратным процессом. Поэтому до сих пор ведутся поиски путей оптимизации технологического процесса, направленных на повышение стабильности технологических процессов и увеличения производительности.

1.1.2 Потенциал для переработки вторичного металлосодержащего сырья

Вторичное металлосодержащее сырье рассматривается как перспективный источник цветных и благородных металлов (Anaya-Garzon et al., 2021; Maluleke et al., 2024). Данный тип сырья включает в себя широкий спектр различных отходов: использованные электронные устройства (бытовые и промышленные), металлургические пыли и шламы, использованные батарейки и аккумуляторы, утратившие рабочие характеристики катализаторы химической промышленности, автомобильные катализаторы, зола, образующаяся при сжигании ископаемого твердого и жидкого топлива. Общим свойством данных отходов является содержание значительной массовой доли металлов (Dave et al., 2016). Металлические части вторичных отходов представлены в виде напыленных на поверхности порошков, проводов, частей корпуса и каркаса. Цветные и благородные металлы представлены в составе таких отходов в виде сплавов и покрытий, а также в виде окислов (Debnath et al., 2018; Funari et al., 2017; Wang et al., 2023).

Металлосодержащие отходы и побочные продукты металлургической промышленности представлены шлаками, шламами, пылью различного сырья, хвостами и другими видами техногенного сырья. В сточных водах металлургических производств также содержатся металлы, которые в ходе переработки отделяются в виде осадка и далее

утилизируются (Chalaris et al., 2023; Kuzin & Krutchinina, 2019). Многие из этих отходов могут быть переработаны методами пиро- и гидрометаллургии.

Примеры отходов металлургической промышленности, которые могут быть использованы в качестве потенциального вторичного источника цветных металлов могут иметь различное происхождение и объемы. К примеру, удельное производство конвертерного шлака медеплавильных заводов может составлять от 0,95 до 2,5 тонн на тонну произведенной меди. Конвертерные шлаки являются богатым источником некоторых важных цветных металлов, таких как никель (1 – 2%), кобальт (0,4 – 0,8%) и медь (1 – 9%). Их содержание в шлаке зависит от состава концентрата, подаваемого на плавильный завод, и контроля технологических параметров в процессе производства (Phiri et al., 2022).

В процессах производства чугуна и стали образуется до 300 кг доменного шлака на тонну чугуна и 300 – 500 кг шлака на тонну произведенной стали. Большая часть этого шлака утилизируется при производстве цемента, однако, часть данных отходов может быть рассмотрена в качестве вторичного источника металлов. Кроме того, данный процесс сопровождается образованием пыли и шлама из доменной и электродуговой печи, которые могут содержать цветные металлы в зависимости от типа производства (Zhang et al., 2024).

Гальванические шламы, образующиеся в большом количестве при хромировании различных металлических деталей, содержат 7 – 11% Cr и 3 – 5% Fe, а также другие металлы: никель, кобальт, цинк, кадмий, молибден, ванадий, медь. Данный тип отходов является богатым вторичным источником цветных металлов. Процессы его переработки являются актуальным предметом исследований (Sun et al., 2021; Guo et al., 2024).

Катализаторы гидроочистки широко используются на нефтеперерабатывающих заводах для получения более чистого топлива. Эти катализаторы обычно содержат молибден, нанесенный на носитель из оксида алюминия. В составе катализатора могут также присутствовать кобальт или никель для процессов гидродесульфуризации, денитрогенизации и демееталлизации (удаление V и Ni из нефти) (Marafi & Stanislaus, 2008). Отработанные катализаторы гидроочистки могут содержать 10 – 30% молибдена, 1 – 12% ванадия, 0,5 – 6% никеля, 1 – 6% кобальта, 8 – 12% серы, 10 – 12% углерода и остатков оксида алюминия (Zeng & Cheng, 2009).

Процесс сжигания твердых бытовых отходов сопровождается образованием золы. Зола содержится как в отходящих газах (fly ash), так и в виде негорючего остатка (т.н. «bottom ash») и содержит значительное количество металлов. Хотя зольный остаток иногда утилизируют в качестве строительного материала в составе цемента или при производстве стекла (Sutcu et al., 2019), большая его часть выбрасывается на свалки. Состав золы может варьироваться в зависимости от региона и состава отходов, но часто содержит такие металлы, как Cu, Al, Zn, Cr, Fe, Cd, Pb, Mn, Ni, As, Hg (Shim et al., 2005).

Значительную часть вторичных металлосодержащих отходов представляют отходы электроники (электронный лом) (Thakur & Kumar, 2020). В состав электронных отходов входят различные металлы, металлоиды, драгоценные металлы, органические соединения, стекло и радиоактивные элементы. Эти металлы и металлоиды включают алюминий, мышьяк, сурьму, барий, бериллий, кадмий, хром, медь, европий, индий, свинец, литий, железо, марганец, ртуть, никель, селен, кремний, олово, цинк и др. В электронном ломе содержатся такие драгоценные металлы, как золото, серебро, палладий и платина. Пластиковые части отходов электроники могут содержать различные органические компоненты: галогенированные соединения, такие как полихлорированные дифенилы (PCD), тетрабромбисфенол (TBBA), полибромированные дифенилы (PBB), полибромированные дифениловые эфиры (PBDE), хлорфторуглероды (CFC), поливинилхлорид (PBX) (Dave et al., 2016).

Все перечисленные отходы представляют собой интерес как объект для исследований по гидрометаллургическому извлечению металлов, в том числе, методами биогидрометаллургии (Lee & Pandey 2012).

1.2 Гидрометаллургические подходы к извлечению металлов из электронных отходов и другого антропогенного сырья

В основе гидрометаллургических технологий лежит перевод ценных компонентов из твердого сырья в жидкую фазу. Эта группа технологий базируется на использовании водных растворов реагентов различного действия – кислотных, щелочных, окислительных и комплексообразующих (хелатных). Активное применение данных процессов началось в первой четверти XX века, и по сей день они остаются критически важными при переработке руд благородных металлов — золота, серебра и платиноидов.

К традиционным методам гидрометаллургии относятся выщелачивание цветных и благородных металлов с помощью растворов минеральных кислот, растворов хлоридов, пероксидов, тиокарбамидов и цианидов. Также используются такие методы, основанные на окислительно-восстановительных процессах, такие как окисление озоном и автоклавное выщелачивание (Gunaratne et al., 2022; Deblonde et al., 2023).

В зависимости от характеристик выщелачивающего раствора и технологической схемы процесса, гидрометаллургические технологии подразделяются на химические методы и биологические. Общая схема гидрометаллургических подходов представлена на Рисунке 4.

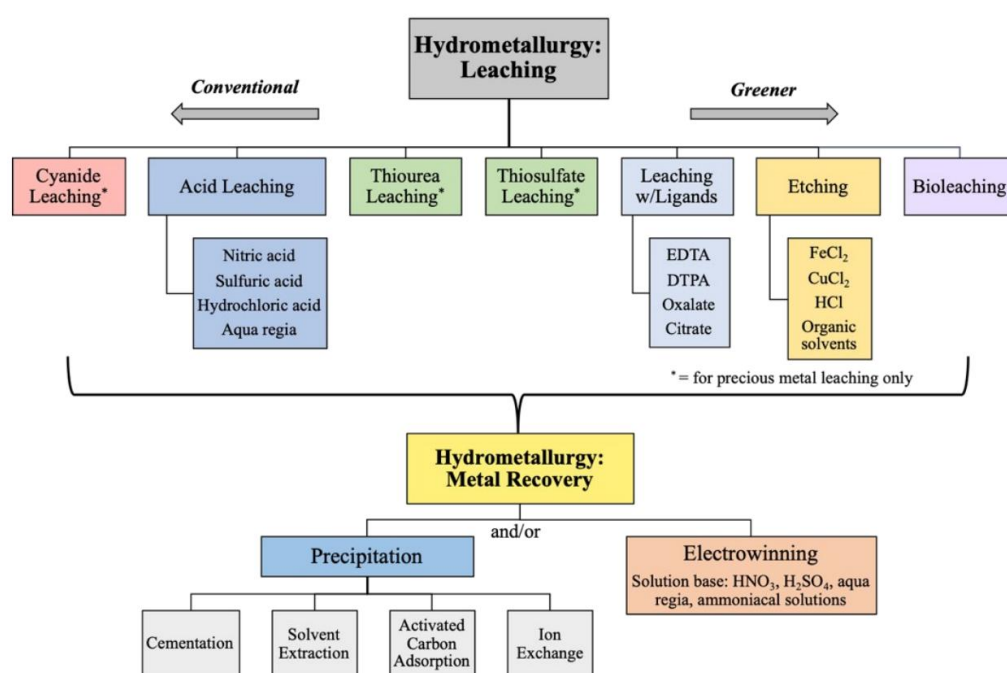


Рисунок 4 — Основные гидрометаллургические методы извлечения металлов и методы последующей экстракции металлов из раствора. Цитировано по Hsu et al., 2019.

Катионы металлов из раствора извлекаются за счет электролиза (Lei et al., 2021) и таких методов экстракции, как цементация, жидкостная экстракция, сорбция на активированном угле и на ионообменных смолах (Hsu et al., 2019; Kim et al., 2024).

1.2.1 Химические методы гидрометаллургии: реагенты и механизмы

Химические методы гидрометаллургии переработки вторичного металлосодержащего сырья активно развиваются. Среди химических процессов наиболее часто используется кислотное выщелачивание цветных металлов растворами минеральных кислот и цианирование (Pant et al., 2012). Также активно разрабатываются новые методы гидрометаллургической обработки.

В гидрометаллургии применяют различные минеральные кислоты, как в составе водных растворов, так и в составе смесей. Азотная кислота (HNO_3) является наиболее часто исследуемым реагентом для выщелачивания, в частности, для извлечения Cu, Pb и Sn из вторичного сырья. Царская водка эффективна для выщелачивания Cu, Au и Ag. Менее агрессивным с коррозионной точки зрения агентом в сравнении с царской водкой предстает смесь серной кислоты с перекисью водорода. Серную кислоту и ее водные растворы также используют в процессах выщелачивания ввиду меньшей коррозионной активности, в сравнении с азотной и соляной кислотами, меньшей себестоимости и относительно простой регенерации с последующим повторным использованием из-за меньшей летучести. Ее растворы используются для извлечения цветных металлов из вторичных отходов в лабораторных условиях, но не позволяют эффективно извлекать благородные металлы в раствор (Kim et al., 2021; Pant et al., 2012).

Альтернативные химические методы селективного извлечения металлов также активно разрабатываются. Например, аммиачное выщелачивание обладает высокой селективностью по отношению к меди. Медь образует аминокомплексы с аммиаком, а стабильность этих соединений регулируется pH, окислительно-восстановительным потенциалом и концентрацией аммиака (Hsu et al., 2019).

Использование растворов тиомочевины и тиосульфата рассматривается как более экологичный вариант технологии выщелачивания благородных металлов в сравнении с выщелачиванием растворами цианидов и выщелачиванием царской водкой (Lin et al., 2023; Ray et al., 2022). Несмотря на различную природу веществ, все указанные методы работают по схожему принципу: в определенных условиях происходит окисление металлического золота с последующим комплексобразованием, благодаря которому золото переходит в раствор. Впоследствии золото извлекают сорбционными методами.

Выщелачивание растворами тиосульфата аммония является развивающейся технологией извлечения золота и серебра из различного сырья (Aylmore & Muir, 2001; Jeon et al., 2018). Немаловажным фактором для данного процесса является наличие свободных ионов меди, выступающих в качестве катализатора.

Метод выщелачивания раствором тиомочевины подразделяется на два типа: выщелачивание в щелочной среде (Wei et al., 1999) и в кислой среде (Li & Miller, 2006). Основным предметом исследований гидрометаллургического процесса с использованием тиомочевины является извлечение золота из природного (Boboev et al., 2020; Li et al., 2023) и вторичного сырья (Jing-ying et al., 2012; Ray et al., 2022). В промышленном масштабе метод выщелачивания золота раствором тиомочевины пока не смог потеснить цианирование. В первую очередь, это обусловлено более высокой стоимостью реагентов и необходимостью тонкого регулирования процесса в узком диапазоне окислительно-восстановительного потенциала, pH и концентраций всех реагирующих веществ (Aylmore & Muir, 2001).

Перспективной технологией извлечения золота и серебра предстает выщелачивание растворами аминокислот (глицина и глутамата) в присутствии окислителя (Oraby et al., 2020; Li et al., 2025a; Li et al., 2025b). Реакция основывается на образовании устойчивых комплексных соединений золота и серебра с аминокислотами в щелочных условиях в присутствии перманганата калия. Сравнение основных методов гидрометаллургического извлечения металлов представлено в Таблице 1.

Таблица 1 — Химизм основных процессов гидрометаллургического химического выщелачивания. Цитировано с изменениями по Kim et al., 2021.

Тип выщелачивания	Пример	Общая реакция
Кислотное	HNO ₃	$4\text{HNO}_3 + \text{Cu} \rightarrow \text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + 2\text{NO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
Кислотное	H ₂ SO ₄ :H ₂ O ₂	$\text{Cu} + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cu}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$
Кислотное	Царская водка	$2\text{Au} + 11\text{HCl} + 3\text{HNO}_3 \rightarrow 2\text{HAuCl}_4 + 3\text{NOCl} + 6\text{H}_2\text{O}$
Цианирование	NaCN	$4\text{Au} + 8\text{CN}^- \rightarrow 4\text{Au}(\text{CN})_2^- + 4\text{e}^-$
Тиомочевина	CS(NH ₂) ₂	$\text{Au} + 2\text{CS}(\text{NH}_2)_2 \rightarrow \text{Au}(\text{CS}(\text{NH}_2)_2)_2^+ + \text{e}^-$
Тиосульфат	S ₂ O ₃ ²⁻	$\text{Au} + 5\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+} \rightarrow \text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-} + \text{Cu}(\text{S}_2\text{O}_3)_3^{5-} + 4\text{NH}_3$
Аминокислотное (на прим. Gly)	NH ₂ CH ₂ COOH	$2\text{Au} + 4\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{NaOH} + 1/2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{Na}(\text{Au}(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_2) + 2\text{H}_2\text{O}$

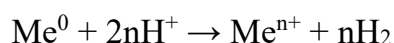
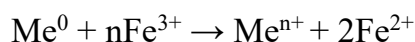
Такие гидрометаллургические подходы, как выщелачивание растворами минеральных кислот и мягких окислителей, выщелачивание органическими кислотами и

смежные с ними биогидрометаллургические подходы не применяются для извлечения благородных металлов (Hsu et al., 2019). Данные методы нацелены, в основном на извлечение таких металлов, как медь, никель, цинк, алюминий и кобальт, и часто используются для предварительного селективного извлечения металлов из сырья. Преимущественно, используют методы выщелачивания растворами минеральных кислот, которые позволяют удалить большую часть металлов из сырья. Предварительное выщелачивание снижает затраты химических реагентов на извлечение благородных металлов в ходе последующего извлечения цианированием или с применением тиомочевины и тиосульфата (Hsu et al., 2019).

1.2.2 Биогидрометаллургические методы: достижения и фундаментальные ограничения

Биовыщелачивание вторичных металлосодержащих отходов включает в себя два основных направления: выщелачивание с использованием ацидофильных микроорганизмов, трехвалентного железа и серной кислоты в качестве основных выщелачивающих агентов и выщелачивание с помощью соединений, продуцируемых гетеротрофными микроорганизмами.

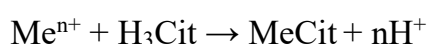
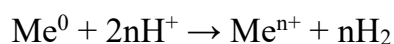
Основой процесса выщелачивания с помощью ацидофильных микроорганизмов служит механизм микробного окисления двухвалентного железа в кислой среде. Полученный раствор содержит катионы трехвалентного железа в среде серной кислоты и является известным выщелачивающим агентом, широко используемым в гидрометаллургических процессах и позволяет эффективно извлекать большинство целевых цветных металлов — медь, цинк, никель и т.д. (Letowski et al., 1979; Majima et al., 1985; Tran & Lee, 2022; Yazici & Deveci, 2014). Химически процесс выщелачивания металлов за счет окисления трехвалентным железом и раствором кислоты описывается следующими уравнениями:



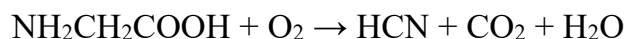
Биогидрометаллургические технологии с использованием ацидофильных микроорганизмов широко применяются для переработки сульфидных руд (Раздел 1.1) и

имеют высокий потенциал быть интегрированными в гидрометаллургические процессы переработки вторичного сырья (Barnett et al., 2020; Priya & Hait., 2018).

Выщелачивание метаболитами гетеротрофных микроорганизмов происходит, в основном, за счет лимонной, уксусной, яблочной, и щавелевой кислот (Adetunji et al., 2023). При этом металлы, содержащиеся в сырье, переходят в раствор за счет ацидолиза (acidolysis), хелатирования (complexolysis), окислительно-восстановительных реакций (redoxolysis) (Asghari et al., 2013). Общий химический процесс выщелачивания металла под действием органической кислоты (на примере лимонной) описывается следующими упрощенными уравнениями реакций:



Некоторые микроорганизмы, например, *Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida*, являются продуцентами синильной кислоты при росте на питательных средах, содержащих глицин. Эта реакция катализируется ферментом HCN-синтазой, гены которого являются частью оперона hcnABC (Blumer & Haas, 2000). Общая химическая реакция этого процесса представлена в виде следующего уравнения реакции:



Синильная кислота выступает в роли выщелачивающего агента аналогичным процессу цианирования образом с образованием цианидных комплексов, таких как $[\text{Cu}(\text{CN}_2)]^-$, $[\text{Ag}(\text{CN}_2)]^-$, $[\text{Au}(\text{CN}_2)]^-$. Однако, данный подход на данный момент был использован только в масштабах небольших лабораторных экспериментов, так как его практическое применение сталкивается со множеством ограничений: низкой скоростью образования и конечной концентрацией образующегося циановодорода, низкой плотностью пульпы сырья, относительно низкой эффективностью в сравнении с традиционными гидрометаллургическими методами (Merli et al., 2022; Pourhossein et al., 2021; Yuan et al., 2019). Также нельзя не отметить, что глицин, присутствующий в среде в количестве от 1 до 3 г/л, сам может выступать в качестве выщелачивающего агента, что вызывает определенный скепсис исследователей в отношении данного подхода (Oraby et al., 2020).

Обобщенная схема биогидрометаллургических подходов переработки вторичного металлосодержащего сырья представлена на Рисунке 5.

Биогидрометаллургические процессы выщелачивания металлов из вторичного сырья включают в себя три основных подхода: одностадийные, двухстадийные процессы и, так называемый, метод с использованием отработанной среды (spent medium). В одностадийном процессе выщелачиваемое сырье (например, печатные платы или гальванический шлам) находится в одной реакционной среде с микроорганизмами. При этом и инокулят, и выщелачиваемое сырье помещаются в среду одновременно в начале процесса.

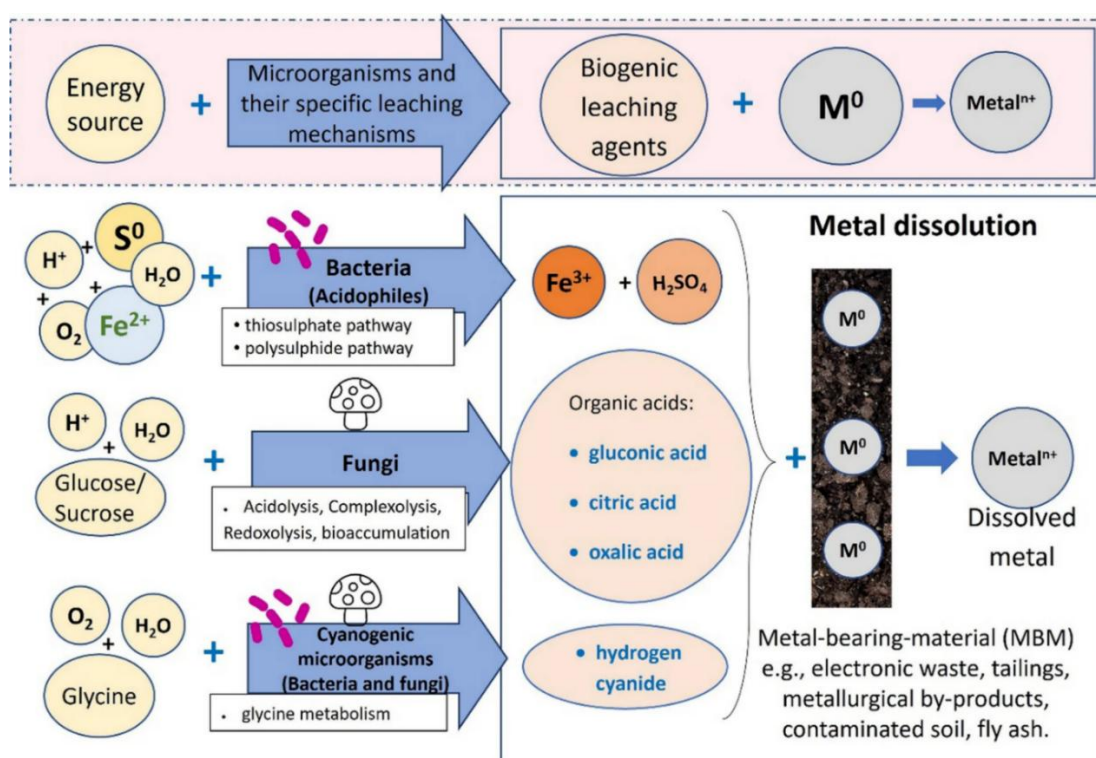


Рисунок 5 — Общая схема биогидрометаллургических подходов переработки вторичного металлосодержащего сырья. Цитировано по Tezyapar et al., 2023.

В двухстадийном процессе инокулят помещается в питательную среду и инкубируется в оптимальных для роста микроорганизмов условиях. Предварительное культивирование продолжается до появления признаков накопления выщелачивающих метаболитов в среде. Такими признаками могут быть снижение pH для сероокисляющих автотрофных микроорганизмов и для грибов-продуцентов органических кислот, рост Eh

и накопление катионов трехвалентного железа для железобактерий и т.д. (Amiri et al., 2012; Işıldar et al., 2016).

При выщелачивании отработанной средой наработка бесклеточных растворов биологическими методами и само извлечение металлов из сырья происходят отдельно. Например, наработка цианид-содержащего раствора с использованием бактерий *C. violaceum* с последующим химическим выщелачиванием золота из электронного лома (Natarajan & Ting, 2015), или выщелачивание никеля и ванадия из зольных остатков с помощью бесклеточного раствора культивирования *Aspergillus niger* (Rasoulnia & Mousavi, 2016). Термин «spent medium» используют, в основном, для продуцентов выщелачивающих агентов из органических веществ. В контексте выщелачивания с использованием серо- и железобактерий ацидофильных микроорганизмов термин практически не используется. Сравнение методов биогидрометаллургической обработки представлено в Таблице 2.

Таблица 2 — Сравнение биогидрометаллургических подходов

Критерий	Использование ацидофильных серо- и железобактерий микроорганизмов	Использование продуцентов органических кислот	Использование цианогенных микроорганизмов
Механизм	Окисление серной кислотой и ионами трехвалентного железа	Кислотное выщелачивание и комплексообразование	Биосинтез цианидов для образования растворимых цианидных комплексов
Эффективность для переработки вторичного сырья	Позволяет извлекать Cu, Zn, Co, Ni и редкоземельные элементы со степенью выщелачивания до 90-95% (Anaya-Garzon et al., 2021; Chen et al.; 2015, Santhiya & Ting, 2006)	Позволяет извлекать Cu, Zn, Co, Ni и редкоземельные элементы со степенью выщелачивания до 90% (Rasoulnia & Mousavi., 2016; Trivedi & Hait, 2019)	Позволяет извлекать Au и Ag до 70 и 40%, соответственно (Kumar et al., 2018)
Операционные расходы (относительно)	Низкие: добавление серной кислоты, минеральной среды, барботаж и перемешивание.	Средние: затраты на минеральные и органические компоненты среды, перемешивание	Высокие: добавление факторов роста, минеральных компонентов среды и аминокислот в чистом виде
Интеграция в существующие технологические схемы	Существуют промышленные технологии переработки руд	Промышленные технологии отсутствуют	Промышленные технологии отсутствуют

В ходе биогидрометаллургической переработки процесс может контролироваться такими параметрами, как pH среды, размер частиц, предобработка сырья, концентрация частиц сырья (плотность пульпы), качество и количество инокулята, субстрат, скорость перемешивания и аэрации, температура (Tezyapar et al., 2023).

Важным фактором, который влияет на эффективность системы при биовыщелачивании, является адаптация микроорганизмов к материалам отходов. В ряде исследований по биовыщелачиванию было подтверждено, что адаптированные микроорганизмы обеспечивают более высокое извлечение металлов по сравнению с неадаптированными (Santhiya & Ting., 2006; Anaya-Garzon et al., 2021; Lalropuia et al., 2024). Адаптация может выполняться путем культивирования микроорганизмов до достижения логарифмической фазы роста в жидкой питательной среде с небольшой плотностью пульпы (0,2%) (Chen et al., 2015). После того как клетки достигают логарифмической фазы роста, проводят пересев на среду с более высокой концентрацией материала до тех пор, пока не будет достигнута целевая плотность пульпы (Baral, 2021). Адаптацию грибов-продуцентов кислот также можно проводить на чашках Петри с использованием питательной среды, содержащей ионы металлов (Amiri et al., 2011).

1.3 Ацидофильные микробные сообщества как платформа для гибридных технологий

В процессах биологического выщелачивания традиционно используют хемолитотрофные бактерии рода *Acidithiobacillus* (ранее *Thiobacillus*), однако, по мере изучения микробиоты, обитающей на различных месторождениях сульфидных минералов, в технологических процессах начали применяться микроорганизмы родов *Sulfobacillus*, *Acidimicrobium*, *Acidiplasma*, *Ferroplasma*, *Leptospirillum* — всего более 20 родов бактерий и архей. Данные микроорганизмы различаются оптимальной для роста температурой, типом углеродного питания, но объединены такими общими свойствами как устойчивость к высокой кислотности (оптимальный pH 1,0 – 2,2) и высоким концентрациям ионов металлов (Boxall et al., 2018; Wang et al., 2020).

Микроорганизмы, применяемые в биогидрометаллургии сульфидных руд и концентратов и участвующие в биогеохимическом цикле железа и серы, относятся к разным филогенетическим группам. Они включают как представителей домена *Bacteria*

(филумы *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinomycetota* и *Nitrospirota*), так и домена *Archaea* (филумы *Thermoplasmatota* и *Thermoproteota*) (Таблица 3). Существует большое разнообразие ацидофильных железо- или сероокисляющих хемолитотрофных организмов, способных расти в широком диапазоне температур от 10 °С до 70 °С и выше. Природными местами обитания данных микроорганизмов являются экосистемы с высоким содержанием серы и железа: сульфидные руды, шахтные воды (AMD), геотермальные источники, а также техногенные экосистемы: хвостохранилища, промышленные объекты добычи и переработки природных руд. (Hallberg & Johnson, 2001; Johnson, 1998).

Таблица 3 — Ацидофильные микроорганизмы, участвующие в окислении сульфидных минералов. Цитировано по Кондратьевой и др., 2015. – 212 с.

Домен	Филум	Вид
<i>Bacteria</i>	<i>Proteobacteria</i>	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>
		<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>
		<i>Acidithiobacillus caldus</i>
	<i>Firmicutes</i>	<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>
		<i>Sulfobacillus acidophilus</i>
		<i>Alicyclobacillus disulfidooxidans</i>
	<i>Actinomycetota</i>	<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>
	<i>Nitrospirota</i>	<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>
		<i>Leptospirillum ferriphilum</i>
<i>Archaea</i>	<i>Thermoplasmatota</i>	<i>Ferroplasma spp.</i>
		<i>Acidiplasma spp.</i>
	<i>Thermoproteota</i>	<i>Metallosphaera sedula</i>
		<i>Sulfolobus metallicus</i>

Несмотря на низкое содержание органики в характерных местах обитания ацидофильных микроорганизмов, у некоторых родов микроорганизмов обнаружена способность подстраиваться к изменяющимся концентрациям органического вещества в среде (Mirete et al., 2017, p. 238). Естественные среды обитания ацидофильных микроорганизмов характеризуются кислотностью (рН от 0,5 до 3,0). В этих местах обитания зачастую отсутствует солнечное освещение, концентрации питательных веществ невысоки, в том числе, относительно низкими концентрациями органического углерода (Rawlings, 2001), что не позволяет выживать большинству организмов. Ацидофильные микроорганизмы способны выживать в широком диапазоне экстремальных условий находясь как в форме биопленки, так и в составе планктонной культуры. Примеры естественных мест обитания ацидофильных микроорганизмов представлены в Таблице 4.

Таблица 4 — Ацидофильные микроорганизмы в различных местах обитания. Цитировано по Mirete et al., 2017, p. 238.

Локация		Frasassi cave system, Italy	Richmond mine at Iron Mountain, California USA	Copahue–Caviahue system, Argentina	AMD site DX2, Southeast China	Coal mining area in Svalbard, Norway	Stream OB, coal mining area in South Island, New Zealand	Xiang Mountain sulfide mine, China	South Shetland Islands, Antarctica	Tailing dump in Kristineberg, Sweden
Форма жизни		Биопленка	Биопленка	Планктонная культура	Планктонная культура	Отложения	Биопленка	Планктонная культура	Планктонная культура	Отложения
pH		0,5	0,83	1,0	1,9	2,3	2,8	3,0	3,3	3,5
Температура (°C)		13	42	59	32	4	16,6	30	–0,2	0,7
Бактерии	Микроорганизмы									
	<i>Leptospirillum</i> spp.		+	+	+	+	+			+
	<i>Acidithiobacillus</i> spp.	+		+	+	+			+	+
	<i>Sulfobacillus</i> spp.		+		+					+
	‘ <i>Ferroplasma myxofaciens</i> ’				+			+		
	Группа <i>Ferrimicrobium/Acidimicrobium</i>	+			+	+	+		+	
	<i>Acidiphilium</i> spp.			+	+	+		+		
	<i>Acidisphaera</i> spp.					+	+		+	
	<i>Acidobacterium</i> spp.				+	+			+	
Археи	<i>Ferroplasma</i> spp.	+	+	+	+					
	<i>Crenarchaeota</i> (некультивируемые)							+		

1.3.1 Микробиологические основы: таксономическое разнообразие и функциональные группы ацидофильных сообществ в биогидрометаллургии

Используемые в биогидрометаллургии ацидофильные микроорганизмы представлены мезофильными бактериями родов *Leptospirillum*, *Acidithiobacillus* и археями рода *Ferroplasma*, умеренными термофилами (*Sulfobacillus* spp., *Acidimicrobium* spp., *At. caldus*, *Acidiplasma* spp.), термофилами (семейства *Sulfolobaceae* и *Thermoplasmataceae*). Ацидофильные микроорганизмы также разделяются по способности окислять двухвалентное железо и соединения серы. Некоторые ацидофильные микроорганизмы способны окислять только двухвалентное железо (*Ferroplasma* spp., *Leptospirillum* spp.), другие способны окислять только восстановленные соединения серы (*At. caldus*, *At. thiooxidans*), а третьи способны использовать оба типа соединений в качестве источника электронов (*At. ferrooxidans*, *Sulfobacillus* spp.) (Каравайко и др., 2006).

Ацидофильные микроорганизмы также могут быть классифицированы по используемым источникам углерода (Rawlings, 2001). Выделяют облигатно автотрофные ацидофильные микроорганизмы, которые получают углерод путем фиксации углекислого газа с последующим восстановлением в цикле Кальвина или цикле Арнона (*Acidithiobacillus* spp., *Leptospirillum* spp.). Значимую часть ацидофильных микроорганизмов составляют гетеротрофы, способные усваивать различные органические соединения: *Acidisphaera*, *Acidocella*, *Acidomonas*, *Alicyclobacillus*, *Ferroplasma* и *Acidiplasma* spp. (González et al., 2024). Конечным акцептором электронов в ходе для большинства гетеротрофных ацидофильных микроорганизмов является кислород. Некоторые ацидофильные гетеротрофы способны использовать в качестве акцептора электронов сульфат, нитрат и трехвалентное железо. Эти процессы были описаны для *Acidibacter ferrireducens*, *Acididesulfobacillus acetoxydans*, *Am. ferrooxidans*, *Desulfosporosinus acidiphilus*, *Ferrimicrobium acidiphilum*, *Ferrithrix thermotolerans* и для некоторых микроорганизмов родов *Acidiphilium*, *Alicyclobacillus* и *Sulfobacillus* (Nixon et al., 2022; González et al., 2024). Восстановление трехвалентного железа в ацидофильных гипертермофильных условиях описано для архей *Saccharolobus shibatae*, *Saccharolobus caldissimus*, *Saccharolobus solfataricus* и *Acidianus manzaensis* (Nixon et al., 2022).

Третья группа ацидофильных микроорганизмов представлена миксотрофами, которые способны усваивать и CO₂, и органические субстраты. Типичными

представителями этой группы являются мезофильные и термофильные бактерии *Sulfobacillus* spp., *Acidiphilium* spp., *Ferrimicrobium* spp. и *Acidimicrobium* spp. (Johnson, 1998).

Биогидрометаллургические процессы практически не проводят с использованием чистых культур микроорганизмов ввиду невозможности поддержания асептических условий, и применяют сообщества ацидофильных микроорганизмов, как автохтонных для сырья, так и созданных консорциумов, между которыми возникают тесные трофические связи.

1.3.1.1 Бактерии рода *Acidithiobacillus*

Наиболее изученными представителями рода *Acidithiobacillus* являются *At. ferrooxidans*, *At. caldus* и *At. thiooxidans*, причем, первые часто рассматриваются как модельные микроорганизмы в процессах биовыщелачивания. Биохимические пути *At. ferrooxidans* изучены более подробно, чем у любых других железоокисляющих и сероокисляющих микроорганизмов.

At. ferrooxidans — факультативно аэробная грамотрицательная хемолитотрофная ацидофильная бактерия, не образующая эндоспор. Первоначально был отнесен к роду *Thiobacillus*, позже этот вид был (вместе с другими ацидофильными видами рода *Thiobacillus*) реклассифицирован и отнесен к новому роду *Acidithiobacillus*. Ныне считается членом нового класса протеобактерий — *Acidithiobacillia*. Типовой штамм ATCC 23270 был выделен из дренажа шахт в США в начале 1950-х годов и представлен как «*Ferrobacillus ferrooxidans*» в смешанной культуре, которая, вероятно, содержала другие виды железоокисляющих ацидитиобацилл и гетеротрофных ацидофилов. *At. ferrooxidans* поддерживает значительный трансмембранный градиент pH (внеклеточный pH обычно 1,5 – 3,0 и внутриклеточный pH в пределах 6,5 – 7,0). Большинство штаммов имеют оптимум pH для роста от 1,3 до 2,0. Использует исключительно неорганические доноры электронов: восстановленную (S_{red}) и элементарную серу (S^0), двухвалентное железо (Fe^{2+}) и водород (H_2). Оптимальная температура для роста большинства штаммов *At. ferrooxidans* — около 30 °C.

At. ferrooxidans — облигатный автотроф, фиксирует углекислый газ через цикл Кальвина-Бенсона-Бэша в карбоксисомах. Производит большое количество характерного белка — рустицианина, растворимого периплазматического белка

семейства купредоксинов при выращивании на железосодержащих средах. Геном типового штамма состоит из одной круговой хромосомы, размером в $2,98 \cdot 10^6$ пар азотистых оснований (Quatrini & Johnson, 2019).

Описание *At. caldus* и *At. thiooxidans* в большинстве статей идет в сравнении с *At. ferrooxidans*. Сравнительный геномный анализ типовых штаммов этих бактерий показал наличие кластеров в геноме *At. ferrooxidans*, которые не имеют аналогов в геномах двух других видов (Valdés et al., 2008). Большинство уникальных регионов генома *At. ferrooxidans* характеризуется аномальным содержанием GC-связей. Сравнительный анализ геномов *At. ferrooxidans*, *At. caldus* и *At. thiooxidans* выявил фундаментальные сходства и различия, отражающие их специфические метаболические особенности. Все три описанных вида имеют сходные гены, кодирующие путь фиксации CO_2 Кальвина-Бенсона. У всех трех видов отсутствуют гены α -кетоглутаратдегидрогеназы, что говорит о неполном цикле Креббса у всех троих представителей рода *Acidithiobacillus*, что характерно для большинства облигатных автотрофов. Схема основных метаболических путей представлена на Рисунке 6.

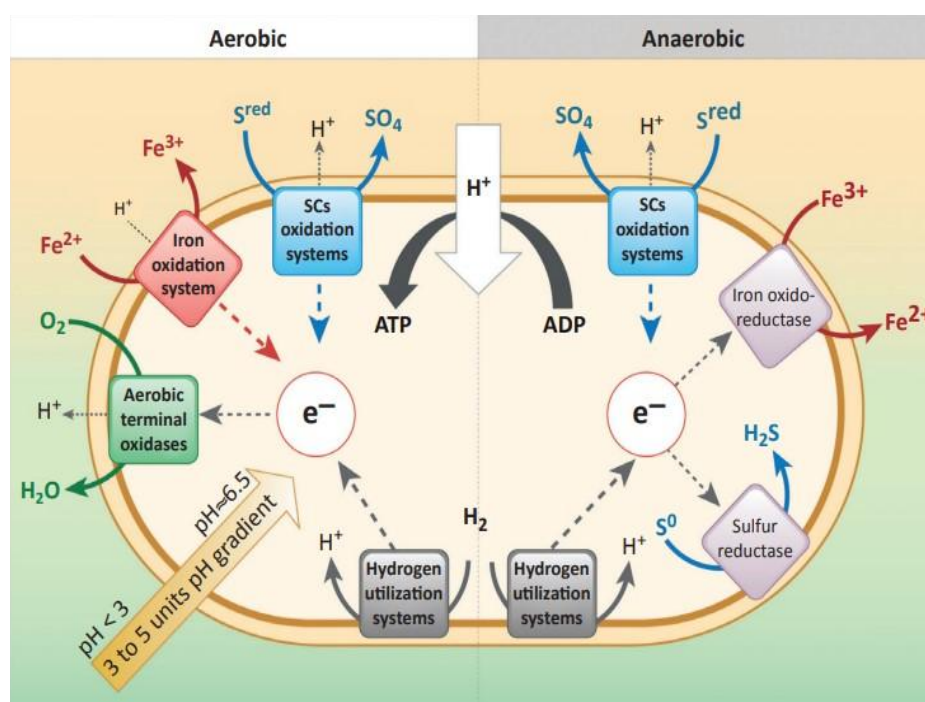


Рисунок 6 — Модели транспортных систем и дыхательных цепей у бактерии *At. ferrooxidans*. Цитировано по Quatrini & Johnson, 2019.

Однако, микроорганизмы различаются генами, участвующими в окислении серы. *At. thiooxidans* и *At. caldus* имеют набор основных генов *soxABXYZ*, которые сходны с

хорошо изученной системой SOX (оксидазы серы) (Friedrich et al., 2001). Напротив, у *At. ferrooxidans* отсутствуют гены, кодирующие систему SOX, но есть гены, сходные с генами, кодирующими SQR (сульфидхиноноксидоредуктазы), TQR (тиосульфатхиноноксидоредуктазы) и TetH (тетратионатгидролазы), что говорит о более сложных путях окисления соединений серы у *At. ferrooxidans*. У *At. caldus* и у *At. thiooxidans* отсутствуют гены, ответственные за белки путей окисления двухвалентного железа у *At. ferrooxidans*. У *At. ferrooxidans* гены, кодирующие системы окисления железа, организованы в две транскрипционные единицы, *petI* (*petC-1*, *petB-1*, *petA-1*, *sdrA-1* и *cysA-1*) и *rus* (*cyc2*, *cyc1*, *hup*, *coxB*, *coxA*, *coxC*, *coxD* и *rus*) (Holmes & Bonnefoy, 2007). *Acidithiobacillus ferrivorans* — еще один значимый представитель этого рода микроорганизмов. Описывается как ацидофил, облигатно окисляющий Fe^{2+} . Хотя он филогенетически близок к *At. ferrooxidans*, что подтверждено сравнением последовательностей генов 16S рРНК, однако, в отличие от *At. ferrooxidans* он подвижен за счет полярных жгутиков и психротолерантен. Кроме того, содержит не только типичный для железоокисляющих бактерий оперон *rusA*, кодирующий белок рустицианин, но и *rusB*, функция которого пока точно не известна, но, предположительно, кодирующий белок, сходный по функциям с рустицианином (Wu et al., 2014).

Основные сходства и различия *At. ferrooxidans*, *At. caldus* и *At. thiooxidans* представлены в Таблице 5.

Таблица 5 — Сравнение генов основных биохимических путей у *At. ferrooxidans*., *At. caldus* и *At. thiooxidans*. (SQR = сульфидхиноноксидоредуктаза; SOX = серооксидаза). Цитировано по Holmes & Bonnefoy, 2007.

Микроорганизм	<i>At. ferrooxidans</i>	<i>At. caldus</i>	<i>At. thiooxidans</i>
Окисление серы	SQR-система	SOX-система	SOX-система
Восстановление серы	Есть	отсутствует	отсутствует
Окисление Fe^{2+}	Есть	отсутствует	отсутствует
Кворум-сенсинг по системе AHL	Есть	отсутствует	отсутствует
Окисление водорода	Есть	отсутствует	Есть
Формирование жгутиков	отсутствует	Есть	Есть
Фиксация азота	Есть	отсутствует	отсутствует

1.3.1.2 Бактерии рода *Leptospirillum*

Бактерии рода *Leptospirillum* морфологически представлены грамотрицательными, вибриоидными или спиралевидными клетками ($0,9\text{--}2,0 \times 0,2\text{--}0,5$ мкм), склонными к полиморфизму. При низком pH образуют коккоидные и псевдококкоидные формы (туго свернутые вибрионы). Клетки подвижны за счет одного полярного жгутика, $18\text{--}22$ нм в диаметре у мезофильных штаммов, и около 25 нм у умеренно термофильного вида. Бактерии являются облигатными хемолитотрофами, использующими окисление железа (двухвалентное железо, содержащееся в сульфидных минералах, таких как пирит) в качестве единственного источника энергии и фиксирующими CO_2 в цикле Арнона. Род *Leptospirillum* образует отдельную линию внутри филума *Nitrospirota*. Широко распространены в природных и промышленных средах, где происходит окисление сульфидных руд. Основными представителями рода являются *L. ferrooxidans*, *L. ferriphilum* и *Leptospirillum thermoferrooxidans*.

Рост *Leptospirillum* spp. происходит только с двухвалентным железом в качестве донора электронов, представленным как в растворимой (сульфат железа II), так и в нерастворимой форме (пирит). Окисление пирита протекает по «непрямому» механизму, в котором трехвалентное железо химически окисляет минерал, тем самым восстанавливаясь до двухвалентного железа, которое, в свою очередь, снова окисляется бактериями. Сродство *L. ferrooxidans* к двухвалентному железу ($K_m \sim 0,25$ мМ) значительно выше, чем у *At. ferrooxidans* ($K_m \sim 1,35$ мМ), что в условиях сообщества может подавлять рост вторых.

Leptospirillum spp. являются облигатными аэробами и ацидофилами, оптимально растут при pH $1,3\text{--}2,0$, с нижним пределом роста при pH $\sim 1,0$. Из трех описанных видов два (*L. ferrooxidans* и *L. ferriphilum*) являются мезофильными хемолитотрофами с температурным оптимумом около 35°C . *L. thermoferrooxidans* является умеренным термофилом и растет при температурах $40\text{--}45^\circ\text{C}$.

Лептоспириллы очень чувствительны ко многим органическим соединениям (кислотам и сахарам) и к таким неорганическим анионам как хлориды и нитраты. Как правило, штаммы *L. ferrooxidans* более устойчивы к трехвалентному железу, чем *At. ferrooxidans*, хотя и менее устойчивы к катионам тяжелых металлов, например, таких как медь. Электрон-транспортная цепь, обеспечивающая перенос электронов от

двухвалентного железа к молекулярному кислороду, у *Leptospirillum* spp. основана на кислотоустойчивых цитохромах (Bonnefooy & and Holmes, 2012).

1.3.1.3 Бактерии рода *Sulfobacillus*

Бактерии рода *Sulfobacillus* являются грамположительными спорообразующими бактериями, принадлежащими к филуму *Firmicutes*, и встречаются во всем мире в кислых средах, таких как термальные источники, сольфатарные поля и кислые шахтные воды. Виды *Sulfobacillus* также часто встречаются в промышленных реакторах, используемых в процессах биовыщелачивания и биоокисления. В отличие от доминирующих железоокисляющих бактерий *Leptospirillum* spp. и *Acidithiobacillus* spp. или некоторых представителей гетеротрофных архей *Thermoplasmatales*, бактерии рода *Sulfobacillus* обычно достигают меньшей численности (Norris et al., 1996).

Ключевые особенности метаболизма *Sulfobacillus* были описаны для нескольких выделенных видов рода: *Sb. thermosulfidooxidans* (Golovacheva & Karavaiko., 1978), *Sulfobacillus sibiricus* (Melamud et al., 2003), *Sulfobacillus thermotolerans* (Bogdanova et al., 2006), *Sulfobacillus acidophilus* (Norris et al., 1996), *Sulfobacillus benefaciens* (Johnson et al., 2008) и *Sulfobacillus harzensis* (Zhang et al., 2021). Каждый из них является факультативным анаэробом, способным ассимилировать органические и неорганические формы углерода (миксотрофом) и получать энергию в процессе аэробного окисления железа и различных видов серы (например, тетратионата и элементарной серы). Окисление серы, тетратионата и сульфидных минералов является важной характеристикой видов *Sulfobacillus*. Аэробно представители *Sulfobacillus* могут окислять серу в реакции диспропорционирования с использованием серной редуктазы-оксигеназы (SOR). В ходе катализируемой SOR реакции полисульфидный субстрат диспропорционирует в присутствии кислорода до сульфита и сероводорода. Другой возможный путь окисления соединений серы может включать белки, подобные гетеродисульфидредуктазе (HDR-подобный комплекс), гены которых были обнаружены у большинства исследованных представителей *Sulfobacillus* spp. (Hedderich & Forzi, 2005). После того, как SOR катализирует реакцию диспропорционирования линейного полисульфида до H_2S и сульфита, сульфид может снова окисляться до серы мембраносвязанными сульфидхиноноксидоредуктазами (SQR) с сопутствующим восстановлением хинонов по аналогии с системами у *At. ferrooxidans* (Kanao et al., 2007).

Сульфобациллы способны окислять двухвалентное железо, однако, точные механизмы неясны. Большинство видов *Sulfobacillus* spp. имеют связанные с мембранами комплексы цитохромов с-типа (Justice et al., 2014), однако, только *Sb. thermosulfidooxidans* имеет гены, ответственные за экспрессию рустицианиновых белков. Также известно, что все виды сульфобацилл способны восстанавливать трехвалентное железо (Johnson et al., 2008) в анаэробных условиях, используя в качестве доноров органические соединения и серу.

Sulfobacillus могут расти миксотрофно и гетеротрофно на различных углеродных субстратах, включая глюкозу, фруктозу, глицерин и другие органические соединения (Johnson & Hallberg, 2008). Большинство представителей *Sulfobacillus* spp., кроме *Sb. thermosulfidooxidans*, имеют полный путь гликолиза Эмбдена-Мейерхофа-Парнаса. Окислительная часть пентозофосфатного пути (глюкозодегидрогеназа, 6-фосфоглюконолактоназа и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа) также обнаружена у большинства сульфобацилл. Анализ метаболической активности бесклеточных экстрактов *Sb. thermosulfidooxidans* и *Sb. sibiricus* показывает-присутствие, как минимум, части окислительного пути Энтнера-Дудорова (Karavaiko et al., 2001; Krasil'nikova et al., 2010).

1.3.1.4 Ацидофильные археи

Ацидофильные аэробные или факультативно анаэробные археи обычно встречаются в таких экосистемах, как месторождения сульфидных руд, геотермальных источниках и сольфатаровых полях, где сера и железо обычно находятся в восстановленных формах. Ацидофильные археи представлены двумя различными филогенетическими группами архей — порядками *Thermoplasmatales* и *Sulfolobales*. Эти ацидофильные микроорганизмы различаются по фенотипическим свойствам — прежде всего, по используемым источникам углерода. Первые ацидофильные термофильные археи были выделены в 1970-х и идентифицированы как *Thermoplasma acidophilum* и *Sulfolobus acidocaldarius* (Hawkes et al., 2007). Позже были выделены и другие термоацидофильные археи, которые были отнесены к порядкам *Sulfolobales* и *Thermoplasmatales*.

Представители порядка *Sulfolobales* растут в диапазоне pH 1,0 – 5,0 с оптимумом около pH 3,0. Этот порядок включает роды *Acidianus*, *Desulfurolobus*, *Metallosphaera*,

Stygiolobus, *Sulfolobus*, *Sulfurisphaera* и *Sulfurococcus*. Представители *Sulfolobus* являются строгими аэробами, которые могут расти как автотрофно, так и гетеротрофно (Quehenberger et al., 2017). Основные представители ацидофильных архей представлены в Таблице 6.

Таблица 6 — Морфология и характеристики основных представителей ацидофильных архей порядка *Thermoplasmatales*. Цитировано по Golyshina et al., 2015.

Признак	Род					
	<i>Acidiplasma</i>	<i>Feroplasm</i>	<i>Thermoplasma</i>	<i>Picrophilus</i>	<i>Thermogymnomonas</i>	<i>Cuniculiplasma</i>
Морфология	Плеоморфны	Плеоморфны	Плеоморфны	Неправильные кокки	Плеоморфны	Плеоморфны
Клеточная стенка	—	—	—	+	—	—
S-слой	—	—	—	+	—	—
Подвижность	—	—	+	—	—	—
Пили	+	—	Нет информации	—	+	+
Fe (II/III) метаболизм	+	+	—	—	—	—
T, °C диапазон	15–65	15–48	33–67	47–65	38–68	10–47
T, °C оптимум	(45/54)	(35–42)	(55–59)	(60)	(60)	(37–40)
pH диапазон	0,5–4	0–3	0,5–4	0–3,5	1,8–4	0,5–4,0
pH оптимум	(1–1,5)	(1,0–1,7)	(1–2)	(0,7)	(3,0)	(1–1,2)
Анаэробный рост	+	+	+	—	—	+
ДНК G + C мол. %	34–37	35–37	38–46	36	56	37

Некоторые представители *Sulfolobales*, например, *Acidianus brierleyi*, представители рода *Metallosphaera* и *Sulfolobus hakonensis* могут получать энергию путем окисления серы, сульфидных минералов и двухвалентного железа. Другие виды рода *Sulfolobus*, например, *S. acidocaldarius* и *S. solfataricus* используют серу и восстановленные соединения серы. *S. metallicus* использует сульфидные минералы, такие как пирит, сфалерит и халькопирит, и элементарную серу в качестве источников энергии. Хотя другие представители *Sulfolobales* способны расти хемолитоавтотрофно, *S. metallicus* и *Acidianus ambivalens* — единственные известные облигатно

хемолитоавтотрофные виды. Другие термоацидофилы были отнесены к родам *Metallosphaera* (диапазон роста: 50 – 80 °C, pH 1,0 – 4,5), *Acidianus* (диапазон роста: 60 – 95 °C, pH 1,5 – 5,0) и *Stygioglobus* (диапазон роста: 67 – 90°C, pH 1,0 – 5,5) (Kaushik et al., 2021).

Архея *T. acidophilum*, относящаяся к порядку *Thermoplasmatales*, растет в диапазоне pH 0,8 – 4,0 с оптимумом при pH 1,0 – 2,0 и в интервале температур 45 – 65 °C с оптимумом при 60 °C. *Thermoplasma volcanium* может расти в диапазоне температур 33 – 67 °C с оптимумом при 60 °C (Bertoldo et al., 2004). Гетеротрофный аэробный вид *T. acidophilum* был выделен из горячих источников в Хаконе, Япония. Оптимальными условиями для роста этого микроорганизма является температура 67 – 68 °C и pH 2,5 – 3,5.

Еще один род порядка *Thermoplasmatales*, *Picrophilus*, включает виды *Picrophilus oshimae* и *Picrophilus torridus* (Blank et al., 2020). Оба вида были выделены из горячих гидротермальных областей сольфатарных полей на Хоккайдо, Северная Япония. *P. oshimae* был выделен из сольфатарного горячего источника с температурой 53 °C и pH 2,2, а *P. torridus* был выделен из жаркой, сухой, чрезвычайно кислой почвы (pH <0,5). Эти два вида являются наиболее экстремально ацидофильными штаммами, они способны расти, когда pH близок к 0. Они растут гетеротрофно на дрожжевом экстракте в аэробных условиях при температуре от 45 до 65 °C (оптимально при 60°C) и значениях pH от 0 до 2,2 с оптимумом 0,7. Клетки представляют собой кокки неправильной формы диаметром около 1 – 1,5 мкм.

Представители порядка *Thermoplasmatales*, *Thermoplasma* и *Picrophilus*, являются гетеротрофными археями, которые, вероятно, потребляют продукты разложения хемолитоавтотрофных микроорганизмов, обитающих в экосистемах сольфатаровых источников и сульфидных месторождений (Golyshina et al., 2000).

В микробных сообществах, осуществляющих процессы биовыщелачивания, наиболее часто встречаются представители родов *Ferroplasma* и *Acidiplasma* семейства *Ferroplasmaceae* порядка *Thermoplasmatales*.

Acidiplasma включает два описанных вида — *Acidiplasma aeolicum* и *Acidiplasma cupricumulans*. Клетки рода *Acidiplasma* плеоморфны, от кокковидных до палочковидных форм диаметром от 0,2 до 0,5 мкм и длиной от 0,5 до 3 мкм. Клеточная стенка отсутствует. Представители рода являются умеренно термофильными ацидофилами. Способны

окислять и восстанавливать железо, факультативно анаэробны. Населяют сульфидосодержащие рудные месторождения и окрестности вулканов. В качестве источника углерода используют преимущественно органические соединения, хотя исследования генома *Acidiplasma* sp. YE-1 показали наличие неполного и, по всей видимости, нефункционального пути ассимиляции диоксида углерода (Bulaev et al., 2025). Похожие результаты были получены при анализе генома *Acidiplasma* sp. MBA-1 (Bulaev et al., 2017).

Клетки второго рода архей данного семейства, *Ferroplasma*, морфологически представляют собой неправильные шаровидные кокковые, нитевидные или плеоморфные формы длиной от 1 до 3 мкм и шириной от 0,3 до 1,0 мкм. Клетки неподвижны и не имеют клеточной стенки. Ранее были описаны как хемолитотрофы, ассимилирующие CO₂ (Golyshina et al., 2009). Однако, в более поздних исследованиях как для *Ferroplasma*, так и для *Acidiplasma* было показано повышение скорости роста и скорости окисления сульфидных минералов и двухвалентного железа в присутствии органических субстратов, таких как дрожжевой экстракт (ДЭ), сахаросодержащая сыворотка, барда, меласса и глюкоза с наибольшим положительным эффектом при добавлении ДЭ (Bulaev et al., 2018; Bulaev et al., 2021). Поэтому сейчас археи обоих родов рассматриваются как миксотрофы.

1.3.1.5 Микроорганизмы родов *Acidiphilium*, *Ferrimicrobium*, *Acidimicrobium*

Представители родов *Acidiphilium*, *Ferrimicrobium* и *Acidimicrobium* не играют ключевой роли в процессах биовыщелачивания, однако, часто встречаются в составе консорциумов ацидофильных микроорганизмов в минорных количествах. Представители этих родов являются ацидофильными гетеротрофами.

Бактерии рода *Acidiphilium* — это преимущественно палочковидные клетки, размерами 0,3 – 1,2 × 4,2 мкм, проявляющие плеоморфизм при различных значениях pH и в присутствии разных источников углерода. Подвижны, передвигаются с помощью полярных, субполярных и латеральных жгутиков. Не образуют спор или капсул. Грамотрицательные. Клеточные суспензии и колонии от белого до кремового, желтого, розового, красного или коричневого цветов. Строго аэробные, хемоорганотрофные и хемолитотрофные бактерии, содержащие фотосинтетические пигменты — т.е. являются

аэробными бактериохлорофиллсодержащими бактериями. Основными фотосинтетическими пигментами являются хелатированные цинком бактериохлорофиллы и каротиноид спириллоксантин. Используют простые органические соединения — сахара и органические кислоты в качестве единственного источника углерода, однако, замедляют рост в присутствии 0,6% дрожжевого экстракта и низких концентраций ацетата (0,25 мМ) и лактата (2 мМ). Некоторые виды представлены факультативными хемолитотрофами, использующими элементарную серу в качестве донора электронов. При этом не показаны пути ассимиляции Fe^{2+} для хемолитотрофного роста. Мезофильные и облигатно ацидофильные бактерии, растущие в диапазоне pH 2,0–5,9. Основными представителями рода являются *Acidiphilium cryptum*, *Acidiphilium acidophilum*, *Acidiphilium angustum*, *Acidiphilium rubrum*, *Acidiphilium multivorum*, *Acidiphilium organovorum* (Hiraishi & Imhoff, 2015)

Бактерии рода *Ferrimicrobium* на данный момент относительно мало изучены — валидно описан всего один вид *Ferrimicrobium acidiphilum* (Johnson et al., 2009). Подвижные палочки размерами 0,5 – 1 × 1,5 – 4 мкм, ацидофильные, мезофильные, и облигатно гетеротрофные. Способны к окислению двухвалентного железа и пирита и восстановлению трехвалентного железа. Растут с использованием дрожжевого экстракта (0,1%) и органических соединений, таких как глицерин, лимонная кислота и глутаминовая кислота в низких (не более 0,5%) концентрациях. Рекомендованная среда для типового представителя *F. acidiphilum* T23^T содержит 10 мМ сульфата железа и 0,02% (мас./об.) дрожжевого экстракта при pH 2,0 и 35 °C. Колонии типового штамма *F. acidiphilum* (штамм T23^T) отличаются характерным внешним видом на твердой среде — преимущественно, белые, с желтой серединой (Johnson et al., 2009). Клетки образуют цепочки из трех – пяти клеток на стадии экспоненциального роста. Оптимальный рост наблюдается при 35°C и угнетается при повышении температуры до 45 °C. Оптимальный рост также наблюдается при pH 2,0. Гетеротрофный рост происходит на дрожжевом экстракте и ограниченном наборе определенных органических субстратов, включая глицерин, лимонную кислоту и глутаминовую кислоту (Norris, 2015).

Бактерии рода *Acidimicrobium* представлены тоже только одним видом — *At. ferrooxidans* (Clark & Norris., 1996). Это термотолерантная или умеренно термофильная ацидофильная бактерия. Маленькие палочковидные клетки, которые могут образовывать цепочки разной длины. Оптимальны для роста температуры 45 – 50 °C и pH около 2,0.

Гетеротрофный рост происходит на дрожжевом экстракте, но возможен и автотрофный рост на двухвалентном железе при ассимиляции диоксида углерода (Norris et al., 2011). *Acidimicrobium* sp. способны анаэробно восстанавливать трехвалентное железо в присутствии дрожжевого экстракта и глицерина (Norris., 2015).

1.3.2 Физиолого-биохимические механизмы устойчивости к экстремальным условиям

Природные места обитания с высокой кислотностью являются экстремальной средой для выживания. Естественные геомикробиологические процессы и промышленные операции приводят к переходу нерастворимых сульфидов металлов в водорастворимые сульфаты, формируя среду с чрезвычайно высокой концентрацией растворенного железа, достигающей 160 г/л — на несколько порядков выше, чем обычно встречается в нейтральной среде. В насыщенных кислородом средах при нейтральном pH двухвалентное железо быстро окисляется до трехвалентного. В трехвалентной форме железо существует в нейтральной среде в виде малорастворимого осадка, что снижает его биодоступность. В кислых условиях двухвалентное железо стабильно даже в присутствии атмосферного кислорода, что дает возможность микроорганизмам использовать его в качестве донора электронов и как источник энергии, недоступный микроорганизмам, живущим в нейтральных средах. Тем не менее, чрезвычайно кислая среда также может подвергаться воздействию микроорганизмов по реакции Фентона, в результате которой посредством реакции Fe^{2+} с кислородом, получаются свободные радикалы, которые повреждают макромолекулы и вызывают смерть клетки, если таковая не имеет необходимых систем защиты (Touati, 2000).

Одним из важнейших аспектов физиологии микроорганизмов, используемых в биовыщелачивании, является фиксация диоксида углерода. Значительная часть ацидофилов, важных для биогидрометаллургии, являются автотрофами — они получают большую часть клеточного углерода посредством фиксации CO_2 . Для фиксации диоксида углерода требуются восстанавливающие эквиваленты, обычно в форме NAD(P)H. Поскольку субстраты для роста ацидофилов имеют недостаточно энергии для восстановления данных эквивалентов, они должны обратить поток электронов не в сторону кислорода (или другого терминального акцептора электронов), а на НАДФ-оксидоредуктазу, направляя электроны, таким образом, против термодинамически

неблагоприятного градиента с использованием протон-движущей силы для восстановления NAD(P)^+ (Elbehti et al., 2000).

При использовании Fe^{2+} в качестве донора электронов автотрофы сталкиваются с биоэнергетическими проблемами. Восстановительный потенциал пары $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ составляет +0,78 В при рН внешней среды около 2,0, что ниже потенциала в паре $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ (1,12 В) (Bird et al., 2011). Энергия для перехода электронов от окисляемой пары $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ к НАД⁺ против потенциала накапливается в результате работы трансмембранного градиента концентрации протонов. Этот процесс может протекать в обе стороны, когда электроны, полученные от окисленного двухвалентного железа, восстанавливают O_2 до воды (O^{2-}), нейтрализуя заряд протонов. Оба этих процесса тесно связаны на уровне потоков электронов и протонов, и находятся в динамическом равновесии, поддерживая как синтез АТФ с восстановлением эквивалентов (НАДН), так и рН внутри клетки, как было продемонстрировано, например, для *At. caldus* (Dopson et al., 2002).

1.3.2.1 Окисление двухвалентного железа

Наиболее изученными путями транспорта электронов, используемые при окислении Fe^{2+} , являются пути *At. ferrooxidans* (Рисунок 7). Первичным акцептором электронов от Fe^{2+} служит цитохром с наружной мембраны (Cys2). Затем электроны попадают на малый медьсодержащий белок рустицианин (RcY). Большая часть электронов далее идет по прямому пути через цитохром с₄-типа (Cys1) к терминальной цитохромоксидазе, которая стабилизирована и защищена от действия кислой среды медьсодержащим белком AcoP. Цитохромоксидаза переносит электроны на конечный акцептор — кислород, который восстанавливается в реакции, протекающей с использованием протонов. Этот путь приводит к созданию электрохимического мембранного градиента протонов, который используется АТФ-синтазой для синтеза АТФ. Однако, этот путь не позволяет регенерировать НАД⁺, потому что окислительно-восстановительный потенциал пары $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ больше, чем пары НАДН/НАД⁺, при низких значениях рН потенциалы равны 780 мВ и –320 мВ соответственно. Поэтому часть электронов идет по обратному пути для регенерации восстановительного эквивалента, используемого для фиксации CO_2 . Цитохром с₄-типа (Cys42) взаимодействует с рустицианином (точкой разветвления двух путей) и переносит электроны на bc1-комплекс. Затем через пул хинонов (Q) электроны попадают на НАДН-хинон

оксидоредуктазу (NDH-1), которая восстанавливает НАД⁺. Это энергозависимый путь, использующий электрохимический градиент протонов, создаваемый АТФ-азой за счет гидролиза АТФ.

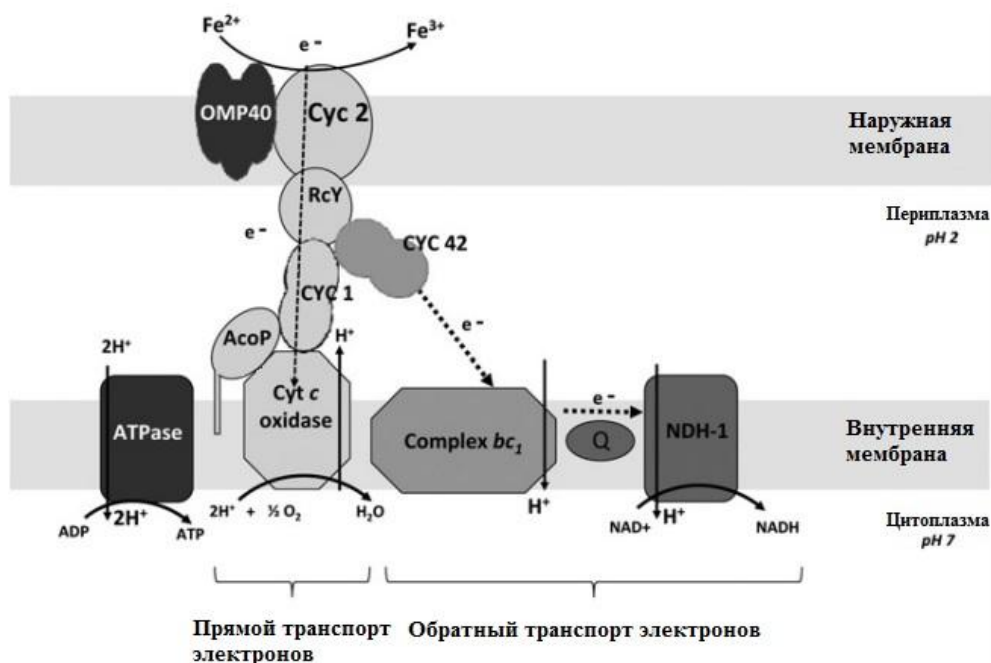


Рисунок 7 — Модель окисления двухвалентного железа у *At. ferrooxidans*. Цитировано с изменениями по Bonnefoy & Holmes, 2012.

Электрон-транспортная цепь других ацидофильных микроорганизмов исследована в меньшей степени, однако показано, что ЭТЦ разных представителей характеризуются рядом общих черт. Так, сравнение известных путей окисления Fe²⁺ у ацидофильных бактерий позволяет предположить, что у всех них окисление начинается на внешней мембране при участии цитохрома с. По-видимому, такой механизм позволяет избежать взаимодействия Fe²⁺ с O₂ (реакции Фентона), которое приводит к образованию свободных радикалов, опасных для жизнедеятельности клетки (Touati, 2000). К общим чертам ЭТЦ ацидофильных бактерий и архей относятся: окисление Fe²⁺ цитохромом с на внешней мембране, терминальная оксидаза внутренней мембраны и обратный перенос электронов с использованием протон-движущей силы для восстановления NAD⁺. Однако у архей рода *Ferroplasma* не обнаружены переносчики электронов для обратного пути. Возможно, этот путь им не требуется, поскольку эти микроорганизмы способны образовывать НАДН, используя электроны и энергию, полученные при окислении

углеводов. В то же время показано, что компоненты ЭТЦ, расположенные после цитохрома с, у многих ацидофилов различаются. Так, представители рода *Ferroplasma* используют в качестве переносчика электронов медьсодержащий белок сульфоцианин, гомологичный рустицианину, обнаруженному у *At. ferrooxidans*, *Sb. thermosulfidooxidans* и *Sb. thermotolerans*, а у *Sulfolobus* spp. и *M. sedula* эту роль выполняют железосерные белки (Dopson et al., 2002). Кроме того, терминальная оксидаза может относиться к типу aa3 (*At. ferrooxidans*) или cbb3 (*Leptospirillum* spp.). Предполагается, что способность окислять двухвалентное железо возникала независимо несколько раз в ходе эволюции (Bonnefooy & Holmes, 2012). В общем виде, сравнение основных ЭТЦ окисления железа представлено в Таблице 7.

Таблица 7 — Сравнение белков, принимающих участие в окислении Fe^{2+} у некоторых микроорганизмов. Цитировано по Bonnefooy & Holmes, 2012.

Бактерии	Внешняя мембрана	Периплазма	Поверхность внутренней мембраны	Внутренняя мембрана
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Cyc2	Rus A	Cyc1, CycA1	aa3 оксидаза, bc1 комплекс
<i>Acidithiobacillus ferrivorans</i>		Iro, Rus A, Rus B		aa3 оксидаза
« <i>Thiobacillus prosperus</i> »	Сyc2-типа	Rus-типа	Предполож., Cytс	cbb3 оксидаза
<i>Leptospirillum</i> spp.	Сyc572	Сyc579	Предполож., Cytс	bc1 комплекс
Археи	Поверхность мембраны		Внутренняя мембрана	
<i>Sulfobacillus</i> spp., <i>Ferroplasma</i> spp. <i>S. metallicus</i> и <i>S. tokodaii</i> , <i>M. sedula</i>	Sulfocyanin		cbb3 оксидаза, cyt b, (Fe-S) медная гемообразная оксидаза	

1.3.2.2 Восстановление трехвалентного железа

Железное дыхание было предложено как одна из самых первых форм микробного метаболизма, так как оно могло развиваться у микроорганизмов еще до кислородного, нитратного и сульфатного дыхания (Lovley, 2004). Общая схема восстановления трехвалентного железа представлена на Рисунке 8.

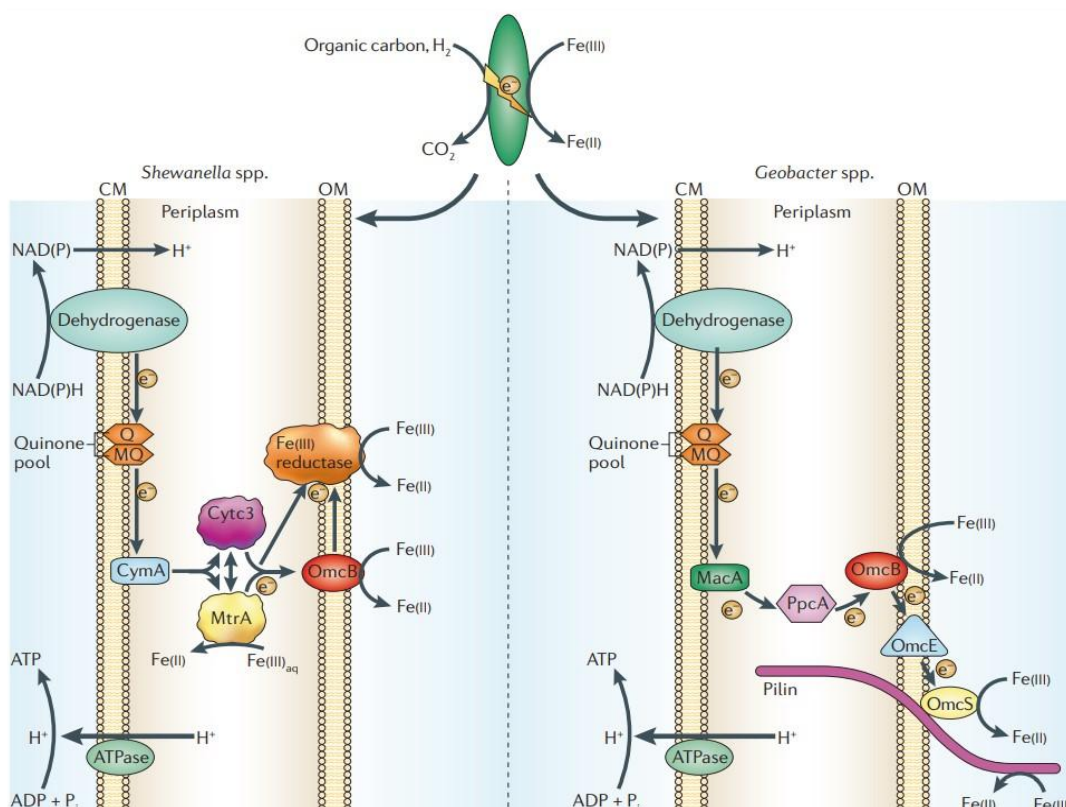


Рисунок 8 — ЭТЦ восстановления Fe^{3+} бактерий *Shewanella* и *Geobacter* spp. CM — мембрана цитоплазмы; CymA — связанный с цитоплазматической мембраной цитохром с-типа; Cytc3 — периплазматический цитохром с-типа; MacA — связанный с мембраной цитоплазмы хромосом; MQ — менахинон; MtrA — периплазматический цитохром; OM — внешняя мембрана; Omc — цитохромы B, E, и S частично локализованные на поверхности клетки; PpcA — трехгемный периплазматический цитохром с-типа; Q — хинон (Weber et al., 2006)

Трехвалентное железо встречается в высоких концентрациях во многих кислых средах и служит акцептором электронов для ацидофилов. Исследования показали, что некоторые ацидофильные бактерии способны восстанавливать трехвалентное железо в анаэробных условиях, параллельно окисляя соединения серы или водород. *At. ferrooxidans*, *Acidithiobacillus ferridurans*, *Sb. thermosulfidooxidans* и *Sb. benefaciens* росли анаэробно, используя водород в качестве донора электронов и трехвалентное железо в качестве акцептора электронов (Hedrich & Johnson, 2013). Гетеротрофные ацидофилы также могут катализировать восстановление трехвалентного железа даже в присутствии кислорода в небольших концентрациях, используя в качестве донора электронов органические соединения (Johnson & McGinness, 1991).

1.3.2.3 Окисление серы

Восстановленные неорганические соединения серы (Reduced Inorganic Sulfur Compounds или RISC) встречаются в природе в кислых средах (обычно вокруг областей высокой геотермальной активности), а также происходят за счет окислительного растворения минеральных сульфидов. RISC являются важными донорами электронов для ацидофилов, поскольку они передают больше электронов на моль субстрата по сравнению с двухвалентным железом. Стадии окисления соединений серы представлены на следующей схеме (Рисунок 9).

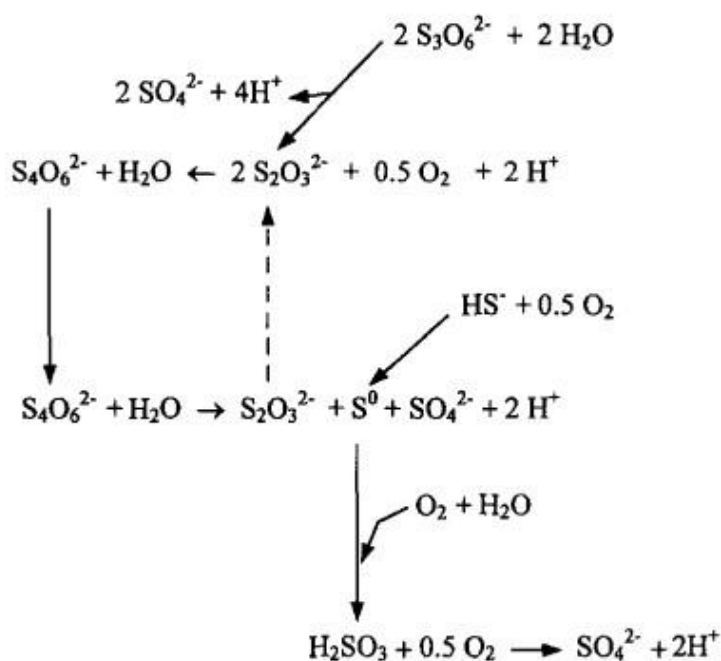


Рисунок 9 — Схема окислительных реакций окисления соединений серы. Цитировано по Hallberg & Johnson, 2001.

На данный момент известно несколько путей окисления элементарной серы и ее восстановленных неорганических соединений, при этом остается еще много неясных молекулярных аспектов этого процесса. Окисление соединений серы *At. ferrooxidans* представлена на Рисунке 10.

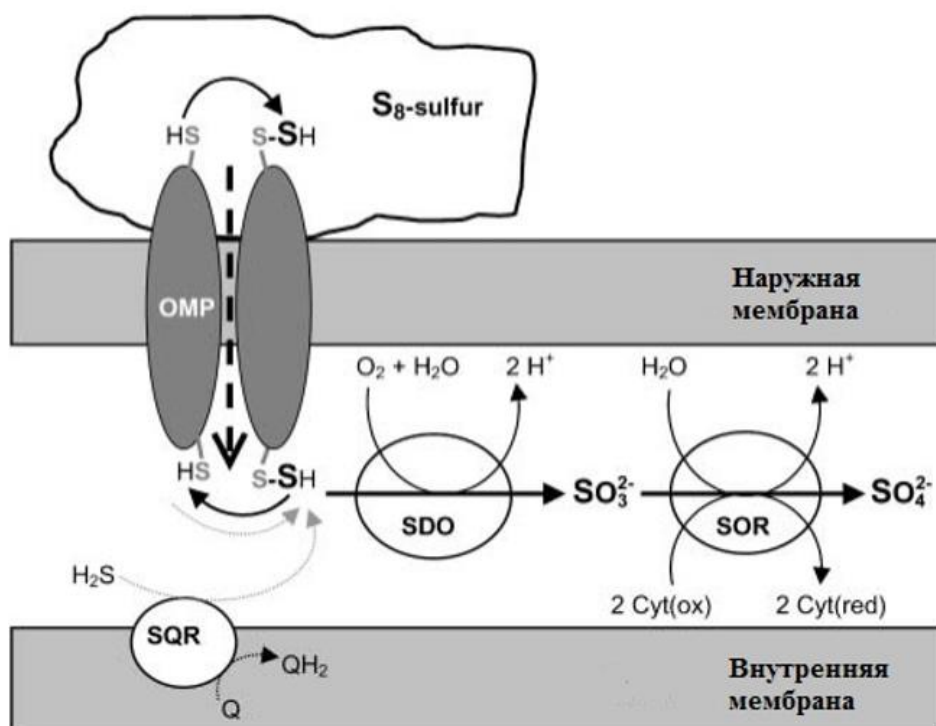


Рисунок 10 — Модель окисления соединений серы *At. ferrooxidans*. Цитировано по Rohwerder & Sand W, 2003.

Внеклеточная элементарная сера мобилизуется на поверхности наружной мембраны бактерий при участии специальных белков (OMP), которые переводят ее в форму персульфидов. Затем серная диоксигеназа (SDO) окисляет персульфидную серу в периплазме. Образовавшийся в результате сульфит превращается в сульфат с помощью сульфит-оксидоредуктазы (SOR), передающей электроны на цитохром c. В то же время свободный сульфид окисляется мембраносвязанной сульфидхинооксидоредуктазой (SQR), которая использует в качестве акцепторов электронов хиноны (Rohwerder & Sand, 2003). У *At. caldus* для окисления серы, сульфита, сероводорода и тиосульфата задействована Sox-система. В ее состав входят комплекс SoxXA, белок SoxYZ (ковалентно связывающий атом серы), дегидрогеназа SoxCD (осуществляющая окисление) и сульфатаза SoxB, которая гидролизует промежуточный интермедиат до сульфата. Образующиеся в Sox-системе электроны в конечном итоге переносятся на цитохром c (Mangold et al., 2011).

1.3.3 Сообщества ацидофильных микроорганизмов, механизмы их формирования и межвидовые взаимодействия в биогидрометаллургических процессах

В промышленных биогидрометаллургических процессах используются сообщества ацидофильных микроорганизмов. Это обусловлено отсутствием асептических условий и наличием автохтонной микробиоты, формирующейся на поверхности минералов в ходе естественных процессов. Лабораторные исследования, воссоздающие условия промышленных процессов, показывают, что использование сообществ микроорганизмов является более эффективной практикой, чем использование монокультур, что обусловлено возникновением мутуалистического взаимодействия между микроорганизмами (Brune & Bayer, 2012; Panyushkina et al., 2018; Ramírez-Aldaba et al., 2026; Zhang et al., 2015). Состав сообщества микроорганизмов определяется множеством факторов: температурой реакционной среды, скоростью аэрации и массопереносом газовой фазы, плотностью используемой пульпы и минеральным составом сырья, кислотностью среды.

Для формирования сообщества, способного эффективно окислять железо и серу сульфидных минералов, используют два основных подхода: «сверху вниз» («top-down»), при котором реактор инокулируют накопительной культурой микроорганизмов, и «снизу вверх» («bottom-up»), при котором в реактор вносят несколько монокультур микроорганизмов, имеющих потенциал для формирования эффективного сообщества (Rawlings & Johnson, 2007). Первый подход используется чаще, так как он позволяет создать достаточное микробное биоразнообразие в посевном материале, способное сформировать устойчивое сообщество для переработки различного сырья. Считается, что такое сообщество более устойчиво при эксплуатационных изменениях и способно быстрее восстанавливаться, например, при нарушении контроля pH и температуры в реакторах (Rawlings & Johnson, 2007). В рамках второго подхода сообщество создают искусственно, осознанно распределяя роли в сообществе. В процессах окисления сульфидных минералов в искусственных сообществах используют микроорганизмы, окисляющие двухвалентное железо (например, *L. ferriphilum*), окисляющие соединения серы (например, *At. caldus*), а также могут быть включены миксотрофные и гетеротрофные микроорганизмы, которые могут снижать концентрацию органического углерода в среде (например, *Sulfobacillus*, *Acidimicrobium* и *Ferroplasma*). В качестве

преимущества данного подхода отмечается, что искусственное сообщество может снизить операционные расходы процесса за счет уменьшения образования избыточной кислоты (Rawlings & Johnson, 2007). Также данный подход может быть более эффективным при специфичных условиях культивирования, таких как максимальная кислотность среды ($\text{pH} < 1,0$) и высокая температура ($> 60\text{ }^{\circ}\text{C}$). Независимо от способа адаптации к сырью, основным технологическим критерием оценки сообщества ацидофильных микроорганизмов является эффективное и стабильное окисление сульфидных минералов, двухвалентного железа или соединений серы — в зависимости от процесса.

1.3.3.1 Взаимодействие температуры и минерального состава сырья на состав сообществ ацидофильных микроорганизмов

Температура является ключевым параметром в биогидрометаллургических процессах. В зависимости от используемого сырья и климатических условий, могут поддерживаться температуры для роста мезофильных (от 30 до $40\text{ }^{\circ}\text{C}$), умеренно термофильных (от 45 до $55\text{ }^{\circ}\text{C}$) и термофильных (более $60\text{ }^{\circ}\text{C}$) микроорганизмов. Выбор температуры биогидрометаллургического процесса определяется не только исходя из оптимальных для роста микроорганизмов условий, но и в зависимости от минерального состава сырья. Использование повышенных температур при биоокислении некоторых упорных сульфидных минералов, например, халькопирита, обуславливается химической пассивацией поверхности минерала за счет образования слоя элементарной серы и различных соединений железа, в основном, ярозита (Peng et al., 2019; Zhu et al., 2011). Повышение температуры позволяет снизить данный эффект за счет химического взаимодействия с серной кислотой и увеличить долю биоокисленного халькопирита в 1,5 – 5 раз (Hedrich et al., 2018; Rodriguez et al., 2003a). При этом поддержание более низкой температуры $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, пригодной для роста мезофильных микроорганизмов, позволяло достигнуть большей численности клеток микроорганизмов в жидкой фазе пульпы, а также большей концентрации трехвалентного железа в начальной фазе экспериментов по совместному выщелачиванию концентратов, содержащих другие, кроме халькопирита, сульфидные минералы (пирит, марказит). Однако, снижение температуры неуклонно приводило к снижению эффективности извлечения меди (Hedrich et al., 2018; Petersen & Dixon, 2006). Поэтому на текущий момент преимущественно исследуют термофильные

сообщества микроорганизмов для биовыщелачивания халькопирита (Toledo et al., 2023; Liu et al., 2019; Zhou et al., 2009), в составе которых, в зависимости от температуры, преобладают умеренные термофилы (*L. ferriphilum* и *At. caldus* (Zhou et al., 2009), *Sb. thermosulfidooxidans* и *Ferroplasma* spp. (Qin et al., 2013) и экстремальные термофилы (*Sulfolobus* spp., *Metallosphaera* spp., *Acidianus* spp.) (Manesh et al., 2024; Zhu et al., 2011). В Таблице 8 приведены обобщенные данные об используемых при одностадийном биоокислении температур распространенных сульфидных минералов.

Таблица 8 — Используемые температуры для биоокисления сульфидных минералов

Минерал	Формула	Упорность	T, °C	Основные микроорганизмы	Источник
Пирит	FeS ₂	Высокая	30 – 50	<i>L. ferriphilum</i> , <i>L. ferrooxidans</i> <i>Sulfobacillus</i> spp.	Blight et al., 2000; Rodriguez et al., 2003; Yadollahi et al., 2021
Пирротин	Fe _{1-x} S _x	Низкая	30 – 45	<i>Acidithiobacillus ferrivorans</i> , <i>At. ferrooxidans</i> , <i>At. caldus</i> , <i>L. ferrooxidans</i>	Bulaev, 2020; Kim et al., 2021; Yadollahi et al., 2021
Сфалерит	ZnS	Низкая	35 – 45	<i>At. thiooxidans</i> , <i>At. caldus</i> , <i>L. ferrooxidans</i> , <i>L. ferriphilum</i>	Abdollahi et al., 2022; Rodríguez et al., 2003b; Yadollahi et al., 2021
Пентландит	Fe ₄ Ni ₄ S ₈	Средняя	30 – 50	<i>Sulfobacillus</i> spp., <i>L. ferriphilum</i>	Arpalahti & Lundström, 2018; Chao et al., 2012; Sun et al., 2020
Арсенопирит	FeAsS	Средняя	40 – 45	<i>L. ferriphilum</i> , <i>At. caldus</i> , <i>At. ferrooxidans</i>	Fomchenko & Muravyov, 2014; Sovmen et al., 2009; van Hille et al., 2013
Халькопирит	CuFeS ₂	Высокая	45 – 68	<i>Sulfolobus</i> spp., <i>Metallosphaera</i> spp., <i>Acidianus</i> spp., <i>Sb. thermosulfidooxidans</i>	Hedrich et al., 2018; Petersen & Dixon, 2006; Rodriguez et al., 2003a; Zhu et al., 2011

Перспективным направлением биогидрометаллургической переработки халькопирита является введение в среду хлорид-анионов, повышающих эффективность

выщелачивания (Noguchi & Okibe, 2020; Vakyabad et al., 2022). Однако рост большинства участвующих в процессе микроорганизмов угнетается при концентрации хлорида натрия выше 0,35% (Vardanyan et al., 2025). Для решения этой проблемы исследуются галотолерантные культуры. В частности, экспериментально доказана возможность формирования устойчивого умеренно термофильного сообщества при 45 °C на основе штамма *Sulfobacillus acidophilus* ТРҮ. В диапазоне концентраций NaCl от 0,1 до 0,5% данная система обеспечила извлечение более 80% меди за 36 суток выщелачивания (Wang et al., 2012).

В промышленных процессах биоокисления или биовыщелачивания наблюдается саморазогрев реакционной среды за счет экзотермических реакций окисления сульфидных минералов. Поэтому в ходе процессов избыток энергии отводится системой термостатирования. Например, такие процессы, как биоокисление упорных золотосодержащих арсенопиритных концентратов в рамках технологий BIOX® и БИОНОРД® проводят при температурах 38 – 45 °C, что обусловлено оптимальной эффективностью процесса при сниженных эксплуатационных расходах на охлаждение (Sovmen et al., 2009; van Hille et al., 2013). Таким образом, в реальных промышленных процессах выбор температуры определяется экономической целесообразностью. Состав сообщества ацидофильных микроорганизмов в промышленных процессах меняется, в основном, в соответствии с известными свойствами микроорганизмов. Экспериментально показано, что при оптимальной температуре для процесса биоокисления арсенопиритного концентрата, составляющей 40 – 45 °C, в составе популяции ацидофилов доминирующими являются *At. caldus* и *L. ferriphilum* (Rawlings, 2008; Borja et al., 2019). Среди причин доминирования именно этих микроорганизмов отмечают присутствие *ars*-генов, позволяющих выдерживать высокое содержание (до 20 г/л) мышьяка в среде (Rawlings, 2008). В составе сообщества при окислении сырья, содержащего арсенопирит, часто обнаруживаются миксотрофные микроорганизмы родов *Sulfobacillus* и *Ferroplasma* (Hu et al., 2017), которые принимают непосредственное участие в окислении сульфидных минералов как окислители серы (*Sulfobacillus*) и железа (*Sulfobacillus* и *Ferroplasma*), а также ассимилируют органические соединения. Положительный эффект на биоокисление сульфидных минералов в присутствии архей рода *Ferroplasma* описан как для *At. caldus*, так и для *L. ferriphilum* (Wang et al., 2025; Zhang et al., 2015). Для умеренно термофильных бактерий *Sb. thermosulfidooxidans* также

описан пример синергетического взаимодействия с хемолитотрофной железooksисляющей бактерией *Alicyclobacillus ferrooxydans* (Liu et al., 2026), в котором *Sb. thermosulfidooxidans* выступала в качестве естественного регулятора концентрации органического углерода в среде, без которого скорость окисления пирита монокультурой *A. ferrooxydans* снижалась в несколько раз.

Одним из свойств микроорганизмов, важных для эффективности биогидрометаллургических процессов, является способность к образованию биопленок на поверхности сульфидных минералов (Bellenberg et al., 2014; Bobadilla-Fazzini & Poblete-Castro, 2021; Vera et al., 2022). Для исследования способности образовывать биопленки во многих исследованиях используют пирит как референтный широко распространенный сульфидный минерал. Показана способность к первичной колонизации поверхности пирита для бактерий рода *Sulfobacillus* (Li et al., 2016), для *At. thiooxidans* и *Acidiferrobacter* spp. (Bellenberg et al., 2014; Yang et al., 2015), для архей рода *Acidianus* (Zhang et al., 2019) и *Ferroplasma* (Zhang et al., 2014). Образование биопленок связано с наличием у микроорганизмов механизмов кворум-сенсинга (QS). У ацидофильных микроорганизмов обнаруживаются два основных типа кворум-сенсинга. Некоторые виды *Acidithiobacillus* и *Acidiferrobacter* имеют системы QS, функционирующие при помощи ацил-гомосеринлактонов (AHL). Кроме того, штаммы *L. ferriphilum* DSM 14647T и *L. ferrooxidans* C2-3 продуцируют и используют QS-систему диффузионных сигнальных факторов (DSF). Экспериментально было показано, что добавление соединений DSF к умеренно термофильному сообществу, состоявшему из *L. ferriphilum* DSM 14647T, *At. caldus* DSM 8584T, и *Sb. thermosulfidooxidans* DSM 9293^T уменьшает растворение пирита и халькопирита за счет ингибирующего действия на окисление железа, снижая скорость колонизации поверхности минералов. Добавление DSF-фактора ((Z)-11-метил-2-додеценовой кислоты) изменило распределение планктонных/прикрепленных популяций ацидофильных видов и индуцировало подвижность *At. caldus* и открепление от поверхности пирита с сопутствующим распространением *L. ferriphilum* на поверхности минерала. Ацил-гомосеринлактон, в свою очередь, подавлял подвижность *L. ferriphilum* (Salas et al., 2025). Показано также наличие у *At. ferrooxidans*, *At. thiooxidans*, и *At. caldus* функциональных систем синтеза c-di-GMP (Castro et al., 2009; Diaz & Guilian, 2017). Таким образом, несмотря на имеющуюся характеристику QS-систем и отдельных механизмов адгезии у модельных

ацидофилов, целостная картина того, как эти сигнальные сети регулируют формирование биопленок в реальных процессах биовыщелачивания, пока отсутствует.

1.3.3.2 Влияние источников углерода

В естественной среде обитания ацидофильных микроорганизмов концентрации доступного органического углерода обычно невысоки и редко превышают 20 мг/л (Johnson, 1998). С другой стороны, в биогидрометаллургических процессах с высокой численностью клеток микроорганизмов в замкнутой системе неизбежно происходит накопление вторичных метаболитов, а также продуктов лизиса клеток, которые ассимилируются миксотрофными и гетеротрофными ацидофилами, но могут ингибировать рост автотрофов (Vardanyan & Vyrides, 2019). Для хемолитотрофных мезофильных бактерий рода *Acidithiobacillus* показаны следующие значения EC_{50} (полумаксимальной эффективной концентрации) для сахаров: 126 mM, 281 mM, 382 mM, 438 mM, и 491 mM для фруктозы, галактозы, глюкозы, целлобиозы и сахарозы, соответственно (Gu & Wong, 2004). Для органических кислот EC_{50} значительно ниже, т.е. они проявляют большую токсичность для *Acidithiobacillus*. Для муравьиной, уксусной, пропионовой, щавелевой, яблочной и лимонной кислот максимальные переносимые концентрации составили 0,1, 0,4, 2,0, 20 и 40 mM, соответственно (Ren et al., 2009). Негативный эффект на рост хемолитотрофных бактерий *At. caldus*, *At. ferrooxidans* и *L. ferriphilum* наблюдался при добавлении лизата клеток сероокисляющих бактерий и *Acidiphilium* sp. J1 (ХПК лизата составил 4,15 г O_2 /л) при добавлении от 1% масс. лизата в среду (Vardanyan et al., 2017). Основной теоретический механизм негативного воздействия на клетки АХМ заключается в нарушении гомеостаза концентрации протонов внутри клеток вследствие свободной диффузии недиссоциированных кислот через мембрану с последующей диссоциацией в цитозоле (Alexander et al., 1987).

В условиях технологических процессов в ацидофильных сообществах часто присутствуют гетеротрофные и миксотрофные микроорганизмы. Их роль в сообществе заключается как в снижении концентрации ингибирующих рост хемолитотрофов органических веществ, так и в косвенной стимуляции роста автотрофов за счет образования диоксида углерода. Этот механизм продемонстрирован экспериментально с помощью анализа уровня экспрессии генов фиксации CO_2 у *At. ferrooxidans* при совместном культивировании с гетеротрофной бактерией *A. acidophilum* (Liu et al., 2011).

Также в данной работе было показано, что состоящая из двух видов культура окисляла двухвалентное железо в среде быстрее, чем при использовании монокультуры *At. ferrooxidans*, что наблюдалось также и в других экспериментах в похожих системах для совместных культур *L. ferriphilum* и *At. caldus* (Smith & Johnson, 2018), *At. ferrooxidans* и изолятов *Acidocella* spp. (Vardanyan et al., 2017),

При высокой кислотности среды, характерной для биогидрометаллургических процессов, АХМ могут сталкиваться с ограничением роста численности клеток, вызванной недостатком доступного для ассимиляции углекислого газа. В условиях сообщества этот недостаток может быть преодолен за счет добавления дополнительных источников углерода. Неорганическим источником углерода выступает CO_2 , который может подаваться в составе газо-воздушной смеси, барботируемой в биореактор (Guezennec et al., 2018), а также в составе некоторых карбонатных минералов, таких как сидерит (FeCO_3) (Kupka et al., 2025; Silva et al., 2024) или известняк (Arrascue & van Niekerk, 2006).

Использование органических источников углерода в процессах биовыщелачивания и эффект органического углерода на ацидофильную микробную популяцию являются активным предметом изучения. Активно изучаемыми органическими источниками углерода, применяемыми в процессах биоокисления, выступают дрожжевой экстракт и меласса в сравнении с барботажем CO_2 (Bulaev et al., 2021; Bulaev & Boduen, 2022; Elkina et al., 2022; Bulaev et al., 2023; Muravyov & Bulaev, 2013). Во всех работах показано, что подача дополнительных источников углерода приводит, в той или иной степени, к повышению эффективности биоокисления, однако, эффект более выражен при биоокислении золотосодержащих арсенопиритных концентратов при повышении температуры. Качественный состав сообществ при этом зависел в меньшей степени от источника углерода, чем от температуры. В работе с биоокислением золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата при добавлении ДЭ (Muravyov & Bulaev, 2013) *Sb. thermosulfidooxidans* и *At. caldus* были преобладающими микроорганизмами в популяциях микроорганизмов в биореакторах как в автотрофных, так и в миксотрофных условиях. В автотрофных условиях археи *Acidiplasma* sp. MBA-1 составляли минорную долю в микробном сообществе, но в миксотрофных условиях *Acidiplasma* sp. MBA-1 были в числе доминирующих микроорганизмов. В работе показано, что добавление органического субстрата привело к количественному изменению состава сообщества и

повысило активность микробной популяции. В эксперименте с биоокислением золотосодержащего концентрата месторождения Бестобе (Bulaev & Boduen, 2022) в популяциях микроорганизмов, сформировавшихся при 45 °С, преобладали микроорганизмы родов *Acidiplasma*, *Acidithiobacillus*, *Sulfobacillus* и *Ferroplasma*, как в контрольном реакторе, так и в реакторах с добавлением мелассы и CO₂. В работе по окислению другого пирит-арсенопиритного концентрата (Bulaev et al., 2021) исследовали состав сообществ в биореакторах при 40 и 50 °С при добавлении мелассы и диоксида углерода. При 40 °С наблюдалась более высокая численность микроорганизмов как в реакторе с добавлением мелассы (в 2,5 раза выше, чем в контроле), так и с CO₂ (в 1,5 раза), что коррелировало с изменением параметров жидкой фазы, подтверждая более высокую динамику биоокисления сульфидных минералов, в сравнении с контрольным реактором. В составе популяций во всех реакторах на протяжении всего эксперимента доминирующими были микроорганизмы родов *Ferroplasma*, *Sulfobacillus*, *Acidithiobacillus* и *Leptospirillum* с количественными отличиями. Так, в реакторе с подачей CO₂ доля *Leptospirillum* spp. в популяции на протяжении всего эксперимента оставалась в 2 – 10 раз меньше, чем в контрольном реакторе и с подачей мелассы. При повышении температуры до 50 °С состав популяций в реакторах значительно изменился: доминирующую роль заняли археи рода *Acidiplasma*, в то время как доля *Ferroplasma*, *Sulfobacillus*, *Acidithiobacillus* снизилась, а бактерии рода *Leptospirillum* элиминировались. В реакторе с подачей углекислого газа численность клеток и динамика параметров жидкой фазы были стабильно выше на протяжении всего эксперимента, в сравнении с контрольным реактором и с мелассой. В составе популяций прослеживались количественные различия: относительная доля архей и миксотрофных бактерий рода *Sulfobacillus* составляла от 60 до 90% в реакторе с мелассой и в реакторе с подачей CO₂, в то время как в контрольном реакторе доля этих микроорганизмов составляла 40 – 60%.

Таким образом, в нескольких экспериментах было показано, что добавление мелассы и диоксида углерода может значительно повысить эффективность процессов биоокисления пирит-арсенопиритного концентрата, однако, необходимо провести исследования и с другими типами сырья для определения комплексного эффекта влияния дополнительных источников углерода на биогидрометаллургические процессы.

1.4 Заключение

Биогидрометаллургические технологии, успешно применяемые более полувека, прочно заняли свою нишу в добыче металлов, однако их промышленная рентабельность ограничивается рядом проблем, включая относительно низкую скорость биоокисления сульфидных концентратов по сравнению с пирометаллургическими и гидрометаллургическими альтернативными технологиями. В ходе анализа литературы был выявлен ряд проблем, с которыми сталкиваются биогидрометаллургические технологические подходы при переработке сульфидных минералов: пассивация поверхности минералов (например, халькопирита) и, как следствие, низкая эффективность выщелачивания традиционными методами биовыщелачивания, что подразумевает изыскание новых технологических решений переработки подобного сырья; потребность в стабилизации биогидрометаллургических процессов при повышенных температурах (более 45 °С); изучение взаимосвязей в сообществах ацидофильных микроорганизмов для создания устойчивых сообществ для промышленных процессов; отсутствие универсального решения проблемы лимитирования процесса биоокисления низкой доступностью углерода в реакционной среде. Отдельной проблемой предстает изучение процессов переработки вторичного металлосодержащего сырья, в частности, электронного лома, который представляется наиболее экономически выгодным для переработки сырьем. Несмотря на очевидную перспективность, ключевой технологической проблемой, сдерживающей развитие этого направления, остается недостаточная проработка вопросов интеграции процессов биовыщелачивания в действующие промышленные циклы. Таким образом, разработка научных основ и технологических решений для такой интеграции представляет собой актуальную задачу для дальнейших исследований.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования в настоящей работе были минеральные концентраты и образцы антропогенного сырья:

1. *Упорный золотосодержащий пирит-арсенопиритный концентрат* подвергали биоокислению в непрерывном режиме. В ходе эксперимента оценивали влияние подачи диоксида углерода на динамику биоокисления при отклонении процесса от «нормальных» условий. За референтные условия принимали температуру 40 °С, плотность пульпы (соотношение твердой и жидкой фазы, Т : Ж) 1 : 10 и время пребывания 5 суток. Исследовали изменения при возникновении следующих стрессовых факторов: повышение температуры до 50 °С, плотности пульпы до (Т : Ж) 1 : 5 и снижение времени пребывания до 3 суток.

2. *Сульфидный медно-цинковый концентрат* подвергали биовыщелачиванию в непрерывном режиме при температурах 45 и 55 °С в присутствии дополнительных источников углерода: диоксида углерода и мелассы. Кроме того, проводили эксперименты по биовыщелачиванию с использованием каскада реакторов при температурах 45 и 55 °С внесением 100 мМ NaCl, в ходе которых определяли эффект CO₂ на эффективность процесса выщелачивания.

3. *Лежалые хвосты флотации*, состоящие, преимущественно, из пирита (49%) и кварца (29%) подвергали биовыщелачиванию как обособленно, так и в присутствии образца пылевой фракции измельченных печатных плат в рамках одностадийного и двухстадийного процесса биовыщелачивания.

4. *Образец пылевой фракции измельченных печатных компьютерных плат*, удаляемых в ходе измельчения компьютерных плат системой очистки воздуха, использовали для выщелачивания в разных условиях: в колбах Эрленмейера, в лабораторных установках химического выщелачивания раствором сульфата железа III и серной кислоты, а также в лабораторных реакторах в ходе одностадийного и двухстадийного биовыщелачивания.

2.2 Материалы исследования

2.2.1 Элементный и минеральный состав использованных образцов сырья

В ходе выполнения работы были охарактеризованы элементный и минеральный состав использованных образцов сырья.

2.2.1.1 Упорный пирит-арсенопиритный концентрат

В ходе экспериментов использовали упорный пирит-арсенопиритный концентрат Боголюбовского золотоносного месторождения (Красноярский край, Россия). Образец содержал 48% пирита, 13% арсенопирита, а также кварц и мусковит (Рисунок 11). В составе концентрата содержалось 26,9% сульфидного железа, 6,0% сульфидного мышьяка и 25,0% сульфидной серы.

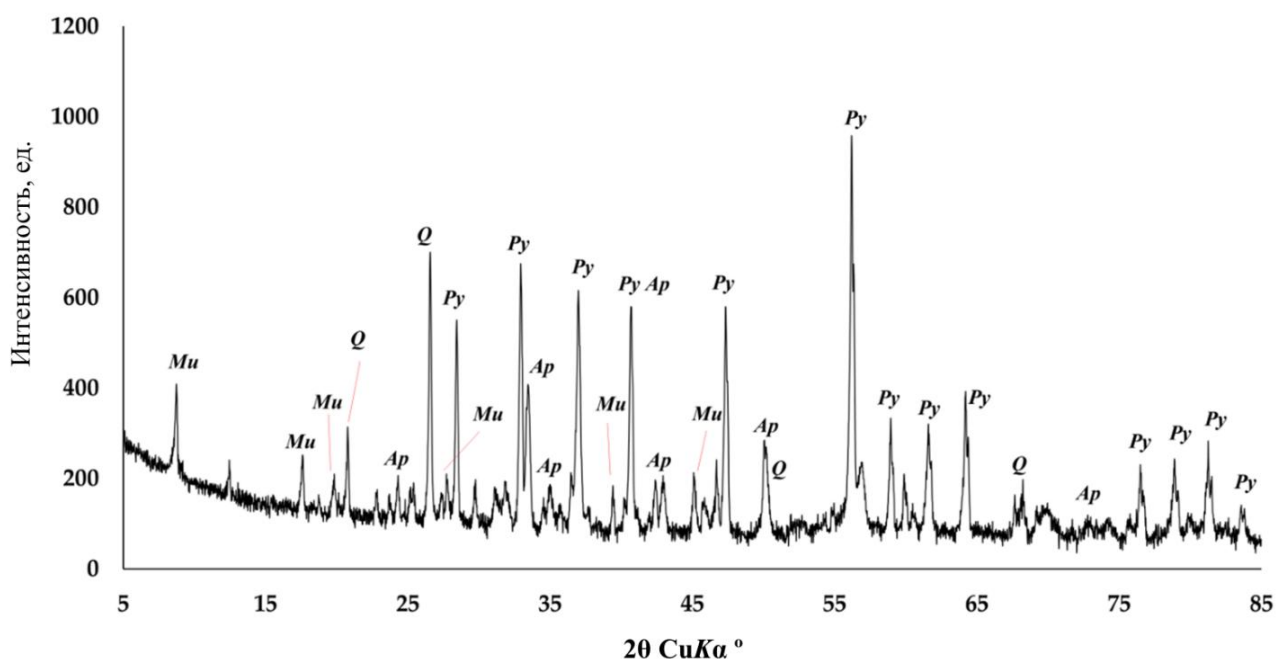


Рисунок 11 — Рентгенодифракционный анализ концентрата (Rigaku Rotaflex RU-200 D/MAX-RC (Rigaku, Япония), Cu-K α): Ap — арсенопирит, Gr — гипс, Q — кварц, Mu — мусковит, Py — пирит. Цитировано по Bulaev et al., 2024b.

2.2.1.2 Сульфидный полиметаллический концентрат

В экспериментах использовали сульфидный концентрат, состоявший из халькопирита (CuFeS_2), теннантита ($\text{Cu}_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}$), сфалерита (ZnS), пирита (FeS_2), а также кварца (SiO_2) (Рисунок 12) (Учалинский ГОК, Башкортостан, Россия). В составе концентрата содержалось 16% меди, 5,3% цинка, 1,7% мышьяка, 28% железа, 33,2% сульфидной серы.

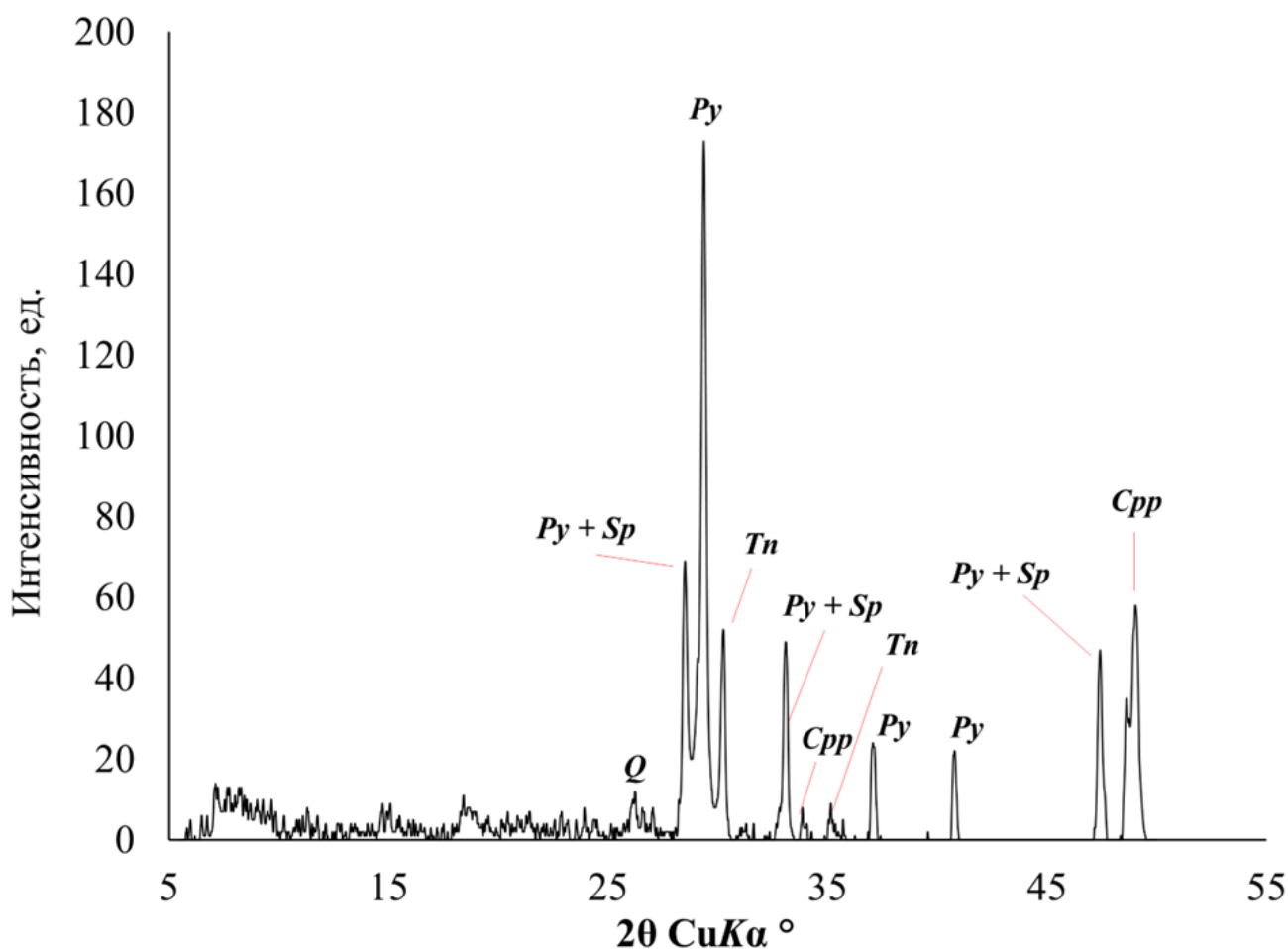


Рисунок 12 — Рентгенодифракционный анализ концентрата (Rigaku Rotaflex RU-200 D/MAX-RC (Rigaku, Япония), $\text{Cu-K}\alpha$): Py — пирит, Tn — тенантит, Cpp — халькопирит, Sp — сфалерит, Q — кварц. Цитировано по Bulaev et al., 2024a.

2.2.1.3 Лежалые хвосты флотации

В ходе экспериментов был использован образец лежалых пиритных хвостов флотации, полученных при обогащении медно-цинковой руды на горно-обогатительном комбинате (Учалинский ГОК, Башкортостан, Россия). Данный образец ранее использовался в ходе исследования комбинированного процесса химического

выщелачивания (Valiyev et al., 2024). Результаты анализа химического состава основных элементов приведены показали относительно высокое содержание железа и серы в образце (Таблица 9).

Таблица 9 — Состав образца лежалых хвостов флотации (Цитировано с изменениями по Valiyev et al., 2024).

Вещество	Содержание в образце
Fe общее, %	29,5
S общая, %	29,2
S сульфидная, %	25,4
Cu, %	0,12
Zn, %	0,26

Рентгенодифракционный анализ минерального состава показал, что образец хвостов флотации состоит из пирита (49%) и кварца (29%), а также содержит такие минералы, как полевой шпат (8%), гипс (8%) и хлорит (6%) (Таблица 10):

Таблица 10 — Минералогический состав образца лежалых хвостов флотации (Цитировано с изменениями по Valiyev et al., 2024).

Минерал	Формула	Содержание (масс. %)
Пирит	FeS_2	49
Халькопирит	CuFeS_2	<0,5
Сфалерит	ZnS	<0,5
Гипс	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8
Ярозит	$\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$	1
Хлорит	$(\text{Mg,Fe})_3(\text{Si,Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot (\text{Mg,Fe})_3(\text{OH})_6$	6
Полевой шпат	$\text{KAlSi}_3\text{O}_8\text{--NaAlSi}_3\text{O}_8\text{--CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	8

2.2.1.4 Образец измельченных печатных плат

Измельчение печатных плат механическими методами включает обработку молотковыми и вальными шредерами, мельницами и истирателями, и последующую гомогенизацию полученного порошка с использованием вибросита. Процесс измельчения печатных плат сопряжен с постоянным образованием пыли, которая удаляется системой очистки воздуха.

Схема переработки плат представлена на Рисунке 13.

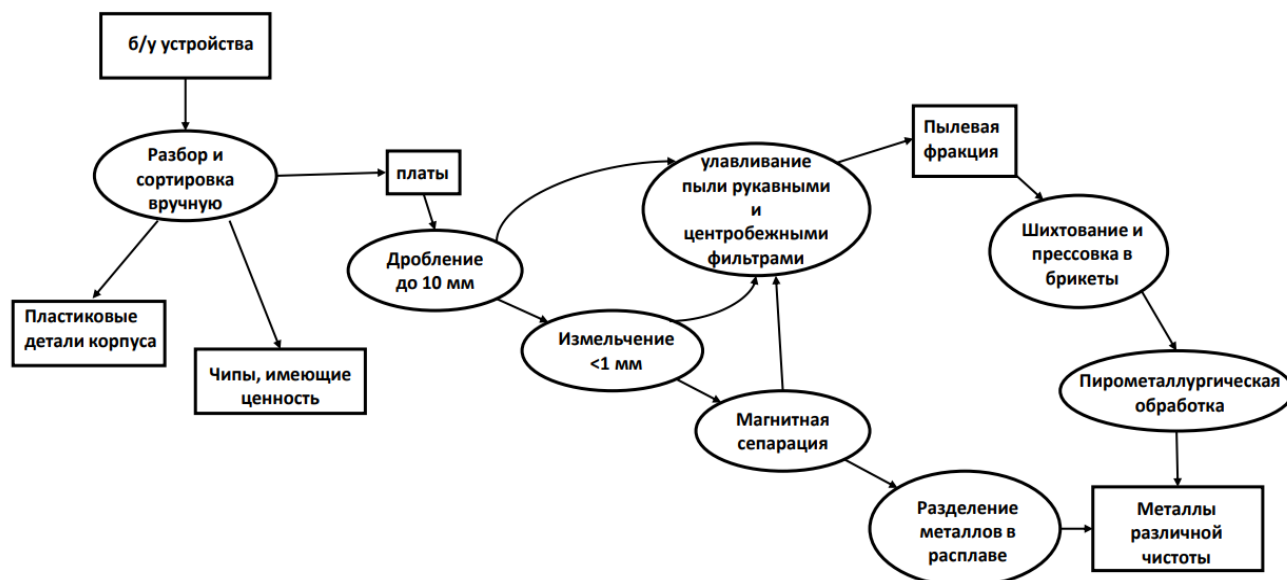


Рисунок 13 — Схема переработки печатных плат с использованием методов магнитной сепарации и пирометаллургической обработкой полученных фракций (Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026).

Использованный в экспериментах образец измельченных плат был представлен пылевой фракцией, образующейся при измельчении компьютерных печатных плат, и был предоставлен компанией «RECOMLETE» (г. Долгопрудный, Московская обл., Россия). Проведенный этой компанией анализ химического состава образца методом ICP AES представлен в Таблице 11.

Таблица 11 — Состав образца измельченных компьютерных плат (Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026).

Содержание, %													
Si	Fe	Cu	Al	Pb	Zn	Ni	Sn	Cd	Ag	Pd	Rh	Au	Pt
10	8	2,6	2,0	1,7	1,0	0,5	0,5	0,04	0,026	<0,005	<0,002	0,001	<0,001

2.2.2 Жидкие среды

В ходе экспериментов были использованы минеральные среды для роста микроорганизмов, а также выщелачивающие растворы в химических процессах.

2.2.2.1 Минеральная питательная среда

В ходе экспериментов по биовыщелачиванию цветных металлов из сульфид-содержащего сырья использовали модифицированную минеральную питательную среду 9К без железа. Эта среда широко применяется для процессов биовыщелачивания и

биоокисления (Bulaev et al., 2021; Panyushkina et al., 2021) и служит основным источником макроэлементов для микроорганизмов. Состав среды приведен в Таблице 12.

Таблица 12 — Состав минеральной среды 9К без железа

Компонент	Содержание, г
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,75
KCl	0,05
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,12
K_2HPO_4	0,12
$\text{H}_2\text{O}_{\text{дист}}$	1 л

Среду подкисляли концентрированной серной кислотой до $\text{pH} \sim 1,5$. В зависимости от эксперимента в качестве субстрата для роста ацидофильных микроорганизмов могут быть добавлены различные источники железа и/или серы, в том числе сульфат железа II, элементарная сера, сульфидные минералы, железосодержащие вторичные отходы.

2.2.2.2 Растворы сульфата железа III и серной кислоты

В ходе исследования кинетики и оптимизации параметров процесса химического выщелачивания измельченных печатных плат использовали растворы сульфата железа III и серной кислоты. Состав экспериментальных растворов приведен в Таблице 13.

Таблица 13 — Состав растворов в ходе химического выщелачивания образца измельченных печатных компьютерных плат

Раствор	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, г/л	H_2SO_4 (конц.), г/л
0 г/л Fe^{3+}	0	3,6
5 г/л Fe^{3+}	25	3,6
10 г/л Fe^{3+}	50	3,6
15 г/л Fe^{3+}	75	3,6

Концентрация трехвалентного железа выступала в качестве варьируемого фактора, влияющего на эффективность процесса выщелачивания металлов.

2.2.3 Экспериментальное оборудование

Эксперименты по биологическому выщелачиванию проводили в колбах Эрленмейера, объемом 250 мл, а также в лабораторных реакторах с мешалкой.

Перемешивание питательной среды в колбах Эрленмейера осуществлялось орбитальным шейкером «Shaker S-3», («ELMI», Латвия). Температуру в ходе инкубации поддерживали с помощью термостатов ТС-1/80 («СКТБ», Россия).

Лабораторные реакторы с мешалкой, которые применяли в ходе экспериментов по химическому выщелачиванию измельченных печатных плат, биовыщелачиванию плат и лежащих хвостов флотации, а также в ходе биоокисления упорного пирит-арсенопиритного концентрата и медно-цинкового сульфидного концентрата, имели объем 2,5 л. Перемешивание осуществлялось с использованием верхнеприводной мешалки «RW 20 digital» («IKA», ФРГ), оснащенной перемешивающей насадкой турбинного типа. Поддержание рабочей температуры в лабораторном реакторе осуществлялось за счет U-образного погружного теплообменника. Циркуляция и термостатирование воды во внутреннем контуре теплообменника осуществлялись внешним термостатом «TW-2.03» («ELMI», Латвия). Подача воздуха в биореакторы производилась аквариумным компрессором и регулировалась за счет зажима Гофмана. Подача диоксида углерода осуществлялась из баллонов с установленными редукторами с ротаметром У-30П (Brima, КНР). Расход газов дополнительно проверяли с помощью метода вытеснения жидкости из сосуда с известным объемом жидкости.

рН среды в реакторах и опытных лабораторных установках для химического выщелачивания и биовыщелачивания сырья поддерживали за счет добавления концентрированной серной кислоты или посредством внесения навески карбоната кальция для поддержания значений в диапазоне от 1,0 до 2,0.

Эксперименты по оптимизации параметров химического выщелачивания проводили в лабораторных установках с рабочим объемом стеклянной емкости смешения 200 мл. Перемешивание реакционной смеси осуществлялось верхнеприводными мешалками «RW 20 digital» («IKA», ФРГ) с химически стойкими четырехлопастными перемешивающими насадками, футерованными фторопластом. Температура реакционной смеси поддерживалась водяным термостатом «TW-2.03» («ELMI», Латвия).

2.3 Методы исследования

2.3.1 Постановка экспериментов

2.3.1.1 Биоокисление упорного золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата в стрессовых условиях

В ходе эксперимента в реакторах устанавливали технологические параметры, аналогичные тем, которые используются в промышленных реакторах (температура, плотность пульпы и время выдержки), т.е. «нормальные условия» и «стрессовые условия», которые включали резкое повышение температуры, плотности пульпы или снижение времени пребывания. Целью эксперимента была оценка влияния подачи углекислого газа при возникновении «стрессовых условий», которые, в свою очередь, отрицательно сказывались на динамике биоокисления. Под «нормальными» подразумеваются условия, которые широко распространены в схожих технологических процесса биоокисления пирит-арсенопиритного концентрата и были следующими: температура 40 °С, плотность пульпы 1 : 10 и время пребывания 5 суток. Ранее было показано, что увеличение плотности пульпы с 10 до 20% (Bulaev et al., 2021; Deveci, 2004), повышение температуры с 40 до 50 °С (Bulaev & Boduen, 2022; Mahmoud et al., 2017) и снижение времени пребывания (Arrascue, van Niekerk, 2006) приводили к снижению эффективности биовыщелачивания золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата.

Процесс биоокисления концентрата проводили в непрерывном режиме параллельно в 4 лабораторных биореакторах с мешалкой с рабочим объемом 1,0 л в две серии. В ходе первой серии экспериментов исследовали эффект диоксида углерода при повышении температуры с 40 до 50 °С и плотности пульпы с 10 до 20% (Т : Ж), а во второй — эффект снижения времени пребывания пульпы в реакторах с 5 до 3 суток.

В ходе первой серии экспериментов на начальном этапе оценивали эффект дополнительной подачи диоксида углерода при «нормальных условиях». На втором этапе в реакторах создавали «стрессовые условия» без дополнительного периода адаптации микроорганизмов: повышали плотность пульпы в реакторах 1 и 2 и повышали температуру в реакторах 3 и 4. Основной целью эксперимента было исследовать эффект подачи углекислого газа при резком отклонении эксплуатационных параметров,

связанных, например, с неисправностью системы термостатирования или ошибкой алгоритма загрузки реактора. Схема первой серии экспериментов приведена на Рисунке 14.

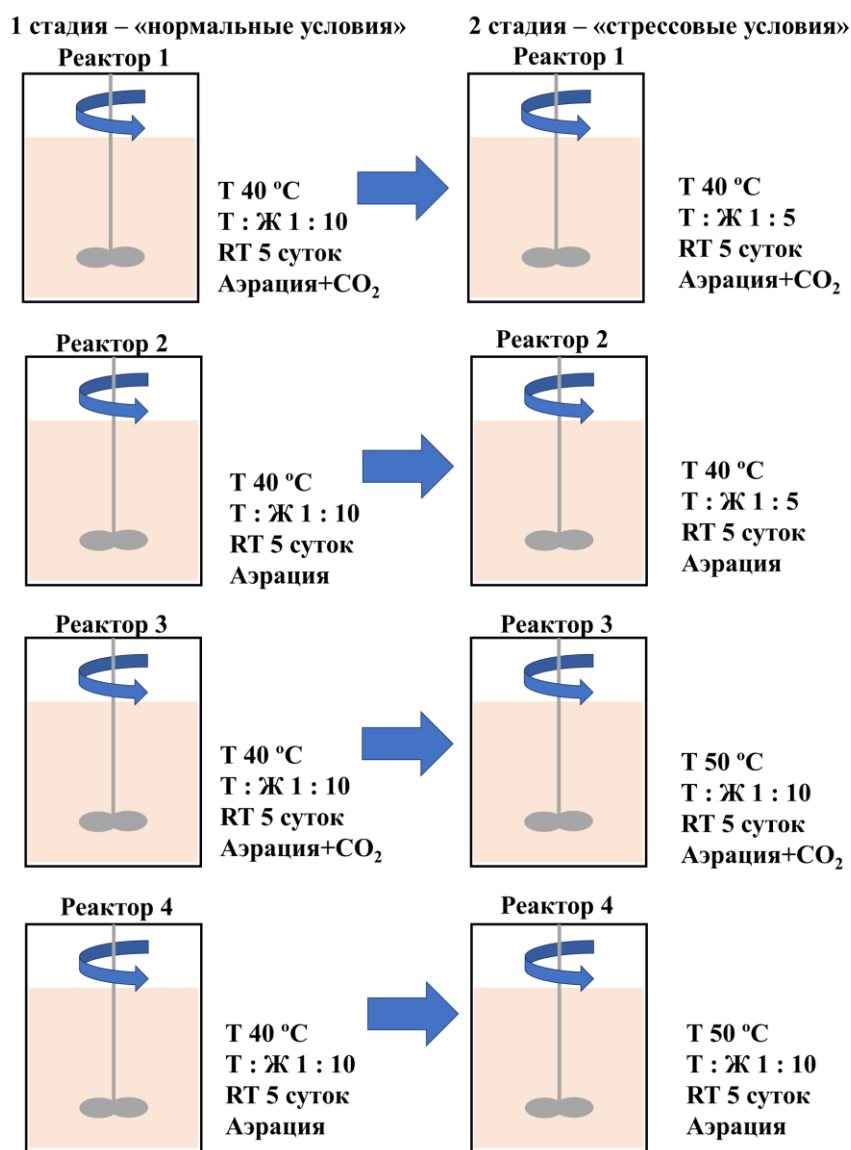


Рисунок 14 — Схема эксперимента по определению влияния CO₂ при повышении плотности пульпы и температуры. Цитировано с изменениями по Bulaev et al., 2024b.

Во всех реакторах первой серии эксперимента время пребывания (retention time, RT) в реакторах составляло 5 сут, скорость мешалки поддерживалась на уровне 500 об/мин при скорости аэрации 5 л/мин. На втором этапе плотность пульпы в «стрессовых условиях» в реакторах 1 и 2 увеличивали до 1 : 5, и повышали температуру в реакторах 3 и 4 до 50 °C. В реакторы 1 и 3 производили подачу углекислого газа с расходом 0,01 л/мин для оценки влияния дополнительного CO₂ на биоокисление как в «нормальных», так и в

«стрессовых» условиях. Реакторы 2 и 4 были приняты за контроль. Исходное значение pH среды (1,4) достигали путем добавления в среду 3 мл/л концентрированной серной кислоты. В качестве инокулята использовали микробную популяцию, образовавшуюся при непрерывном биоокислении аналогичного сульфидного концентрата при температуре 40 – 50 °С. Инокулят представлял собой накопительную культуру ацидофильных микроорганизмов, и включал микроорганизмы родов *Acidithiobacillus* (13,1%), *Sulfobacillus* (85,6%) и *Ferroplasma* (1,3%).

Перед биоокислением в непрерывном режиме в «нормальных условиях» проводили адаптацию культуры микроорганизмов в периодическом режиме. Для этого в реакторы, в которых содержалась подкисленная до pH 1,4 пульпа концентрата (1 л питательной среды и 100 г концентрата), вносили посевной материал до численности клеток около $1,2 \cdot 10^7$ клеток/мл с дальнейшим инкубированием пульпы при постоянной аэрации, барботаже углекислым газом и температуре 40 °С.

Рост микроорганизмов и биоокисление в периодическом режиме оценивали по параметрам жидкой фазы и проводили до тех пор, пока параметры жидкой фазы не достигали стабильного уровня. Затем переходили к биоокислению в «нормальных условиях» в непрерывном режиме. После проведения биоокисления в «нормальных условиях» переходили к стадии эксперимента с биоокислением в «стрессовых условиях» без дополнительного периода адаптации. Для оценки влияния условий биоокисления на микробное сообщество, проводили анализ сообщества с помощью секвенирования V3 – V4 фрагментов 16S рРНК инокулята, образцов биомассы в конце этапа эксперимента в периодическом режиме, а также в непрерывном режиме.

Во второй серии экспериментов исследовали эффект снижения времени пребывания пульпы в системе из 2 пар параллельно запущенных реакторов, в одной из которых пульпу дополнительно барботировали диоксидом углерода, а вторая пара, без дополнительного CO₂, была принята за контроль. Опыты проводили по аналогичной первой серии методике, сохраняя параметры «нормальных условий» и порядка проведения процесса, который включал этап предварительной адаптации культуры в периодическом режиме (22 суток), после чего переходили к непрерывному процессу биоокисления (33 суток). Инокулят, использованный во второй серии экспериментов, также представлял собой накопительную культуру ацидофильных микроорганизмов, которая включала в себя микроорганизмы родов *Acidithiobacillus* (26,6%), *Sulfobacillus*

(38,8%) и *Ferroplasma* (13,25%), *Leptospirillum* (19,7%), *Cuniculiplasma* (1,2%), *Ca. «Carboxiplasma ferriphilum»* (0,34%).

Схема второй серии экспериментов со снижением времени пребывания представлена на Рисунке 15.

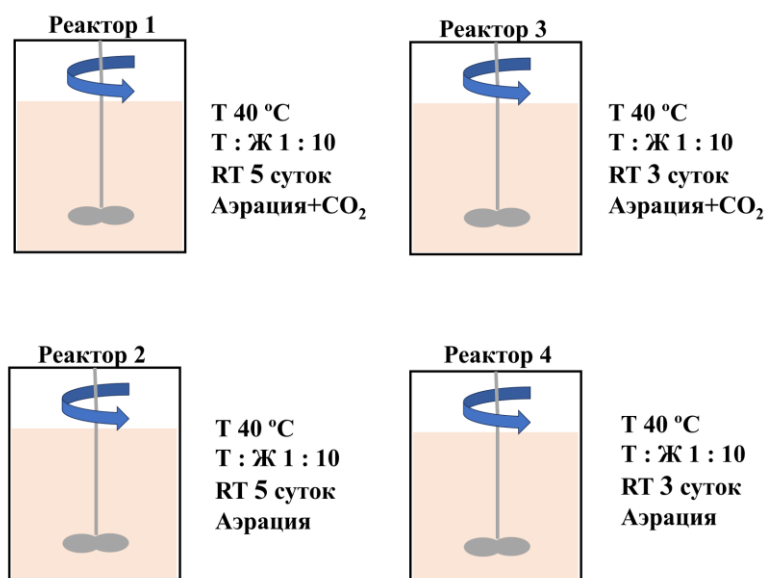


Рисунок 15 — Схема эксперимента по определению влияния CO₂ при снижении времени пребывания пульпы.

Переход от периодического к непрерывному режиму осуществляли, исходя из динамики параметров жидкой фазы: pH, Eh, концентрации трехвалентного и двухвалентного железа. В конце опытов в обоих режимах отбирали образцы биомассы микроорганизмов для последующего исследования состава популяций.

2.3.1.2 Биоокисление полиметаллического мышьяк-содержащего сульфидного концентрата

Процесс биоокисления концентрата исследовали в двух сериях экспериментов в лабораторных реакторах с мешалкой в периодическом и непрерывном режиме. В ходе первой серии экспериментов оценивали эффект дополнительных источников углерода на биовыщелачивание меди и цинка. Опыты проводили в двух температурных режимах — при 45 и 55 °C в периодическом и непрерывном режимах в 3 реакторах при добавлении диоксида углерода (0,01 л/мин) или мелассы (0,02%), относительно контроля без дополнительных источников углерода. Плотность пульпы составляла 1 : 10, время

пребывания в непрерывном режиме составляло 10 суток. Начальное значение pH корректировали добавлением 5 мл/л концентрированной серной кислоты. После введения концентрата пульпу выдерживали в течение 1 суток без внесения инокулята для стабилизации pH.

Инокулятом служила накопительная культура ацидофильных микроорганизмов, полученная на исследуемом концентрате в периодическом режиме при 45 °С. Рост микроорганизмов оценивали по снижению pH, росту численности клеток и накоплению катионов трехвалентного железа в жидкой фазе. Инокулят вносили в количестве, обеспечивающем начальную численность клеток в жидкой фазе $1 \cdot 10^8$ кл/мл. В составе инокулята присутствовали следующие ацидофильные микроорганизмы: *Acidithiobacillus* (62,8%), *Sulfobacillus* (22,8%) и *Ferroplasma* (2,7%), *Cuniculiplasma* (10,6%), *Leptospirillum* (0,03%), *Ca. «Carboxiplasma ferriphilum»* (0,01%), *Acidiferrobacter* (0,01%).

Эксперимент по биовыщелачиванию проводили последовательно при двух температурах. На первом этапе биовыщелачивание начинали при 45 °С. После инокуляции проводили адаптацию микробной популяции к концентрату в периодическом режиме при постоянном мониторинге параметров жидкой фазы (pH, Eh, концентрации ионов железа, численности клеток). При достижении стабильного уровня показателей жидкой фазы, который свидетельствовал об активном биоокислении сульфидных минералов концентрата, эксперимент продолжали в непрерывном режиме биоокисления до установления стабильного режима биоокисления. После этого отбирали пробы биомассы для определения состава микробного сообщества и окисленной твердой фазы пульпы — биокека.

Затем переходили ко второму этапу — биоокислению при 55 °С. Температуру в реакторе повышали, после чего повторяли опыт по аналогичной методике: проводили адаптацию сообщества микроорганизмов в периодическом режиме до стабилизации параметров с последующим переходом на непрерывный процесс культивирования с отбором проб биомассы и биокека для проведения анализа по окончании опыта.

Схема экспериментов первой серии отображена на Рисунке 16.

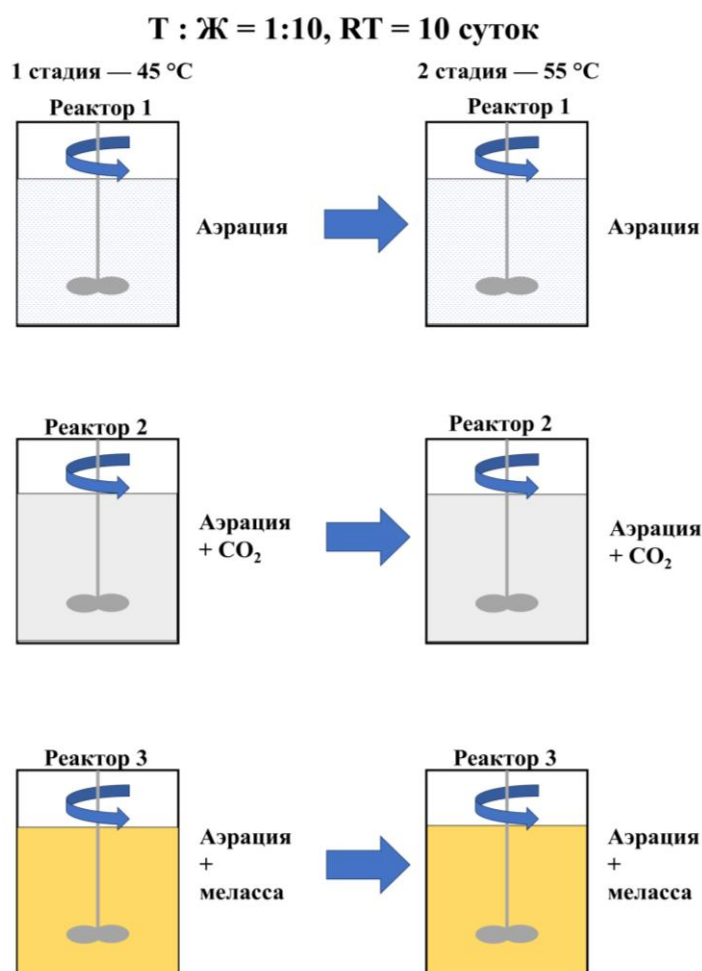


Рисунок 16 — Схема эксперимента по определению влияния источников углерода на извлечение меди и цинка

Во второй серии экспериментов исследовали эффективность извлечения меди и цинка в каскаде из двух биореакторов (2 пары по 2 реактора) при добавлении 100 мМ хлорида натрия в реакционную среду в 3 различных режимах: в первом режиме в пульпу не вносили хлорид натрия, во втором режиме – в пульпу второго реактора цепи вносили хлорид натрия, чтобы достичь его концентрации 100 мМ, в третьем режиме – 100 мМ хлорида натрия вносили в оба реактора в цепи. В первом реакторе каскада поддерживали температуру 45 °C, а во втором реакторе — 55 °C. В ходе эксперимента исследовали эффект подачи CO₂ при схожем расходе (0,01 л/мин) в первую пару реакторов, относительно второй, контрольной, пары. Перед проведением процесса в непрерывном режиме производили наращивание микроорганизмов в реакторах биоокисления в периодическом режиме. В непрерывном режиме эксперимент проводили так же при плотности пульпы 1 : 10 при времени пребывания в каждом реакторе каскада 4 суток. Остальные параметры (скорость перемешивания, аэрация, принцип поддержания pH)

были схожими с другими экспериментами работы. Схема данного эксперимента представлена на Рисунке 17.

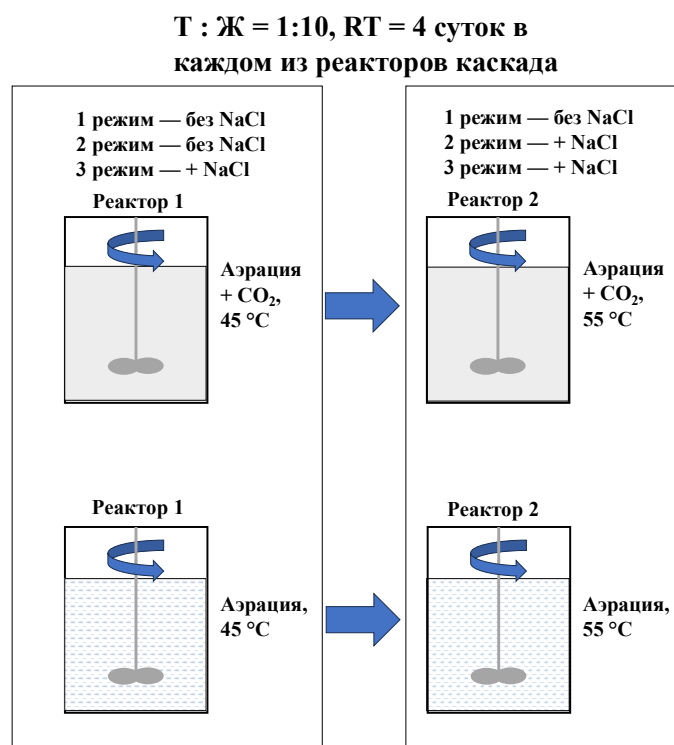


Рисунок 17 — Схема эксперимента с использованием каскада реакторов в 3 режимах добавления хлорида натрия в среду

В ходе серий экспериментов были исследованы процессы биовыщелачивания мышьяксодержащего полиметаллического концентрата, содержащего теннантит, халькопирит и сфалерит в разных условиях. Была изучена зависимость выщелачивания цветных металлов от температуры процесса (45 и 55°C) и использования в качестве источников углерода для микробной популяции биореакторов CO_2 и мелассы, аналогично предыдущим работам по биоокислению пирит-арсенопиритовых концентратов при повышенной температуре (Bulaev, Boduen, 2022; Bulaev et al., 2023). В ходе исследования процесса с каскадами реакторов с добавлением хлорида натрия проверяли как эффект последовательно биоокисления данного концентрата при разных температурах, которое потенциально могло увеличить эффективность биоокисления халькопирита за счет предварительного удаления относительно легко окисляемых компонентов, так эффект хлоридов на выщелачивание сульфидов меди, отмеченный в обзоре литературы.

2.3.1.3 Лабораторные эксперименты по биовыщелачиванию измельченных печатных плат

Предварительные лабораторные эксперименты, проводимые в колбах Эрленмейера проводились, чтобы решить две задачи: исследование различных факторов, влияющих на процесс биовыщелачивания (тип выщелачивания, наличие серы и двухвалентного железа в среде, эффект от внесения микроорганизмов), и влияние концентрации плат на рост ацидофильных микроорганизмов на жидких средах с двухвалентным железом.

Эксперименты по биовыщелачиванию проводили в колбах Эрленмейера, объемом 250 и 500 мл, в которых определяли влияние микроорганизмов на кинетику выщелачивания в двух экспериментах: в ходе одностадийного биовыщелачивания, где платы, субстрат и микроорганизмы вносили одновременно в начале эксперимента, а также в ходе двухстадийного эксперимента с использованием культуральной жидкости после окисления железа и серы микроорганизмами.

В экспериментах использовали среду с начальным значением pH 1,5, в которую вносили смешанную культуру микроорганизмов до численности клеток в пределах $5 \cdot 10^7$ кл/мл (Valiyev et al., 2025). Для поддержания значений pH на уровне 1,5 – 2,0 в течение эксперимента по необходимости добавляли концентрированную серную кислоту. Эксперимент проводился при температуре 35 °C с использованием минеральной среды 9K в которую вносили различные субстраты для роста ацидофильных микроорганизмов: сульфат двухвалентного железа или элементарную серу. Также в эксперименте использовали контрольные варианты без микроорганизмов и с добавлением сульфата трехвалентного железа вместо двухвалентного, чтобы качественно определить возможность химического выщелачивания с окислителем Fe^{3+} .

В колбы вносили по 100 мл подкисленной среды. В соответствии с планом эксперимента вносили по 5 грамм измельченных печатных плат, сульфат двухвалентного или трехвалентного железа (начальный титр Fe^{2+} или Fe^{3+} в растворе составлял 2 г/л), а также элементарную серу (10 г/л). В ходе экспериментов по одностадийному выщелачиванию проводился подготовительный этап стабилизации кислотности среды серной кислотой в течение первых трех суток. Необходимость этого этапа объясняется возможным защелачиванием реакционной среды, которое может привести к снижению окислительной активности культуры микроорганизмов или к выпадению нерастворимых осадков. Поэтому эксперименты проводили в два этапа: первый этап проводился в

течение трех суток и заключался в предварительной стабилизации среды в присутствии плат с сопутствующим химическим выщелачиванием металлов и органических соединений из измельченных плат серной кислотой. Первый этап проходил до того момента, пока не установились стабильные значения pH, около 1,5 – 1,6, после чего вносили посевной материал и дополнительные субстраты (Fe^{2+} , S^0), согласно плану эксперимента (Таблица 14).

Таблица 14 — План эксперимента по биовыщелачиванию образца измельченных печатных компьютерных плат.

№ варианта	Изм. платы	Микроорганизмы	Fe^{2+}	Fe^{3+}	S^0	Тип выщелачивания
1	+	-	-	-	-	Одностадийное
2	-	+	+	-	-	Двухстадийное
3	-	+	-	-	+	Двухстадийное
4	+	+	+	-	-	Одностадийное
5	+	+	-	-	+	Одностадийное
6	+	+	-	-	-	Одностадийное
7	+	+	-	+	-	Одностадийное

В предварительных экспериментах внесение культуры микроорганизмов исследовали как один из факторов выщелачивания, без наблюдения скорости роста микроорганизмов. Такое допущение принимали, исходя из того, что рост численности микроорганизмов коррелирует с окислением двухвалентного железа и/или серы, которое можно отследить физико-химическими методами анализа. Посевной материал (суспензию смешанной культуры ацидофильных микроорганизмов) концентрировали с использованием дифференциального центрифугирования для отделения культуральной жидкости и вносили в колбы так, чтобы начальная концентрация клеток составляла $0,5 - 1,0 \cdot 10^8$ кл/мл (Valiyev et al., 2025). Колбы устанавливали на орбитальный шейкер в термостат и инкубировали при температуре 35 °C при скорости перемешивания 200 об/мин.

Эксперимент по влиянию плат на рост и метаболическую активность накопительной культуры ацидофильных микроорганизмов проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 и 500 мл. Перемешивание осуществлялось с помощью

орбитального шейкера с частотой 200 об/мин. В качестве инокулята использовали накопительную культуру ацидофильных микроорганизмов, поддерживаемую на среде 9 KS с концентрациями двухвалентного железа 2 и 4 г/л при pH ~ 1,5 при комнатной температуре. В ходе экспериментов качественно оценивали эффект внесения печатных плат в среду на рост микроорганизмов и их скорость окисления двухвалентного железа в начале процесса. Эксперименты проводили в два этапа: на первом этапе оценивали эффект концентрации измельченных плат на рост накопительной культуры ацидофильных микроорганизмов при температуре 30 °С, на втором этапе с установленными концентрациями образца измельченных плат в среде оценивали эффект добавления органического субстрата (ДЭ) при температурах 30 °С и 42 °С.

На первом этапе эксперимента в среду 9KS с 2 г/л Fe^{2+} вносили навески измельченных печатных плат в количестве 2 г/л (0,2 % Т : Ж), 10 г/л (1,0 % Т : Ж), 20 г/л (2,0 % Т : Ж) и 50 г/л (5,0 % Т : Ж). Образцы, в которые не добавляли измельченные платы, были приняты за контроль.

На втором этапе исследовали динамику изменения численности микроорганизмов и изменения концентрации двухвалентного и трехвалентного железа в растворе. Питательная среда из первой части эксперимента была изменена — была увеличена концентрация двухвалентного железа до 4 г/л. В колбы вносили навески измельченных печатных плат: 1 г/л (0,1 % Т : Ж) и 2 г/л (0,2 % Т : Ж). Колбы, в которые не добавляли измельченные платы, были приняты за контроль. В часть колб добавляли дрожжевой экстракт (ДЭ) в концентрации 0,2 %.

2.3.1.4 Химическое выщелачивание меди и никеля из измельченных печатных плат

В ходе этого исследования были проведены эксперименты, направленные на определение оптимальных условий процесса химического выщелачивания меди и никеля из образца измельченных плат. Медь и никель были выбраны как референтные металлы, которые были представлены в образце в достаточном количестве и обладают высоким экономическим потенциалом (Таблица 11). Изучались такие параметры, как плотность пульпы, температура и начальная концентрация трехвалентного железа в растворе для выщелачивания.

На первом этапе исследования эксперименты проводились в стеклянном сосуде, оснащенном внешней верхнеприводной мешалкой, со скоростью вращения 300 об/мин. Рабочий объем емкости составлял 200 мл. В ходе экспериментов изучали динамику процесса при температурах 25, 50 и 75 °С, плотности пульпы (Т : Ж) 5 % и 10 %, а также начальной концентрации ионов трехвалентного железа в диапазоне от 0 до 15 г/л.

Эксперимент проводили в двух повторностях при каждой комбинации условий, указанных в плане эксперимента (Таблица 15).

Таблица 15 — Матрица эксперимента по химическому выщелачиванию образца измельченных печатных компьютерных плат

Температура, °С	Концентрация Fe ³⁺ стартовая, г/л	Плотность пульпы, %
50,0	0,0	10,0
75,0	0,0	10,0
25,0	10,0	10,0
50,0	10,0	10,0
75,0	10,0	10,0
50,0	10,0	5,0
50,0	15,0	5,0
50,0	15,0	10,0

Основываясь на результатах первого этапа исследования, был проведен процесс химического выщелачивания в двух лабораторных реакторах с мешалкой в периодическом режиме. Параметры процесса были следующими: температура 50 °С, рабочий объем 1 литр, скорость перемешивания 500 об/мин, рН поддерживался в диапазоне от 1,0 до 2,0. Начальный титр трехвалентного железа в обоих реакторах составлял 10 г/л, а плотность пульпы составляла 5% и 10%. Целью проведения эксперимента в лабораторных реакторах было оценить воспроизводимость процесса при увеличении объемов реактора в ходе масштабирования.

2.3.1.5 Одностадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат

Эксперимент проводили в два этапа — в периодическом режиме и в непрерывном. В периодическом режиме эксперимент проводили при содержании печатных плат (PCB,

от англ. «printed circuit boards») в пульпе 0,5% в 3 стадии. Питательную среду подкисляли концентрированной серной кислотой до концентрации 2,7 г/л и вносили в нее инокулят. В подготовленный таким образом общий объем среды, достаточный для заполнения обоих реакторов до рабочего уровня, вносили биомассой микроорганизмов. После тщательного перемешивания полученную суспензию поровну распределили по реакторам (Рисунок 18).

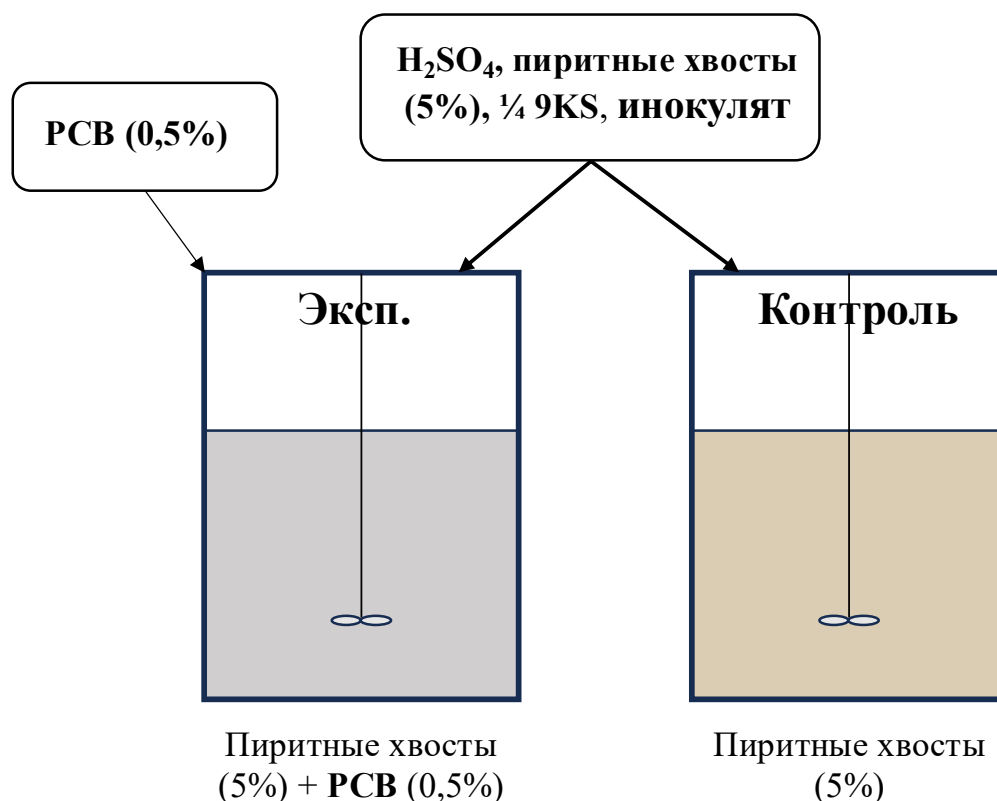


Рисунок 18 — Схема эксперимента совместного биовыщелачивания хвостов флотации и измельченных печатных плат. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026

Реакторы инокулировали до концентрации клеток микроорганизмов $0,5 - 2,0 \cdot 10^7$ кл/мл. Исходный посевной материал, использованный в ходе первого запуска, представлял собой накопительную культуру ацидофильных микроорганизмов, поддерживаемых при постоянной аэрации и комнатной температуре на среде, в которой источником железа и серы являются пиритные хвосты (Bulaev, 2019). В составе инокулята доминирующими ацидофильными микроорганизмами выступали археи рода *Ferroplasma* (74,5%), а также присутствовали бактерии родов *Leptospirillum* (20,0%), *Acidithiobacillus* (5,4%), *Sulfobacillus* (0,03%). Последующая инокуляция (2 и 3 запуск) реакторов

проходила с использованием микробной суспензии, полученной в ходе предыдущего запуска эксперимента в соответствующих реакторах.

Процесс биовыщелачивания осуществлялся в непрерывном режиме с временем пребывания пульпы в каждом реакторе 5 суток. В ходе эксперимента концентрацию измельченных печатных плат в пульпе экспериментального реактора увеличивали в три этапа путем увеличения навески вносимого образца от 5,0 г/л на первом этапе, до 12,5 г/л на втором и до 37,5 г/л на третьем этапе. Реакторы работали в виде каскада, согласно схеме, представленной на Рисунке 19.

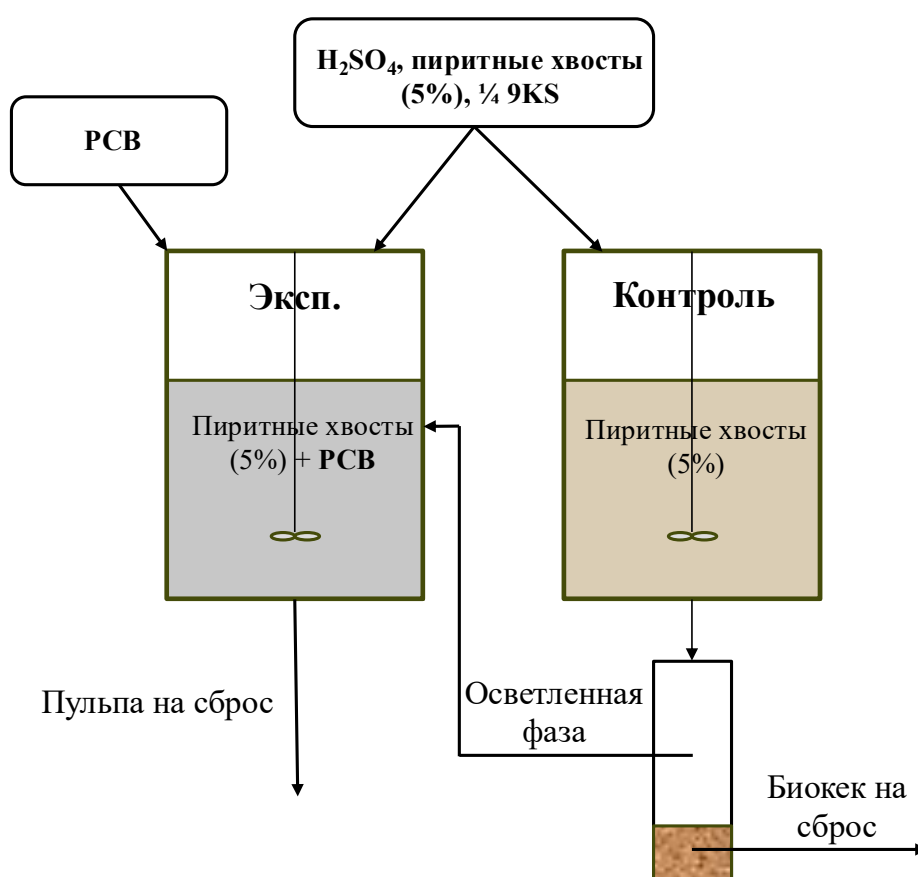


Рисунок 19 — Схема эксперимента в непрерывном режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026

В контрольный реактор подавалась минеральная модифицированная среда 9К с хвостами флотации (5%). Пульпу, содержащую окисленные хвосты флотации и выщелачивающий раствор, выгружали из контрольного реактора и разделяли на жидкую и твердую фазы методом вакуумного фильтрования. Процесс проводили на воронке Бюхнера с колбой Бунзена, используя бумажный фильтр с размером пор 5 – 8 мкм.

Отделенную твердую фазу удаляли, а жидкую фазу подавали в экспериментальный реактор вместе с навеской образца измельченных печатных плат (от 5 до 37,5 г/л) и хвостов флотации (5%). Объем жидкой фазы в экспериментальном реакторе доводили до рабочего объема путем добавления минеральной питательной среды 9К. Таким образом, контрольный реактор выступал как постоянный источник микроорганизмов и трехвалентного железа для экспериментального реактора.

2.3.1.6 Двухстадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат

На предварительном этапе эксперимента была проведена подготовка культуры ацидофильных микроорганизмов. В качестве посевного материала использовалась смешанная культура микроорганизмов, полученная в ходе эксперимента по одностадийному совместному выщелачиванию измельченных печатных плат и хвостов флотации (раздел 2.3.1.5). В реакторы, аналогично предыдущему эксперименту, вносили навески предварительно подготовленных пиритных хвостов с плотностью пульпы 5%, измельченные печатные платы (20 г/л или 2%). Объем доводили до рабочего (1 л) внесением питательной среды. Состав питательной среды был аналогичен среде, применявшейся в эксперименте по совместному выщелачиванию измельченных печатных плат и хвостов флотации (Таблица 12). Значение рН поддерживали в диапазоне от 1,3 до 1,8 с помощью добавления концентрированной серной кислоты. После чего проводили культивирование при постоянной аэрации, температуре и перемешивании, аналогично предыдущему эксперименту, пока значения окислительно-восстановительного потенциала не стали стабильно выше +770 мВ. Таким образом, в исходных реакторах находилась пульпа, в твердой фазе которой содержались окисленные лежалые пиритные хвосты флотации и измельченные печатные платы, а в жидкой фазе содержались компоненты питательной среды, трехвалентное железо, мобилизованное из твердой фазы, а также катионы других металлов (меди, цинка, никеля и т.д.).

В ходе двухстадийного выщелачивания образца измельченных печатных плат была реализована схема химического выщелачивания с последующим биологическим окислением двухвалентного железа в растворе выщелачивания.

Химическое выщелачивание проводили в лабораторном реакторе с мешалкой при следующих условиях: рабочий объем — 1 л, скорость перемешивания — 500 об/мин,

температура — 50 °С, время обработки — 72 часа. Выщелачивание на первом этапе эксперимента происходило в растворе сульфата железа III (50 г/л), подкисленном концентрированной серной кислотой до pH 1,25. Плотность пульпы измельченных плат составляла 5% (50 г/л). Параметры химического выщелачивания данного образца были подобраны в ходе предыдущих экспериментов (раздел 2.3.1.4).

На втором этапе эксперимента химическое выщелачивание проводили с использованием биологически окисленного раствора выщелачивания, используемого повторно, при условиях, аналогичных первому этапу.

После 72 часов химического выщелачивания из пульпы с помощью вакуумной фильтрации отделяли жидкую фазу, разделяли на 2 части и вносили в реакторы биологического окисления железа. Твердая фаза (кек химического выщелачивания) промывалась дистиллированной водой и высушивалась при температуре 80 °С, после чего определялся массовый выход и отбирались образцы для проведения рентгенодифракционного и рентгенофлуоресцентного анализа.

Биологическое окисление раствора выщелачивания проводилось в периодическом режиме с подпиткой. Эксперимент проводился в двух лабораторных реакторах с мешалкой при поддержании рабочего объема 1 л, скорости перемешивания 500 об/мин, постоянной аэрации с расходом воздуха 3 л/мин и при температуре 35 °С. Эксперимент проводили в два этапа. В ходе первого этапа проходило биологическое окисление раствора химического выщелачивания после одного цикла химического выщелачивания свежеприготовленным раствором сульфата железа III. После оценки параметров биологического окисления раствор сливали в накопительную емкость. На втором этапе оценивали скорость биологического окисления раствора выщелачивания, использованного повторно. Для этого окисленный на первом этапе эксперимента раствор повторно использовали для химического выщелачивания, отделяли от твердой фазы вакуум-фильтрацией и опять отправляли в реакторы биологического окисления. Таким образом, был сформирован замкнутый цикл растворов выщелачивания, отображенный на Рисунке 20.

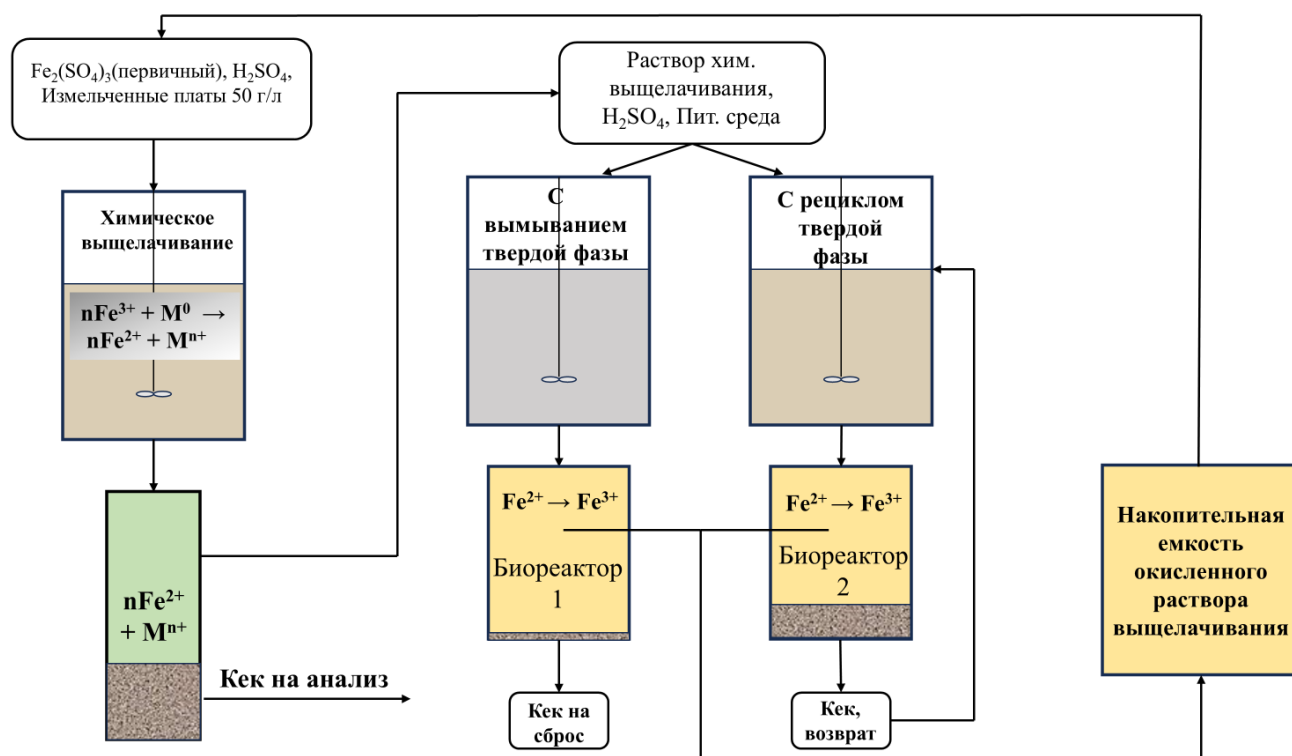


Рисунок 20 — Схема потоков в ходе эксперимента с двухстадийным биовыщелачиванием.

2.3.2 Физико-химические методы анализа образцов

Концентрацию двухвалентного и трехвалентного железа определяли посредством трилонометрического титрования (Резников и др., 1970). По концентрации металлов в жидкой фазе рассчитывали степень извлечения цветных металлов в жидкую фазу при биовыщелачивании полиметаллического сульфидного концентрата и образца отходов измельчения печатных плат по следующей формуле (1):

$$Y = \frac{m - k}{g \cdot \omega} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где Y — извлечение металла в жидкую фазу, %;

m — масса металла, содержащегося в жидкой фазе с печатными платами, г;

k — масса металла в жидкой фазе в контрольном реакторе, г;

g — навеска выщелачиваемого исходного сырья, г;

ω — массовая доля металла в исходном сырье, г/г.

Концентрации Cu^{2+} , Zn^{2+} и Ni^{2+} в пробах определяли посредством атомно-абсорбционной спектроскопии с использованием атомно-адсорбционного спектрометра Perkin Elmer 3100 («Perkin Elmer», США). Атомизация образцов производилась с помощью пламени горения смеси ацетилена и воздуха. Анализируемые образцы жидкой фазы разбавляли раствором 1% HNO_3 для достижения требуемого диапазона измерения прибора.

Концентрацию мышьяка в растворе определяли с помощью атомно-адсорбционного спектрометра «Квант-2мт» («КОРТЭК», Россия), согласно рекомендованной методике. Во всех отобранных пробах измеряли pH среды с помощью pH-метра-милливольтметра pH-150МИ («Измерительная техника», Россия), окислительно-восстановительный потенциал (Eh) с помощью pH-метра-милливольтметра pH-150МА («Антех», Беларусь). Динамика изменения данных показателей позволяет судить об активности процесса биоокисления. При активном окислении сульфидных минералов происходит образование сульфата из серы, что приводит к снижению pH. Окислительно-восстановительный потенциал позволяет судить о соотношении Fe^{3+} и Fe^{2+} в среде.

Исходное сырье и твердая фаза после выщелачивания подвергались анализу для определения степени окисления сульфидных минералов. Химический состав твердых образцов определяли с помощью рентгенофлуоресцентного спектрометра Thermo ARL Perform'x Sequential XFRF («Thermo Fisher Scientific», США). Минеральный состав концентрата и продуктов биоокисления определяли на рентгеновском дифрактометре Rigaku Rotaflex RU-200 D/MAX-RC (Rigaku, Япония).

Статистическую обработку результатов проводили, используя программу Excel 2016 («Microsoft», США).

2.3.3 Метод определения численности микроорганизмов

Прямой подсчет клеток микроорганизмов проводили с помощью микроскопов с фазово-контрастной приставкой Olympus CX41 («Olympus corp.», Япония) и Ampival («Carl Zeiss», Германия). Подсчет проводили в 20 полях зрения, после чего определяли среднее арифметическое количество клеток на одно поле зрения. Для определения численности клеток был определен пропорциональный коэффициент пересчета (K), который рассчитывали по следующей формуле (2):

$$K = \frac{1000a^2}{\pi r^2 V \cdot 10^7}, \quad (2)$$

где K — коэффициент, умножая на который среднеарифметическую численность клеток в полях зрения получают численность клеток порядка 10^7 кл/мл;

a — сторона квадратного покровного стекла, мкм;

r — радиус поля зрения микроскопа, измеренный с помощью окуляра с микроскопической линейкой, мкм;

V — объем внесенной суспензии, мкл.

2.3.4 Подготовка твердых образцов

Перед проведением биовыщелачивания проводили подготовку образцов пирит-арсенопиритного концентрата, полиметаллического сульфидного концентрата, лежалых пиритных хвостов флотации и измельченных печатных плат. Образцы концентрата измельчали посредством обработки с помощью дискового истирателя ЛДИ-65 (АО «Грант», Россия) до однородной мелкодисперсной фракции <100 мкм. Измельченный концентрат сушили в сушожаровом шкафу Redline RF 53 («Binder», Германия) до постоянной массы при 70 °С, после чего использовали в экспериментах.

Из образца измельченных печатных плат отсеивали крупные частицы посредством просеивания образца через сито с ячейкой 1 мм. Полученный порошкообразный образец высушивали до постоянной массы при 70 °С, после чего использовали в экспериментах.

Образец лежалых пиритных хвостов флотации выдерживали в дистиллированной воде при постоянном перемешивании в лабораторном реакторе с мешалкой (2,5 л) в течение 24 часов при скорости перемешивания 600 об/мин для удаления растворимых соединений. Ранее было показано, что данный способ обработки хвостов флотации позволяет извлечь большую часть меди и цинка из образца (Valiyev et al., 2024). После обработки дистиллированной водой образец был отделен от жидкой фазы посредством вакуумной фильтрации. Разделение фаз осуществлялось за счет применения фильтровальной бумаги с диаметром пор фильтра от 5 до 8 мкм. Осадок фильтрации был высушен до постоянной массы при температуре 80 °С, после чего измельчен на дисковом истирателе ЛДИ-65 (АО «Грант», Россия). Измельченный образец был просеян через сито

с диаметром ячейки 1 мм. Измельченный высушенный образец лежалых хвостов флотации использовался в исследованиях.

По окончании процессов твердую фазу отделяли из пульпы посредством вакуумной фильтрации, аналогично методике, описанной выше, и высушивали в сушильном шкафу до постоянной массы при температуре 80 °С. Полученные образцы биокека и кека химического выщелачивания гомогенизировали путем просеивания через сито с размером ячейки 0,071 мм и направляли для определения химического и минералогического составов.

2.3.5 Анализ состава микробных сообществ методом метабаркодирования фрагментов генов 16S рРНК

В ходе экспериментов из среды культивирования отбирали образцы биомассы для проведения анализа состава микробного сообщества методом метабаркодинга фрагментов генов 16S рРНК.

Выделение ДНК проводили из биомассы, отделенной центрифугированием. Для этого образцы пульпы сначала центрифугировали при 1000 g в течение 5 минут для осаждения твердой фазы. Полученный супернатант, содержащий клетки микроорганизмов, центрифугировали при 11000 g в течение 10 минут. Осадок биомассы микроорганизмов промывали для удаления примесей соединений железа путем ресуспендирования в минеральной среде 9К без железа, подкисленной до pH 1,50 концентрированной серной кислотой. Полученную суспензию центрифугировали при 15000 g в течение 5 минут, супернатант удаляли. Процедуру промывки повторяли с использованием среды 9К с нейтральным значением pH для удаления остатков кислоты с последующим центрифугированием в тех же условиях. Из полученной биомассы выделяли ДНК с помощью наборов «DNeasy PowerSoil Kit» («Qiagen», ФРГ).

Количество выделенной метагеномной ДНК измеряли с помощью флуориметрического метода с использованием наборов Qubit dsDNA HS Assay Kit («Thermo Fisher Scientific», США). В результате для каждого образца было выделено не менее 1 мкг суммарной ДНК пригодной для дальнейшей амплификации фрагмента гена 16S рРНК. На следующем этапе с помощью вырожденных праймеров были получены ПЦР-фрагменты этого региона для каждого препарата метагеномной ДНК. Использовались следующие праймеры:

341F_IL: 5`\_CCTACGGGNBGCASCAG\_3`

806R_IL: 5`\_GGACTACNVGGGTWTCTAATCC\_3`.

Реакционную смесь для каждого образца собирали в тонкостенных пробирках объемом 0,5 мл. В пробирку вносили следующие компоненты, перемешивая содержимое после внесения каждого компонента: 19 мкл Milli-Q воды, 10 мкл 5X буфера для ПЦР («Promega», США), по 5 мкл раствора пары праймеров с концентрацией каждого по 10 пмоль/мкл, 5 мкл 25 мМ раствора MgCl₂, 0,5 мкл раствора метагеномной ДНК, 0,5 мкл GoTag ДНК полимеразы («Promega», США). Реакцию ПЦР-амплификации проводили в термоциклере Mastercycler Personal («Eppendorf», Германия) по следующей программе:

денатурация 94 °C — 2 мин;

денатурация 94 °C — 30 сек;

отжиг праймеров 65 °C — 30 сек;

элонгация цепи 72 °C — 1 мин стадии 2–4 повторяли 25 циклов;

элонгация цепи 72 °C — 5 мин;

последующая инкубация при 10 °C.

По окончании ПЦР отбирали 5 мкл реакционной смеси и анализировали образование ПЦР продуктов ожидаемого размера с помощью электрофореза в 2% агарозном геле при напряженности электрического поля 6 В/см. Во всех случаях наблюдали образование фрагмента ожидаемой длины около 500 нуклеотидов. Полученные ПЦР фрагменты очищали от компонентов реакционной смеси с помощью магнитных шариков AmpureXP («Beckman Coulter inc.», США) по протоколам производителя.

На втором этапе к полученным ПЦР-фрагментам довели специальные адаптеры, необходимые для дальнейшего бар-кодирования ПЦР-фрагментов, что позволяло их секвенировать одновременно. Для этого мы ставили реамплификацию с праймерами:

341F_IL:

5`_TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCAGCCTACGGGNBGC
ASCAG_3`;

806R_IL:

5`_GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACNVGGGTWTC
TAATCC_3`.

Реакционную смесь для каждого образца собирали в тонкостенных пробирках объемом 0,5 мл. В пробирку вносили следующие компоненты, перемешивая содержимое после внесения каждого компонента: 19 мкл Milli-Q воды, 10 мкл 5X буфера для ПЦР («Promega», США), по 5 мкл раствора пары праймеров с концентрацией каждого по 10 пмоль/мкл, 5 мкл 25 мМ раствора $MgCl_2$, 0,5 мкл раствора метагеномной ДНК, 0,5 мкл GoTag ДНК полимеразы («Promega», США). Реакцию ПЦР-амплификации проводили в термоциклере Mastercycler Personal («Eppendorf», Германия) по следующей программе:

денатурация 94 °C — 2 мин;

денатурация 94 °C — 30 сек;

отжиг праймеров 65 °C — 30 сек;

элонгация цепи 72 °C — 1 мин стадии 2–4 повторяли 25 циклов;

элонгация цепи 72 °C — 5 мин;

последующая инкубация при 10 °C.

Полученные ПЦР фрагменты очищали с помощью магнитных шариков AmpureXP («Beckman Coulter inc.», США) в соответствии с рекомендациями производителя. На следующем этапе проводили баркодирование образцов с помощью набора Nextera XT DNA Sample Preparation Kit (FC-131-1096) («Illumina», США), согласно рекомендациям производителя. В конце процедуры был получен препарат ДНК, содержащий в равных долях все исследуемые ПЦР фрагменты. Секвенирование осуществляли в приборе MiSeq («Illumina», США) с использованием наборов Miseq Reagent Kit V3 (600-циклов, чтение с двух концов) («Illumina», США). Используемый набор реагентов обеспечивал парное чтение (paired-end) длиной 300 нуклеотидов с каждого конца, что позволяло полностью секвенировать фрагменты длиной около 500 п.н. В результате для каждого образца было получено в среднем по 10 тыс. парных чтений.

Попарно перекрывающиеся прочтения были объединены с помощью программы FLASH v.1.2.11 (Magoč & Salzberg, 2011).

Все последовательности были сгруппированы в операционные таксономические единицы (OTU) с порогом идентичности 97% с использованием программного обеспечения USEARCH v. 11 (Magoč & Salzberg, 2011). Прочтения низкого качества были удалены до кластеризации, а химерные последовательности были удалены во время кластеризации с помощью алгоритмов USEARCH. Для расчета численности OTU все прочтения, полученные для проанализированных образцов (включая прочтения низкого

качества), были сопоставлены с последовательностями OTU с порогом глобальной идентичности 97% с помощью USEARCH. OTU, содержащие только одно прочтение во всем наборе данных и которые, вероятно, являются результатом ошибок секвенирования, были удалены с помощью команд USEARCH.

Таксономическая классификация OTU проводилась путем поиска их в базе данных последовательностей рРНК SILVA v.138 с использованием алгоритма VSEARCH v. 2.14.1 (Rognes et al., 2016). OTU, отнесенные к хлоропластам, митохондриям и эукариотам, были исключены из анализа. Дополнительный анализ сходства полученных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК проводили с помощью BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Биоокисление упорного золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата в стрессовых условиях

Биоокисление сульфидных золотосодержащих концентратов применяется в тех случаях, когда прямое цианирование или пирометаллургические методы не обеспечивают достаточного извлечения золота из-за «упорности» сырья: золото тонко вкраплено в кристаллическую решетку сульфидов (пирита, арсенопирита) и недоступно для цианида, а пирометаллургическая переработка мышьяксодержащих концентратов сопряжена с образованием токсичных газообразных выбросов. Классическая схема биоокисления (реализуемая в промышленных технологиях BIOX® и BIONORD®) представляет собой непрерывный биотехнологический процесс, осуществляемый ацидофильными микроорганизмами при повышенной температуре (35 – 45 °С), плотности пульпы 10 % (Т : Ж 1:10) и времени пребывания от 5 до 10 суток; в реакторы непрерывно барботируют воздух для преодоления лимитирования по кислороду.

В настоящей работе параметры процесса были изменены таким образом, чтобы воссоздать технические отклонения, характерные для аварийных ситуаций (отказ системы термостатирования, сбой алгоритма загрузки): резкое повышение плотности пульпы и температуры, а также сокращение времени пребывания. Дополнительная подача диоксида углерода гипотетически должна была нивелировать негативные эффекты этих отклонений, что и проверяли экспериментально.

3.1.1 Влияние CO₂ при «стрессовых условиях», вызванных повышением температуры и плотности пульпы

В ходе первой серии экспериментов определяли эффект дополнительной подачи диоксида углерода на процесс биоокисления пирит-арсенопиритного концентрата при повышении температуры и плотности пульпы относительно «нормальных условий». На начальной стадии эксперимента происходила адаптация инокулята в периодическом режиме (23 суток), после чего переходили к биоокислению в непрерывном режиме в «нормальных условиях», который продолжался в течение 25 суток (Рисунок 21). Последующее изменение температуры и доли твердой фазы в пульпе оказало разный эффект на процесс биоокисления. Эффективность отслеживали по динамике параметров

жидкой фазы и минеральному составу биокека. Кроме того, наблюдали изменения состава популяций ацидофильных микроорганизмов в биореакторах.

3.1.1.1 Динамика параметров жидкой фазы

На начальном этапе при «нормальных условиях» основной задачей было добиться стабильных параметров в реакторах, относительно которых можно было бы отследить эффекты, которые приносят стрессовые факторы — повышение плотности пульпы и повышение температуры. В нормальных условиях, согласно схеме эксперимента, пары реакторов дублировали друг друга, поэтому на диаграммах показатели жидкой фазы для каждой пары реакторов представлены в виде усредненной кривой. При этом в нормальных условиях не было определено значимого эффекта от подачи диоксида углерода на динамику значений pH относительно контрольного реактора (Рисунок 21).

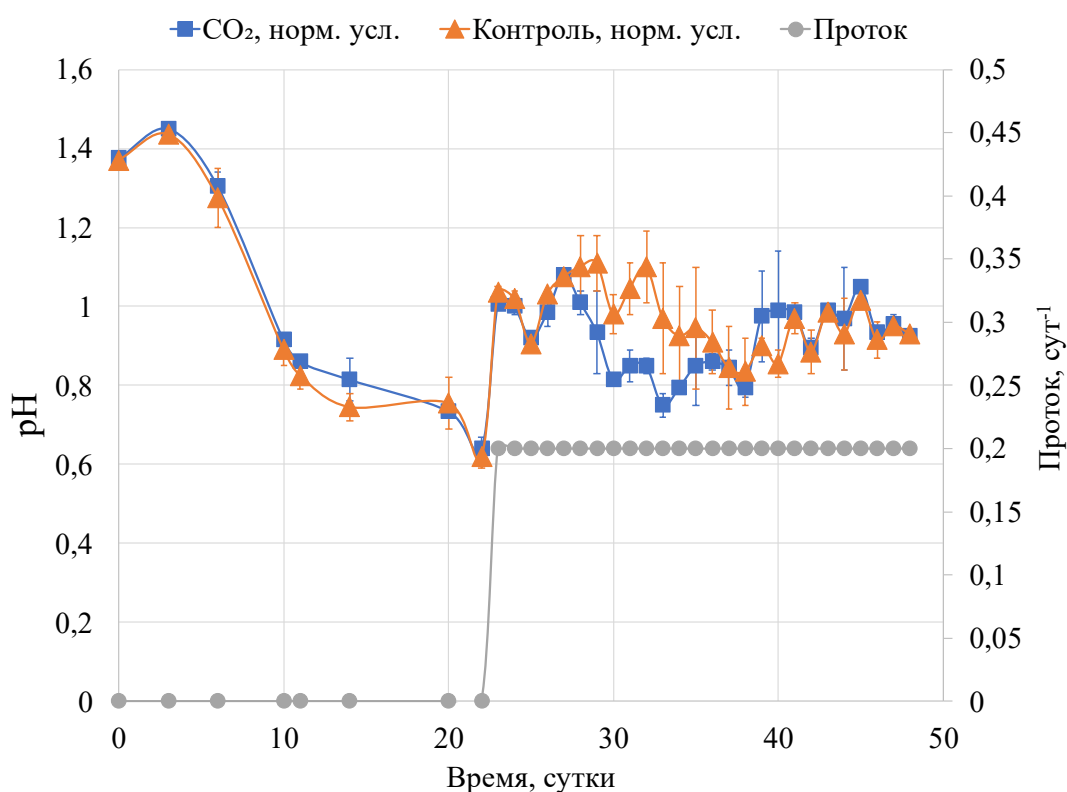


Рисунок 21 — Динамика значений pH в ходе эксперимента при нормальных условиях (пункт 2.3.1.1).

Эффект подачи углекислого газа на скорость закисления среды был замечен при переходе от периодического режима к проточному и выражался в более высокой кислотности среды, вызванной окислением серы. Однако, примерно через 10 суток от

начала протока показатели реакторов пришли к близким значениям и далее не демонстрировали отличий в динамике. Аналогичная тенденция наблюдалась и у изменений окислительно-восстановительного потенциала и титра трехвалентного железа (Рисунок 22). Содержание двухвалентного железа в жидкой фазе пульпы в течение эксперимента в «нормальных условиях» было низким во всех реакторах.

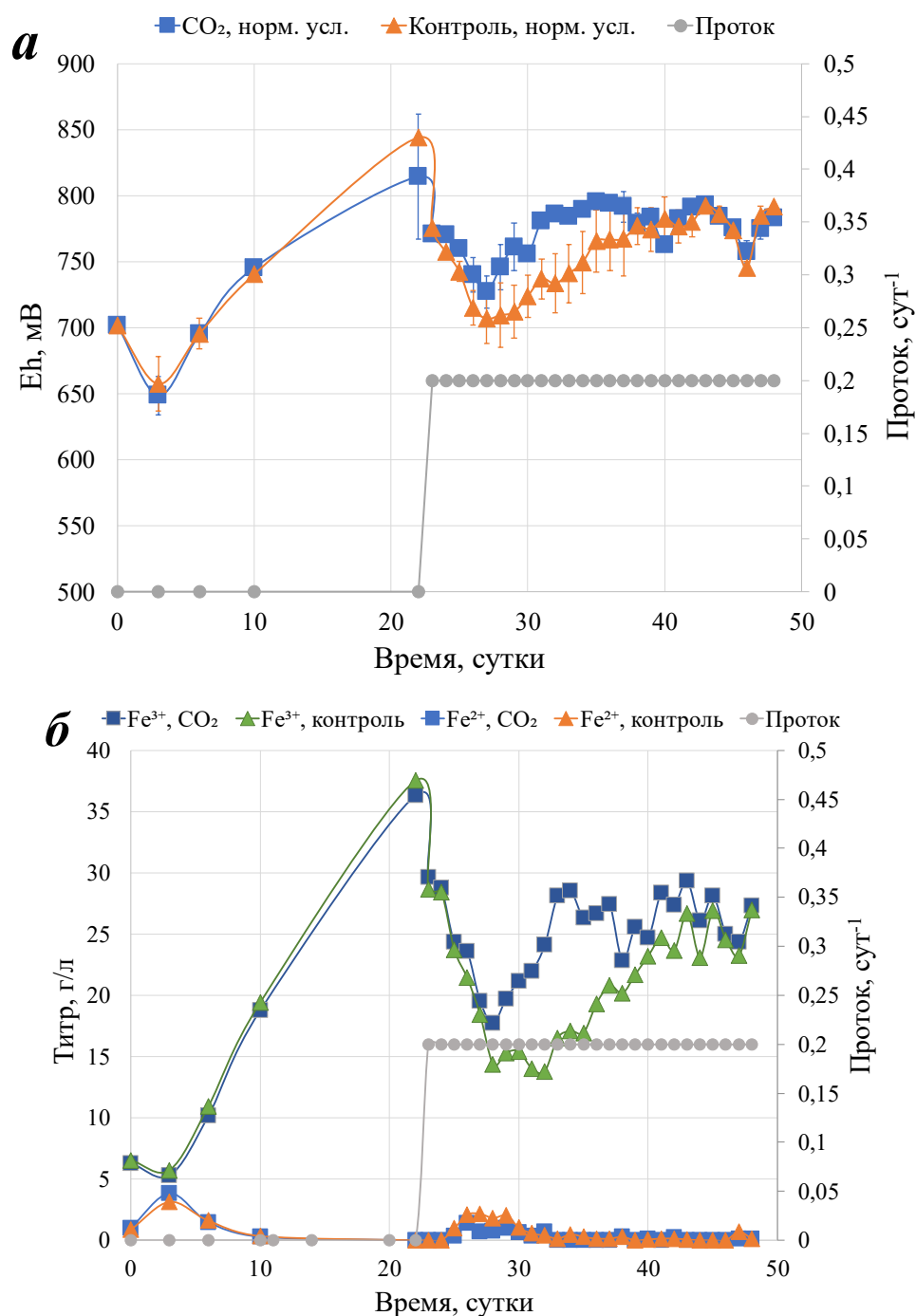


Рисунок 22 — Динамика значений Eh (А) и содержания трехвалентного и двухвалентного железа (Б) в ходе эксперимента при нормальных условиях (пункт 2.3.1.1).

Численность клеток была выше в реакторах с подачей углекислого газа, чем в контроле (Рисунок 23):

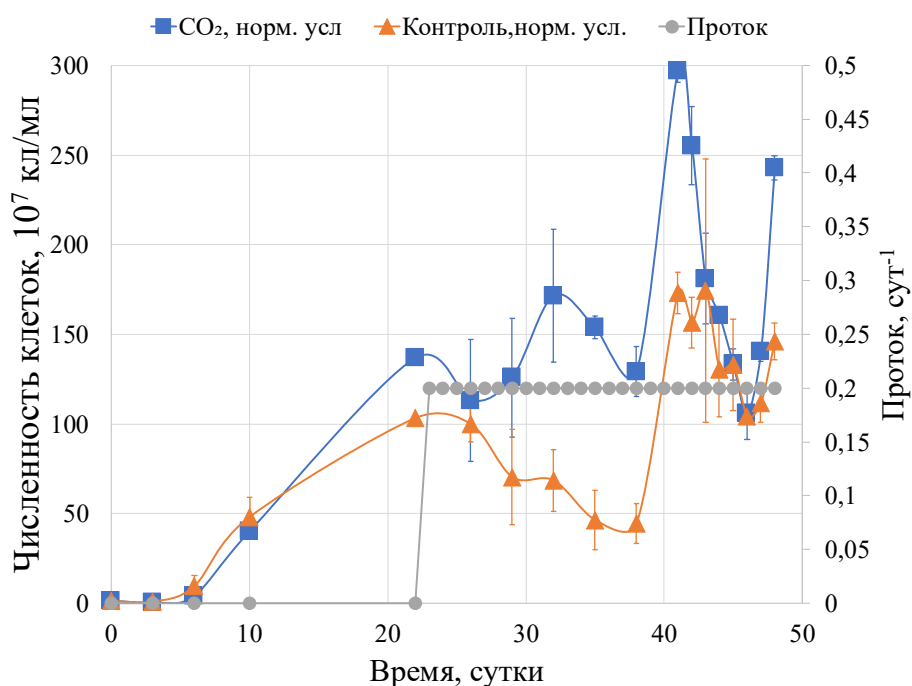


Рисунок 23 — Изменение численности клеток в нормальных условиях (пункт 2.3.1.1).

В течение выщелачивания в непрерывном режиме измеряли концентрацию мышьяка, который выщелачивался из арсенопирита в раствор. В обоих вариантах (в контроле и с подачей углекислого газа) выщелачивания наблюдаемая концентрация мышьяка находилась на сопоставимом уровне: в реакторах с подачей CO₂ — $6,40 \pm 0,45$ г/л, в контрольных — $6,15 \pm 0,37$ г/л.

При переходе от «нормальных условий» к «стрессовым» изменяли, в первом случае, плотность пульпы до 1:5, а во втором случае — повышали температуру до 50 °С, что по-разному отразилось на эффективности биоокисления пирит-арсенопиритного концентрата.

Эффект от **повышения плотности пульпы** оказал разное влияние на динамику параметров в реакторе с подачей CO₂ и контрольном реакторе (Рисунки 24 – 28). На всех представленных ниже диаграммах параметры на 0 сутки определены при соотношении твердой фазы к жидкой, равном 1 : 10, далее — при 1 : 5.

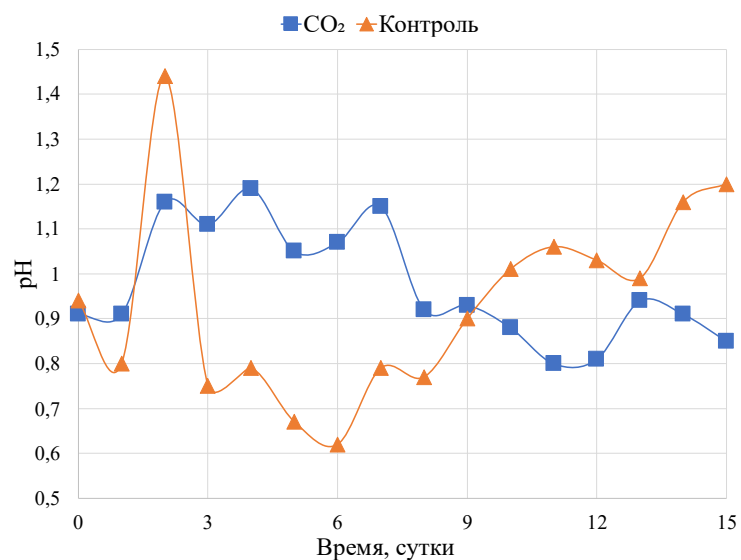


Рисунок 24 — Значения pH при повышении плотности пульпы от 1:10 до 1:5.

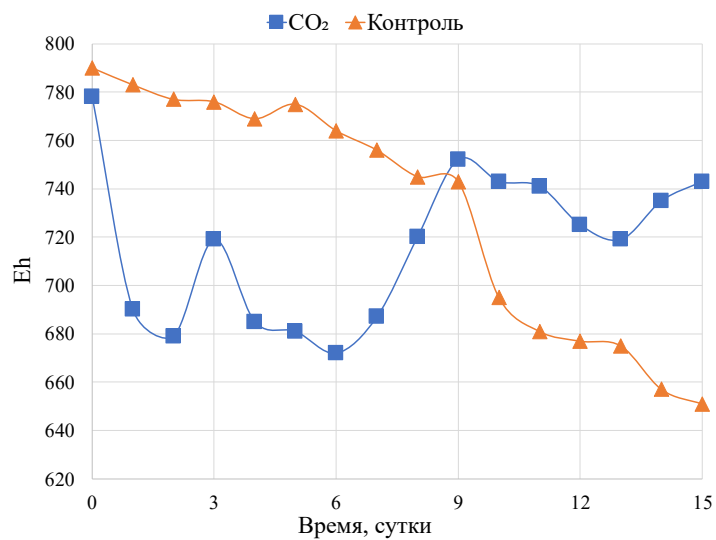


Рисунок 25 — Значения Eh при повышении плотности пульпы от 1:10 до 1:5.

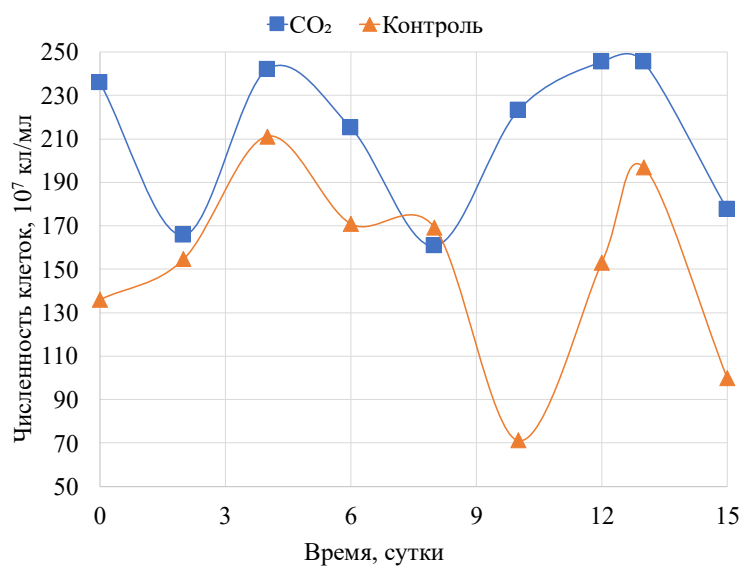


Рисунок 26 — Численность клеток при повышении плотности пульпы от 1:10 до 1:5.

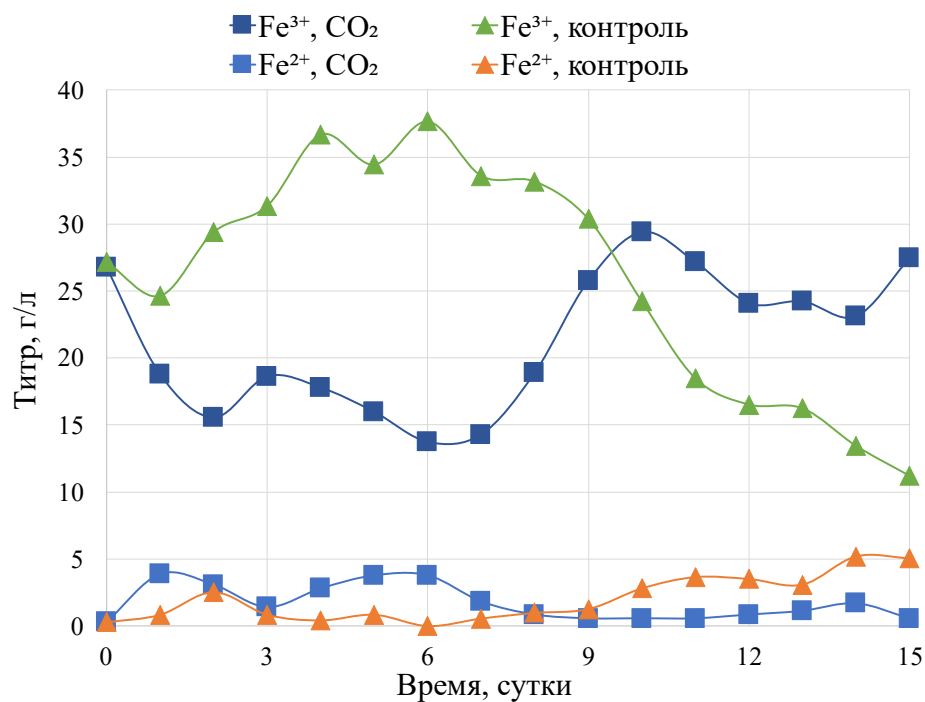


Рисунок 27 — Содержание ионов двухвалентного и трехвалентного железа в жидкой фазе при повышении плотности пульпы от 1:10 до 1:5.

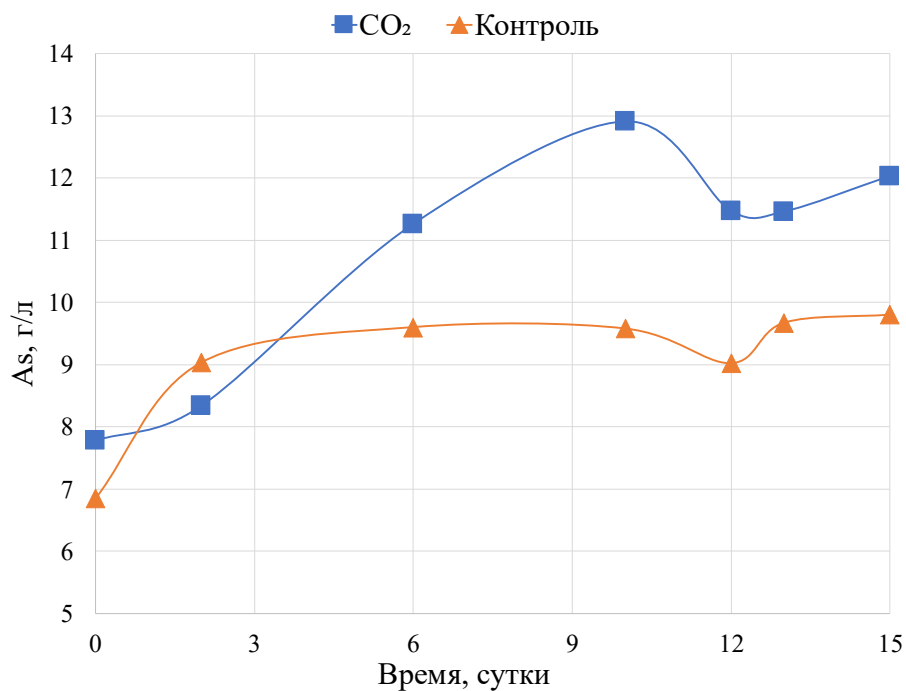


Рисунок 28 — Содержание мышьяка в жидкой фазе при повышении плотности пульпы от 1:10 до 1:5.

Параметры жидкой фазы пульпы, которые характеризуют процесс биоокисления, в контрольном реакторе в период с начала эксперимента по 9 сутки указывали на относительно высокую активность окисления сульфидных минералов. Об этом

свидетельствует такие значения параметров, как более низкий pH (Рисунок 24) и концентрация двухвалентного железа, а также более высокое содержание трехвалентного железа в растворе (Рисунок 27). Однако, далее данные параметры в контрольном реакторе претерпели резкое изменение и стали указывать на более низкую эффективность процесса, чем в реакторе с подачей CO₂. Стоит также отметить прослеживающееся постепенное линейное снижение Eh (Рисунок 25) и концентрации трехвалентного железа (Рисунок 27) в контрольном реакторе, которое наблюдалось в течение всего эксперимента, в отличие от параметров в реакторе с подачей углекислого газа, в котором параметры до и после резкого изменения на 9 сутки флуктуировали на одном уровне без выраженной динамики. Численность клеток микроорганизмов в течение всего эксперимента (Рисунок 26) оставалась более высокой в реакторе с подачей CO₂ и находилась на уровне $2,12 \pm 0,33 \cdot 10^9$ кл/мл, в то время как в контрольном реакторе средняя численность за весь период пребывания в условиях повышенной плотности пульпы — $1,51 \pm 0,42 \cdot 10^9$ кл/мл. Похожая динамика прослеживается в изменении концентрации мышьяка в растворе: при схожих показателях в начальной фазе, концентрация в реакторе с CO₂ заметно повышается относительно контрольного реактора и в период после 6 суток от изменения плотности пульпы достигла средних значений $11,83 \pm 0,60$ г/л. В контрольном же реакторе концентрация мышьяка в растворе составила в аналогичный период $9,53 \pm 0,27$ г/л. Разница в наблюдаемой концентрации мышьяка указывает на разную степень окисления арсенопирита, что, с точки зрения технологической эффективности, является ключевым параметром.

Повышение температуры с 40 до 50 °С значительно сказалось на процессах биоокисления пирита и арсенопирита как в реакторе с подачей углекислого газа, так и в контрольном реакторе (Рисунки 29 – 33).

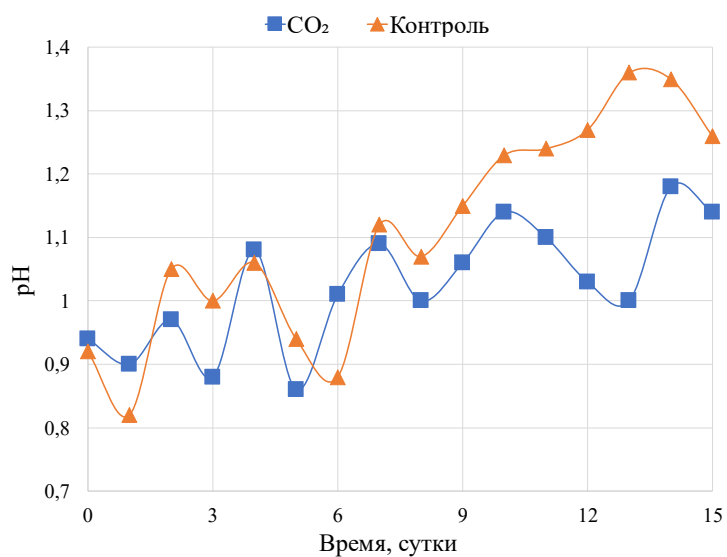


Рисунок 29 — Изменение значений pH при повышении температуры до 50 °С.

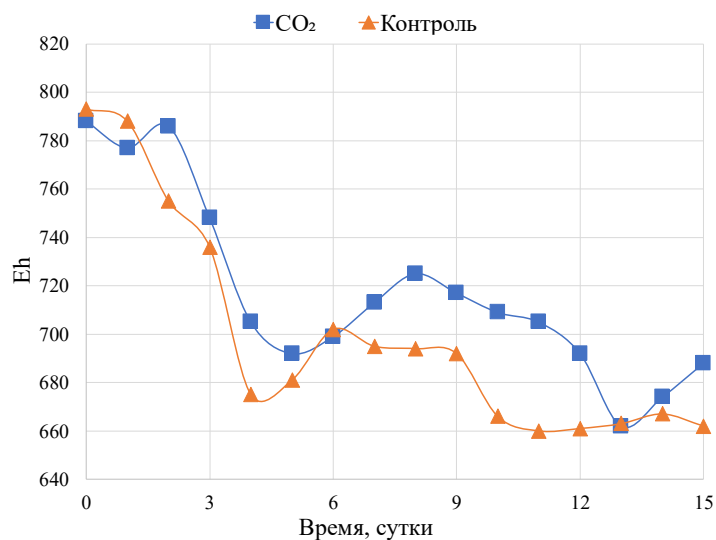


Рисунок 30 — Значения Eh при повышении температуры до 50 °С.

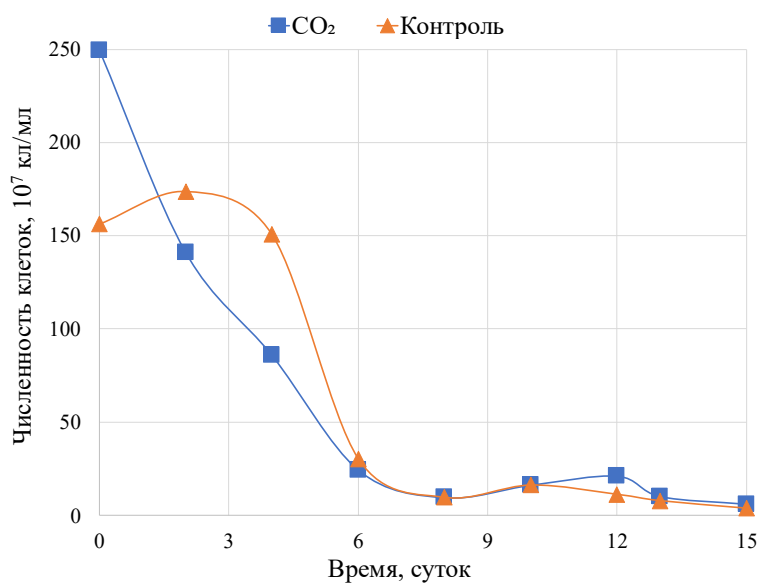


Рисунок 31 — Численность клеток при повышении температуры до 50 °С.

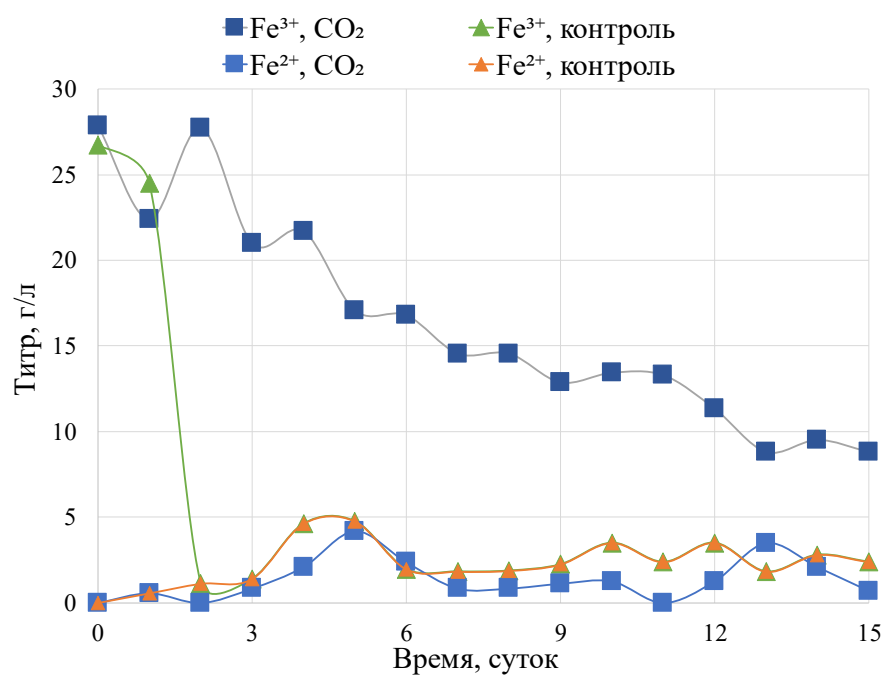


Рисунок 32 — Содержание ионов двухвалентного и трехвалентного железа в жидкой фазе при повышении температуры до 50 °С.

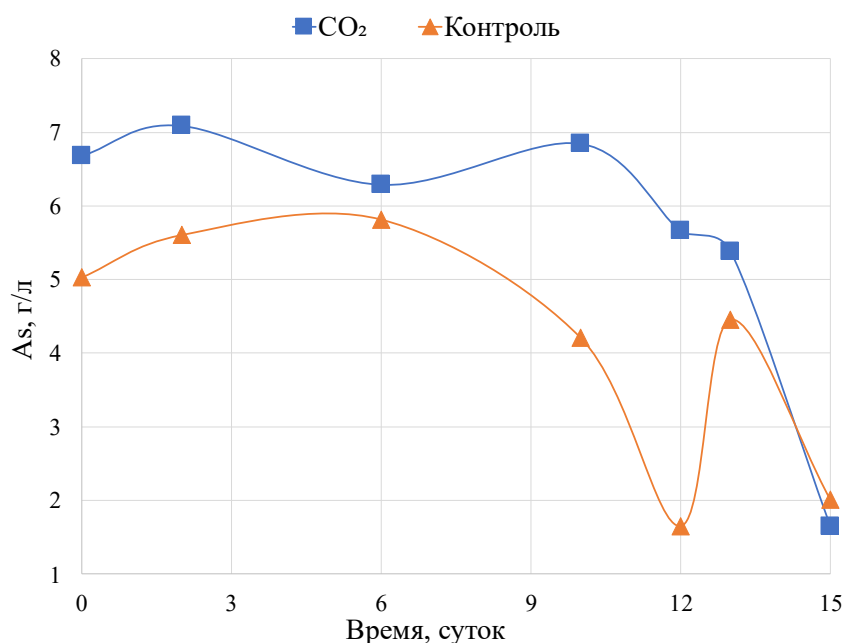


Рисунок 33 — Содержания мышьяка в жидкой фазе при повышении температуры до 50 °С.

Изменение pH в среде обоих реакторов демонстрировало постепенный линейный рост (Рисунок 29). После 7 суток от смены температурного режима значения pH пульпы контрольного реактора превысили таковые в реакторе с подачей углекислого газа. Изменение Eh также было сравнимым в обоих реакторах в течение 6 суток после начала эксперимента в стрессовых условиях, после чего Eh в реакторе с подачей CO₂ стабильно

превышал показатели в контроле (Рисунок 30). Динамика численности клеток (Рисунок 31) микроорганизмов в обоих реакторах и демонстрировала снижение, практически, на 2 порядка. Однако, в реакторе с подачей CO_2 в конечной стадии эксперимента численность клеток была немного (в 1,3 раза) выше, чем в контроле.

Значительные отличия наблюдались в динамике изменения концентрации трехвалентного железа (Рисунок 32). В контрольном реакторе содержание трехвалентного железа снизилось в 23,8 раза в течение первых двух суток биоокисления после повышения температуры до 50 °C. В реакторе с подачей углекислого газа концентрация трехвалентного железа снижалась линейно и в течение всего эксперимента при повышенной температуре оставалась кратно выше, чем в контрольном реакторе. Наблюдаемая концентрация двухвалентного железа в обоих реакторах, напротив, не имела принципиальных различий и колебалась в диапазоне от 0 до 4,2 г/л в реакторе с барботажем CO_2 и от 1,4 до 4,76 г/л в контрольном реакторе. Изменение концентрации мышьяка (Рисунок 33), хоть и имело схожую общую динамику в обоих реакторах, количественно значительно отличалось. В течение практически всего эксперимента при повышенной температуре содержание мышьяка в жидкой фазе пульпы реактора, барботируемого дополнительным диоксидом углерода, оставалось выше и составило в среднем $5,66 \pm 1,73$ г/л. В контрольном реакторе средняя концентрация свободного мышьяка составляла $4,11 \pm 1,54$ г/л.

3.1.1.2 Биоокисление сульфидных минералов в «нормальных» и «стрессовых» условиях

Сравнение массового выхода и степени окисления твердой фазы (биокека) подтверждают наблюдаемые по параметрам выщелачивания зависимости (Таблица 16). Результаты демонстрируют сходную эффективность биоокисления арсенопирита в нормальных условиях, которое во всех случаях составило более 97%. Окисление пирита, в целом, более эффективно протекало в реакторах с подачей углекислого газа, что, в целом, коррелирует с небольшим расхождением наблюдаемых параметров жидкой фазы между парами реакторов. Такой интегральный показатель, как массовый выход, т.е., масса сухого остатка биокека относительно его начальной навески, подтверждает общую схожесть эффективности процесса биоокисления при подаче CO_2 и в контроле.

Таблица 16 — Изменения твердой фазы в ходе биоокисления в нормальных и стрессовых условиях. Цитировано с изменениями по Bulaev et al., 2024b

Температура и плотность пульпы (Т : Ж)	Подача CO ₂	Массовый выход, %	Степень окисления, %	
			Арсенопирит	Пирит
40 °C, 1:10	+	60,29±0,57	97,26±0,18	81,08±0,26
40 °C, 1:10	–	60,28±2,37	97,15±0,20	74,98±0,29
40 °C, 1:5	+	65,45	89,79 ± 0,46	45,71 ± 0,54
40 °C, 1:5	–	79,40	69,93 ± 0,95	23,45 ± 0,70
50 °C, 1:10	+	68,30	63,97 ± 1,05	28,80 ± 0,59
50 °C, 1:10	–	81,70	58,63 ± 1,17	26,46 ± 0,65

Подача углекислого газа значительно повлияла на эффективность окисления минералов твердой фазы как при повышении плотности пульпы, так и при повышении температуры. При повышенной плотности пульпы степень окисления арсенопирита в реакторе с подачей CO₂ в среднем достигала 89,79%, что ниже, чем в нормальных условиях, но значимо выше, чем в контрольном реакторе (69,79%). Степень окисления пирита отличалась в 1,9 раза. Достоверность наблюдаемой степени окисления минералов подтверждается и сравнением массовых выходов (65,45% и 79,40%). Таким образом, показано, что процесс с подачей углекислого газа обеспечивает более высокую эффективность биоокисления пирита и арсенопирита при повышении плотности пульпы. Повышение температуры до 50 °C значительно сильнее угнетало процесс биоокисления арсенопирита и пирита, поэтому наблюдаемый положительный эффект от дополнительной подачи углекислого газа выражен менее значимо. Однако, на наличие данного эффекта указывают как более высокая, чем в контроле, степень окисления арсенопирита (хоть и значительно ниже, чем в нормальных условиях), так и разница в массовом выходе.

3.1.1.3 Изменение состава сообщества микроорганизмов

Изменение состава микробных сообществ оценивали индивидуально для каждого из четырех реакторов. В течение эксперимента в реакторы 1 и 3 осуществляли барботаж углекислого газа. Реакторы 2 и 4 использовали в качестве контрольной группы. Впоследствии при переходе на вторую стадию эксперимента с созданием «стрессовых условий» реакторы поделили на две группы: в реакторах 1 и 2 повысили плотность пульпы за счет увеличения навески вносимого концентрата, а в реакторах 3 и 4 повысили

температуру. Образцы биомассы для определения состава сообщества отбирали при переходе к новой стадии эксперимента. Таким образом, был определен состав популяций микроорганизмов в составе инокулята для всех реакторов, каждого из четырех реакторов по окончании эксперимента в «нормальных условиях» (режим 1) и по окончании эксперимента в «стрессовых условиях» (режим 2). Согласно методике эксперимента, изменение состава сообщества в зависимости от условий биоокисления удобнее представить в виде двух групп: реакторы 1 и 2, чтобы отследить эффект подачи углекислого газа при повышении плотности пульпы, и реакторы 3 и 4, чтобы определить эффект подачи углекислого газа при повышении температуры. Обобщенные результаты анализа микробных сообществ первой серии экспериментов представлены в Таблице 17.

Таблица 17 — Изменение состава сообщества микроорганизмов в ходе эксперимента при повышении температуры и плотности пульпы. Цитировано с изменениями по Bulaev et al., 2024b

Группа микроорганизмов	Инокулят	Окончание протока, режим 1 («нормальные условия») Т : Ж 1 : 10, 40°C				Окончание протока, режим 2 («стрессовые условия») Т : Ж 1 : 5, 40°C Т : Ж 1 : 10, 50°C			
		реактор				реактор			
		1 (CO ₂)	2 (контр)	3 (CO ₂)	4 (контр)	1 (CO ₂)	2 (контр)	3 (CO ₂)	4 (контр)
<i>Acidithiobacillus</i>	13,1	10,9	13,9	14,4	37,1	46,3	17,3	4,0	38,0
<i>Acidiferrobacter</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Acidiphilium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Sulfobacillus</i>	85,6	3,4	1,1	1,7	1,6	0,5	0,0	91,1	47,5
<i>Leptospirillum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,3	2,1
<i>Ferroplasma</i>	1,3	85,6	84,9	83,8	60,6	53,1	82,4	1,4	6,5
<i>Cuniculiplasma</i>	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0
« <i>Ca. Carboxiplitasma ferriphilum</i> »	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	2,8	0,1
Доля ацидофилов	100,0	100,0	100,0	100,0	99,9	100,0	100,0	99,8	94,3

В нормальных условиях во всех четырех реакторах наблюдалось качественное изменение сообщества, при котором относительная доля бактерий р. *Sulfobacillus* снизилась по сравнению с инокулятом и не превышала 3,4%. Во всех четырех реакторах, вне зависимости от подачи углекислого газа, в сообществе микроорганизмов доминирующую роль заняли археи р. *Ferroplasma* при относительно стабильной

постоянной доле бактерий р. *Acidithiobacillus*, которые, в среднем, составляли 19,1% от сообщества.

При повышении плотности пульпы в реакторах 1 и 2 состав сообщества обоих реакторов претерпел количественные изменения. В реакторе 1 с подачей углекислого газа доля бактерий р. *Acidithiobacillus* выросла с 10,9 до 46,3%, а доля архей *Ferroplasma* снизилась с 85,6 до 53,1%. Доля бактерий р. *Sulfobacillus* в сообществе снизилась до 0,5%. В контрольном реакторе сообщество изменилось менее выражено: бактерии р. *Sulfobacillus* были окончательно вытеснены *Acidithiobacillus* и *Ferroplasma*, соотношение которых в сообществе осталось практически неизменным.

Повышение температуры привело к более выраженному изменению сообщества микроорганизмов. На фоне значительного общего снижения численности клеток, доля ацидофильных микроорганизмов в сообществах изменилась: в реакторе с CO₂ она составляла почти 100% сообщества, а в контрольном — 94,3%. Это различие может быть обусловлено развитием гетеротрофной микробиоты на фоне высокой концентрации органических веществ, которые образовались при лизисе клеток. При подаче CO₂ наблюдали более низкую относительную представленность *Acidithiobacillus* и *Ferroplasma*, а доминирующую роль в сообществе заняли миксотрофные бактерии рода *Sulfobacillus*. Среди минорных представителей сообщества значимую долю (2,8%) занимали некультивируемые археи «*Ca. Carboxiplasma ferriphilum*» семейства *Thermoplasmataceae*. В контрольном реакторе при повышении температуры доля *Sulfobacillus* так же выросла, однако, в сообществе 38% последовательностей генов 16S рРНК принадлежали бактериям р. *Acidithiobacillus*. В сообществе также присутствовали археи *Ferroplasma* и бактерии р. *Leptospirillum*, которые, преимущественно, являются мезофилами.

В популяциях встречались минорные группы ацидофильных бактерий родов *Acidiferrobacter* и *Acidiphilium*, способных окислять двухвалентное железо и соединения серы (*Acidiferrobacter*), а также способные к восстановлению трехвалентного железа (*Acidiphilium*) (Malik & Hedrich, 2022) в анаэробных условиях. Также встречались гетеротрофные археи р. *Cuniculiplasma* с относительной долей в сообществе до 0,3%.

3.1.2 Влияние CO₂ при снижении времени пребывания пульпы в реакторе

Во второй серии экспериментов с пирит-арсенопиритным концентратом исследовали эффект, который оказывает дополнительная подача диоксида углерода при снижении времени пребывания пульпы в реакторах с 5 суток до 3 суток.

3.1.2.1 Динамика параметров жидкой фазы

В течение экспериментов как в периодическом, так и в непрерывном режимах динамика параметров жидкой фазы изменялась следующим образом (Рисунки 34 и 35).

Изменение параметров жидкой фазы на начальной стадии эксперимента в периодическом режиме биоокисления в реакторах с подачей диоксида углерода и контрольных реакторах имело небольшие количественные различия, но, в целом, демонстрировало схожие тенденции и привело к достижению концентрации трехвалентного железа более 25 г/л к 22 суткам эксперимента. При этом интенсивное окисление двухвалентного железа в реакторах с подачей CO₂ наблюдалось уже на 11 сутки (Рисунок 34), в то время как в контрольных реакторах на 14 – 15 сутки (Рисунок 35). При переходе к непрерывному режиму биоокисления при времени пребывания пульпы 5 суток в контрольном (Рисунок 35а) и барботируемом CO₂ (Рисунок 34а) реакторах наблюдалась сопоставимая динамика изменения концентрации железа и мышьяка, а также численности клеток микроорганизмов. Однако, при сниженном времени пребывания в контрольном реакторе (Рисунок 35б) наблюдались более низкие значения всех параметров жидкой фазы, чем в реакторе с дополнительной подачей диоксида углерода (Рисунок 34б), в котором снижение времени пребывания не оказало значимого эффекта.

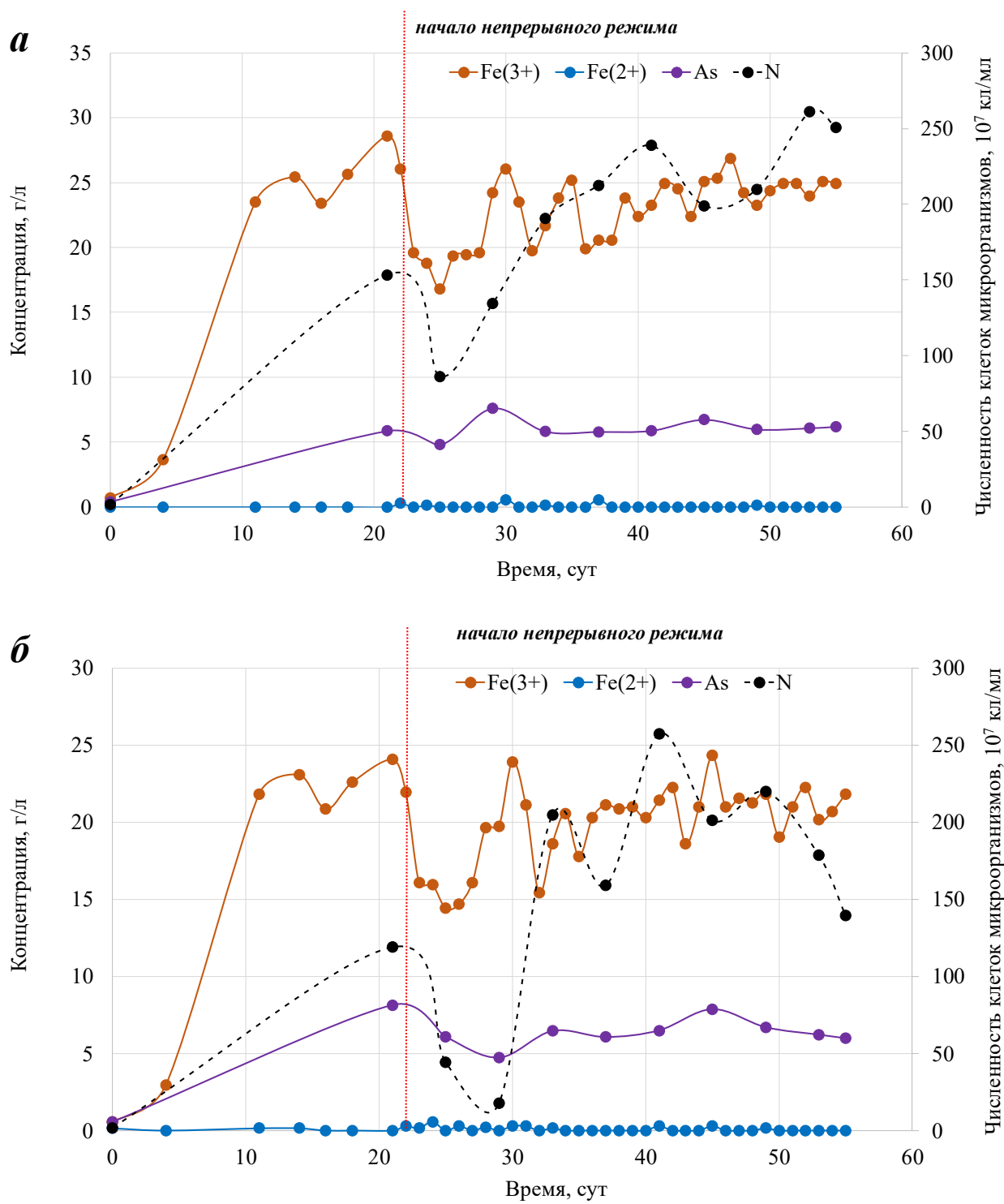


Рисунок 34 — Изменение параметров жидкой фазы в реакторах с подачей CO_2 с временем пребывания 5 суток (**а**) и 3 суток (**б**). Цитировано с изменениями по Diubar et al., 2024

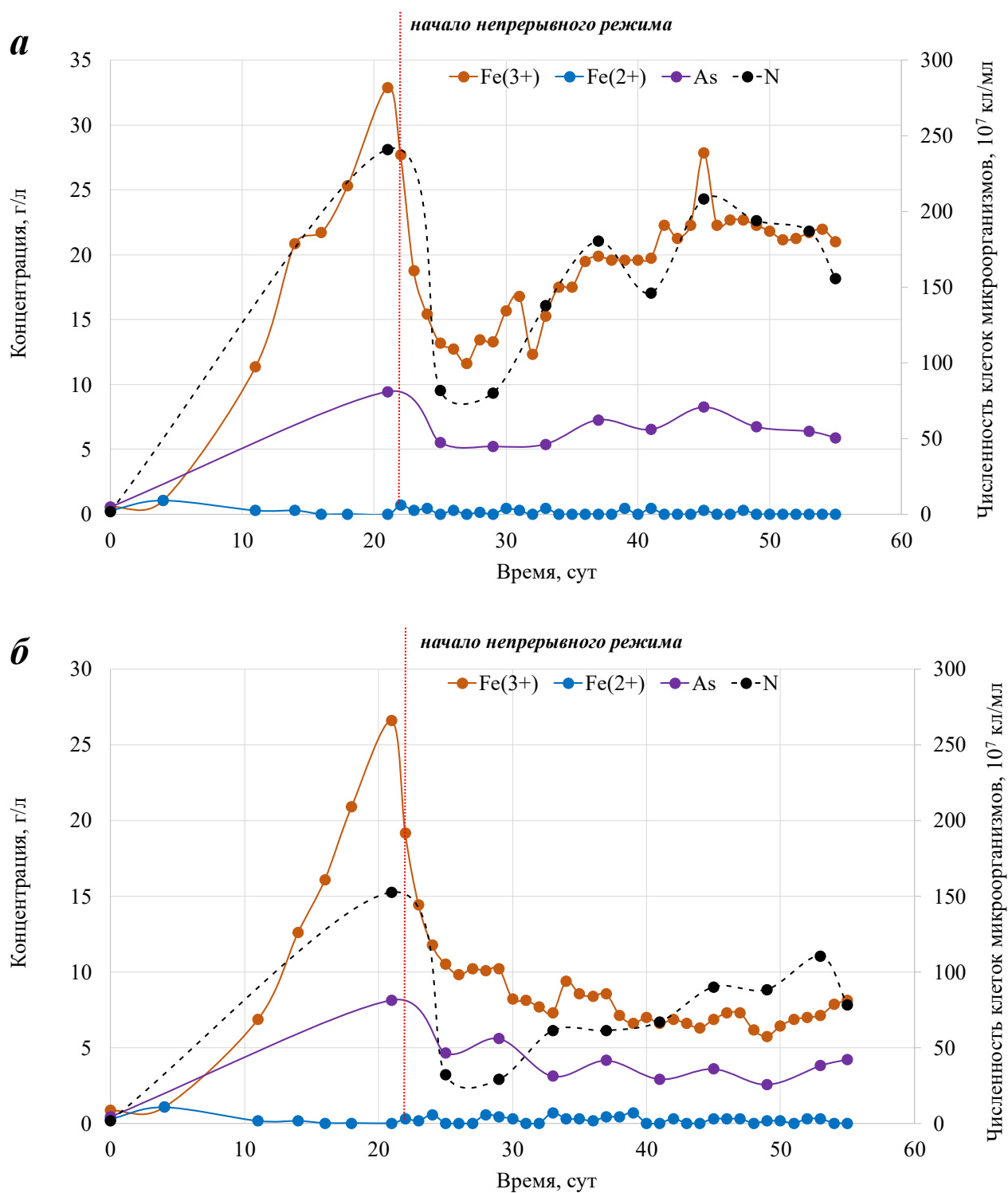


Рисунок 35 — Изменение параметров жидкой фазы в контрольных реакторах с временем пребывания 5 суток (*а*) и 3 суток (*б*). Цитировано с изменениями по Diubar et al., 2024

3.1.2.2 Биоокисление сульфидных минералов при изменении времени пребывания в реакторах биоокисления

Результат анализов твердых осадков позволил подтвердить наблюдаемые при анализе жидкой фазы тенденции (Таблица 18).

Таблица 18 — Изменение параметров твердой фазы при биоокислении пирит-арсенопиритного концентрата при снижении времени пребывания. Цитировано с изменениями по Diubar et al., 2024

Вариант эксперимента		Массовый выход, %	Окисление сульфидной серы (S_s), %	Окисление сульфидных минералов, %	
				Пирит	Арсенопирит
Время пребывания – 5 сут	контроль	53,5	65,9	64,2±0,4	95,9±0,1
	CO ₂	51,8	71,7	72,2±0,3	97,0±0,1
Время пребывания – 3 сут	контроль	82,5	15,7	11,2±0,5	71,8±0,1
	CO ₂	54,0	55,8	57,4±0,4	95,3±0,1

Было установлено, что степень окисления арсенопирита была близка в обоих реакторах при проведении биоокисления со временем пребывания 5 суток, а также при проведении биоокисления на протяжении 3 суток и использовании CO₂. В эксперименте со временем пребывания 3 суток и без использования дополнительного диоксида углерода степень окисления арсенопирита была значительно ниже (на 23 – 25%). Так как пирит более устойчив к биоокислению по сравнению с арсенопиритом, то и степень его окисления была ниже во всех вариантах эксперимента, кроме того, она в большей степени различалась в разных вариантах эксперимента. Использование CO₂ позволило увеличить степень окисления пирита в эксперименте при времени пребывания 5 суток (~ в 1,12 раза), тогда как уменьшение времени пребывания в контроле без добавления углекислого газа привело к снижению степени окисления пирита в 5,7–6,4 раза. Степень окисления пирита в эксперименте при времени пребывания 3 суток и использовании диоксида углерода была ниже, чем при биоокислении в течение 5 суток, тем не менее, она была выше в 5,1 раза, чем в контроле.

3.1.2.3 Влияние CO₂ на состав популяций микроорганизмов в биореакторе

По окончании биоокисления в периодическом режиме, в ходе которого наращивали численность клеток в контрольных реакторах (2 и 4) и реакторах с подачей CO₂ (1 и 3), состав сообществ ацидофильных микроорганизмов изменился (Таблица 19).

Таблица 19 — Изменение состава популяций в контрольных (2 и 4) и барботируемых CO₂ (1 и 3) реакторах по окончании периодического режима биоокисления

Группа микроорганизмов	Инокулят	Реактор 1, CO ₂	Реактор 2	Реактор 3, CO ₂	Реактор 4
<i>Acidithiobacillus</i>	26,64	3,29	2,58	13,54	20,11
<i>Sulfobacillus</i>	38,76	3,88	1,71	2,27	3,26
<i>Leptospirillum</i>	19,67	0,12	13,82	0,52	22,72
<i>Ferroplasma</i>	13,25	12,79	43,15	29,35	31,49
<i>Cuniculiplasma</i>	1,16	78,55	23,53	52,13	19,69
« <i>Ca. Carboxiplasma ferriphilum</i> »	0,34	0,24	13,15	0,57	1,69
<i>Thermoplasmata uncultured</i>	0,03	0,01	0,91	0,06	0,14
Ацидофильные микроорганизмы	99,84	98,88	98,84	98,44	99,11
Прочие микроорганизмы	0,16	1,12	1,16	1,56	0,89

При анализе микробных сообществ было показано, что в периодическом режиме изменились количественные соотношения между членами микробного сообщества по сравнению с инокулятом. Возросла доля гетеротрофной археи *Cuniculiplasma*, что свидетельствует о присутствии достаточного для поддержания ее численности органического вещества в условиях бедной минеральной среды без дополнительных источников органического углерода. В реакторах без дополнительного CO₂ увеличилась представленность *Leptospirillum*, а при добавлении углекислого газа – архей р. *Ferroplasma*. В одном из контрольных реакторов также была значительна доля некультивируемых архей “*Ca. Carboxiplasma ferriphilum*” (A-plasma).

При переходе к непрерывному режиму культивирования состав популяций микроорганизмов в реакторах с временем пребывания 5 суток и в реакторе с временем пребывания пульпы 3 суток с дополнительной подачей диоксида углерода не имел

качественных различий между собой, в то время как состав консорциума в контрольном реакторе со сниженным временем пребывания пульпы отличался (Таблица 20).

Таблица 20 — Изменение состава популяций в контрольных (2 и 4) и барботируемых CO₂ (1 и 3) реакторах по окончании непрерывного режима биоокисления. Представлены средние значения полученных при анализе образцов, отобранных на 49 и 55 сутки эксперимента.

Группа микроорганизмов	Реактор 1, проток 5 сут, CO ₂	Реактор 2, проток 5 сут	Реактор 3, проток 3 сут, CO ₂	Реактор 4, проток 3 сут
<i>Acidithiobacillus</i>	17,26±4,38	18,58±4,31	16,84±3,88	43,57±3,73
<i>Sulfobacillus</i>	16,93±0,72	17,83±2,16	21,02±2,34	45,80±0,4
<i>Leptospirillum</i>	0,21±0,00	1,54±0,43	0,16±0,05	8,51±2,59
<i>Ferroplasma</i>	63,37±2,97	61,55±1,45	61,56±1,8	0,22±0,21
<i>Cuniculiplasma</i>	1,39±0,76	0,13±0,05	0,20±0,09	0,32±0,09
« <i>Ca. Carboxiplasma ferriphilum</i> »	0,53±0,08	0,23±0,14	0,11±0,09	1,05±0,73
<i>Thermoplasmata uncultured</i>	0,18±0,04	0,07±0,07	0,03±0,01	0,00±0,00
Ацидофильные микроорганизмы	99,86±0,05	99,93±0,01	99,93±0,01	99,46±0,31
Прочие микроорганизмы	0,14±0,05	0,07±0,01	0,07±0,01	0,54±0,31

Микробное сообщество претерпело изменения в процессе биоокисления при изменении условий. В контроле уменьшение времени пребывания привело к двукратному снижению общего количества микробных клеток (Рис. 34 и 35). При использовании CO₂ общее количество клеток было выше в обоих вариантах эксперимента, чем в реакторах, в которые не подавался дополнительный диоксид углерода, и отличалось незначительно (в ~1,2 раза). В контроле при времени пребывания 5 суток, преобладали бактерии родов *Acidithiobacillus* и *Sulfobacillus*, а также археи рода *Ferroplasma*. При внесении дополнительного углекислого газа состав популяций незначительно различался при данном времени пребывания.

Уменьшение времени пребывания пульпы приводило к элиминации архей рода *Ferroplasma* и увеличению доли бактерий рода *Leptospirillum*. Представители родов *Acidithiobacillus*, *Sulfobacillus* и *Ferroplasma* сохранили в популяции свою относительную долю в обоих реакторах со временем пребывания пульпы при 5 суток и 3 суток при подаче дополнительного углекислого газа.

3.1.3 Обсуждение полученных результатов

В эксперименте по оценке влияния стрессовых воздействий на биоокисление пирит-арсенопиритного концентрата были проанализированы как скорость биоокисления арсенопирита и пирита по анализу жидкой и твердой фаз, так и изменение состава микробного сообщества. Сравнение полученных результатов с опубликованными в предыдущих статьях о биоокислении пиритно-арсенопиритового концентрата позволяет лучше понять закономерности биоокисления золотосодержащих сульфидных концентратов. Кроме того, были получены новые результаты о влиянии источника углерода на биоокисление пирита и арсенопирита в непрерывном режиме (Таблица 21).

Таблица 21 — Общая таблица изменения твердой фазы в ходе биоокисления в нормальных и стрессовых условиях в непрерывном режиме

Т, Т : Ж и RT	Подача CO ₂	Массовый выход, %	Степень окисления, %	
			Арсенопирит	Пирит
40 °C, 1 : 10, 5 сут.	+	55,99	97,14	78,29
40 °C, 1 : 10, 5 сут.	-	56,88	96,52	70,39
40 °C, 1 : 5, 5 сут.	+	65,45	89,79	45,71
40 °C, 1 : 5, 5 сут.	-	79,40	69,93	23,45
50 °C, 1 : 10, 5 сут.	+	68,30	63,97	28,8
50 °C, 1 : 10, 5 сут.	-	81,70	58,63	26,46
40 °C, 1 : 10, 3 сут.	+	54,5	95,26	57,36
40 °C, 1 : 10, 3 сут.	-	83,50	71,77	11,24

В работе (Bulaev et al., 2023) изучали влияние CO₂ на биоокисление пирит-арсенопиритного концентрата при различных температурах (40, 45 и 50 °C). Повышение температуры приводило к снижению интенсивности биоокисления, что является проблемой для промышленных установок, поскольку значительная часть эксплуатационных затрат связана с охлаждением реакторов (van Aswegen, 2007). Применение дополнительного диоксида углерода позволило предотвратить ингибирование биоокисления в предыдущих экспериментах, что расходится с полученными результатами. Это может быть объяснено тем, что в предыдущей работе происходила предварительная адаптация микробного сообщества в периодическом режиме при повышении температуры (Bulaev et al., 2023). Несмотря на это, в данной работе подача CO₂ обеспечивала более медленное снижение активности биоокисления (Рисунки 29 – 33). Это позволяет предположить, что в случае кратковременного

повышения температуры, вызванного, например, отказом системы охлаждения или повышения температуры окружающей среды, дополнительная подача углекислого газа в биореактор с высокой вероятностью позволит избежать ингибирования окислительной активности микроорганизмов.

В работе мы определили, что CO_2 , используемый в качестве дополнительного источника углерода, позволяет снизить эффект ингибирования биоокисления, вызванный увеличением плотности пульпы в 2 раза (Рисунки 24 – 28). В этом случае удалось достичь высокой скорости окисления арсенопирита (89,8%). В нашем предыдущем исследовании мы показали, что для исследуемого концентрата окисление арсенопирита имеет решающее значение для дальнейшего извлечения золота, в то время как скорость окисления пирита влияет на извлечение золота в меньшей степени (Bulaev et al., 2023). Схожие результаты были получены и при снижении времени пребывания пульпы в реакторах при подаче диоксида углерода (Рисунки 34 – 35). Увеличение скорости потока напрямую влияет на продуктивность процесса биоокисления, так как данная стадия является лимитирующей.

Исследование состава популяций микроорганизмов показало схожий тренд качественного сохранения состава сообщества при эффективном биоокислении. Состав популяций микроорганизмов, сформировавшихся в ходе непрерывных процессов биоокисления при наличии всех трех негативных факторов воздействия, отображен на Рисунке 36.

Различия в типе углеродного питания ацидофильных микроорганизмов, окисляющих сульфидные минералы, приводят к межвидовым взаимодействиям в микробной популяции, осуществляющей биоокисление руд и концентратов. Например, было показано, что в природных экосистемах, связанных с биоокислением сульфидных минералов, автотрофные ацидофилы (*Acidithiobacillus*, *Leptospirillum*) могут продуцировать органические соединения и обеспечивать рост гетеротрофных ацидофилов, таких как *Ferroplasma* (Druschel et al., 2004; González-Toril et al., 2003). Эксперименты по биоокислению пирита смешанными культурами различных видов автотрофных и миксотрофных ацидофилов продемонстрировали важность этих межвидовых взаимодействий для окисления сульфидных минералов.

В работах (Bulaev, 2020; Okibe & Johnson, 2004) были показаны роли мутуалистических взаимодействий между различными ацидофилами, в которых

автотрофный микроорганизм (*At. caldus*) выступал в роли продуцента органических веществ, что качественно влияло на способность смешанных культур с миксотрофной бактерией *S. thermosulfidooxidans* VKMB1269^T и гетеротрофом *Acidimicrobium ferrooxidans* окислять пирит, который ни один из этих микроорганизмов не был способен стабильно окислять в монокультуре.

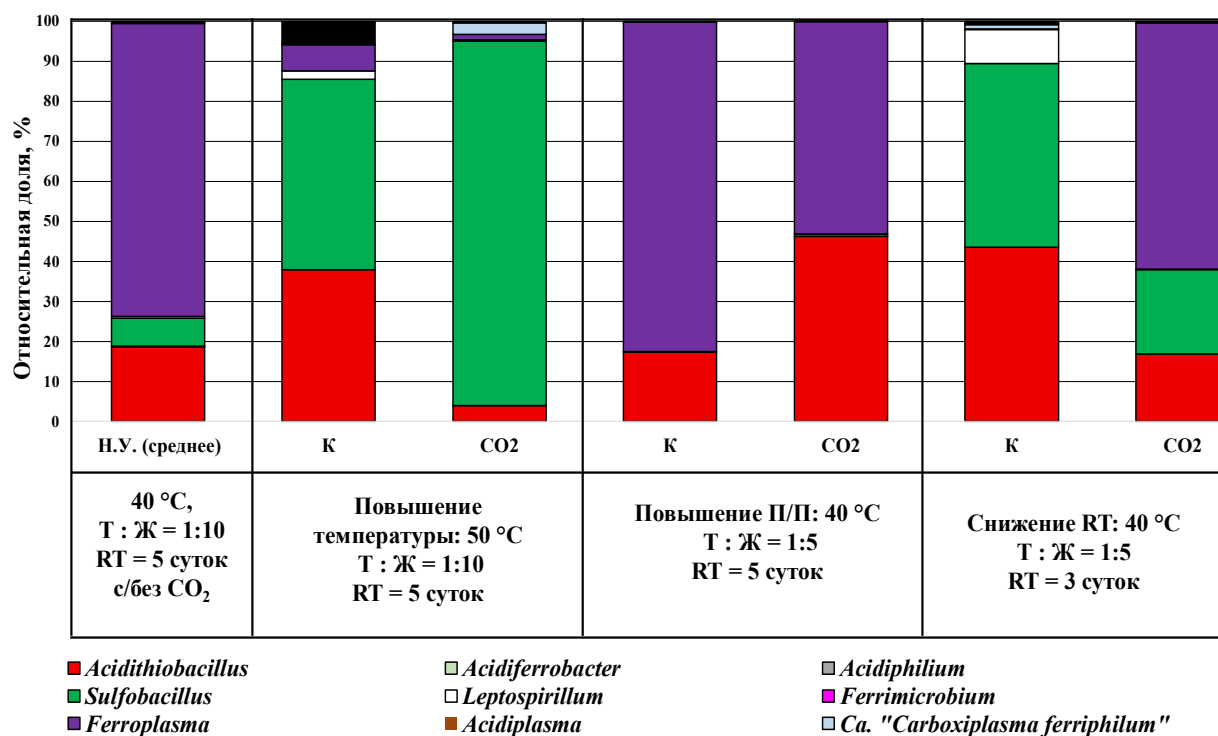


Рисунок 36 — Сводная диаграмма популяций ацидофильных микроорганизмов, сформировавшихся в ходе непрерывного процесса биоокисления в «нормальных» и «стрессовых» условиях при подаче CO₂.

Таким образом, взаимодействия между различными видами микроорганизмов, а именно фиксация неорганического углерода и выработка органического вещества автотрофами и потребление органических соединений миксо- и гетеротрофами, могут играть решающую роль в биоокислении минералов (Okibe & Johnson, 2004). Этот факт позволяет предположить, что CO₂ может быть единственным источником углерода, обеспечивающим жизнедеятельность популяций микроорганизмов, осуществляющих биоокисление сульфидных руд и концентратов, которые включают миксотрофные и гетеротрофные виды.

В работе (MacLean et al., 2024) изучалось влияние концентрации CO₂ на рост нескольких видов ацидофилов, включая *S. thermosulfidooxidans*, *S. acidophilus*, *At.*

ferrooxidans и *At. caldus*. Было показано, что рост изученных штаммов рода *Sulfobacillus* зависел от концентрации CO₂ в воздухе в большей степени, чем у штаммов рода *Acidithiobacillus*. Дополнительная подача CO₂ также способствовала более высокой скорости роста, окисления серы и двухвалентного железа представителями р. *Sulfobacillus*. Таким образом, рост и способность некоторых видов ацидофилов к биологическому окислению железа и серы часто зависят от лимитирования по CO₂.

Результаты анализа микробной популяции, полученные в этой работе, показали, что увеличение плотности пульпы не привело к качественным изменениям в составе микробной популяции, но доля бактерий рода *Acidithiobacillus* увеличилась по сравнению с “нормальными условиями” и в контрольном реакторе, что может быть объяснено зависимостью роста данных автотрофов от подачи CO₂. Напротив, повышение температуры привело к значительному изменению состава микробной популяции. В этом случае подача CO₂ привела к увеличению доли бактерий рода *Sulfobacillus*. Этот факт соответствует результатам, показанным в наших предыдущих работах (Bulaev et al., 2023; Bulaev et al., 2024a), когда подача CO₂ и повышение температуры привели к увеличению доли умеренно-термофильных сульфобацилл в популяции.

Таким образом, практическая значимость и новизна результатов, полученных в настоящей работе, заключаются в следующем:

1. Применение дополнительной подачи диоксида углерода позволяет вдвое снизить негативный эффект от повышения плотности пульпы и при сокращении времени ее пребывания в биореакторе с 5 до 3 суток. Это обеспечивает рост продуктивности процессов биоокисления в 2,0 и 1,67 раза соответственно. Динамика показателей жидкой фазы при нагреве до 50 °C указывает на то, что введение диоксида углерода обеспечивает более высокую стабильность системы по сравнению с контрольным образцом.

2. Анализ структуры микробных популяций, сформировавшихся после изменения условий культивирования, выявил закономерности, согласующиеся с известными данными о свойствах исследуемых микроорганизмов. Стабильное биоокисление арсенопирита и умеренное снижение интенсивности выщелачивания пирита при возникновении стрессовых факторов соответствует сохранению качественного состава сообщества ацидофилов, полученного при «нормальных» условиях. В то же время существенное падение скорости биоокисления сульфидных

минералов при повышении температуры и увеличении скорости потока сопровождается резкой перестройкой структуры микробного сообщества.

3.2 Биоокисление полиметаллического мышьяк-содержащего сульфидного концентрата

Полученные в ходе первой стадии экспериментов результаты показали, что внесение дополнительных источников углерода в среду в разной степени повлияло на процесс биовыщелачивания при 45 и 55 °С. В свою очередь, во второй части экспериментов показано, что температура, присутствие углекислого газа и хлорид-иона влияли на извлечение меди и цинка, а также на состав микробной популяции биореакторов.

3.2.1 Биовыщелачивание меди и цинка из полиметаллического концентрата с применением мелассы и диоксида углерода

Эксперимент проводили при температурах 45 и 55 °С в периодическом и непрерывном режимах. В ходе эксперимента анализировали параметры жидкой фазы (рН, Eh, содержание катионов Fe^{2+} и Fe^{3+} , а также концентрации меди и цинка), по которым рассчитывали извлечение металлов из концентрата.

3.2.1.1 Динамика параметров жидкой фазы при 45 °С

В периодическом режиме при температуре 45 °С динамика параметров жидкой фазы выражено зависела от наличия дополнительного источника углерода. Окисление пирита микроорганизмами протекало значительно быстрее в присутствии мелассы, в то время как подача углекислого газа показала меньшую скорость снижения значений рН, чем в контрольном реакторе (Рисунок 37). Рост Eh вследствие постепенного окисления двухвалентного железа до трехвалентного во всех реакторах с дополнительными источниками углерода происходил быстрее, чем в контрольном реакторе (Рисунок 38). Динамика концентрации трехвалентного железа изменялась схожим с Eh образом. Концентрация двухвалентного железа снижалась обратно пропорционально росту концентрации Fe^{3+} , что указывает на процесс окисления двухвалентного железа микроорганизмами (Рисунок 39).

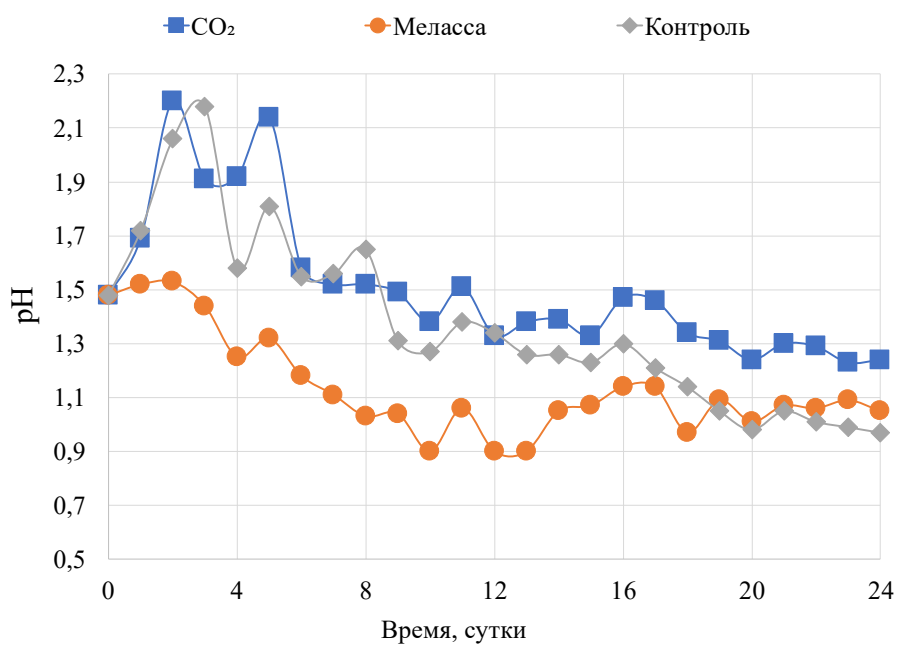


Рисунок 37 — Динамика изменения рН в течение выщелачивания в периодическом режиме при 45 °С.

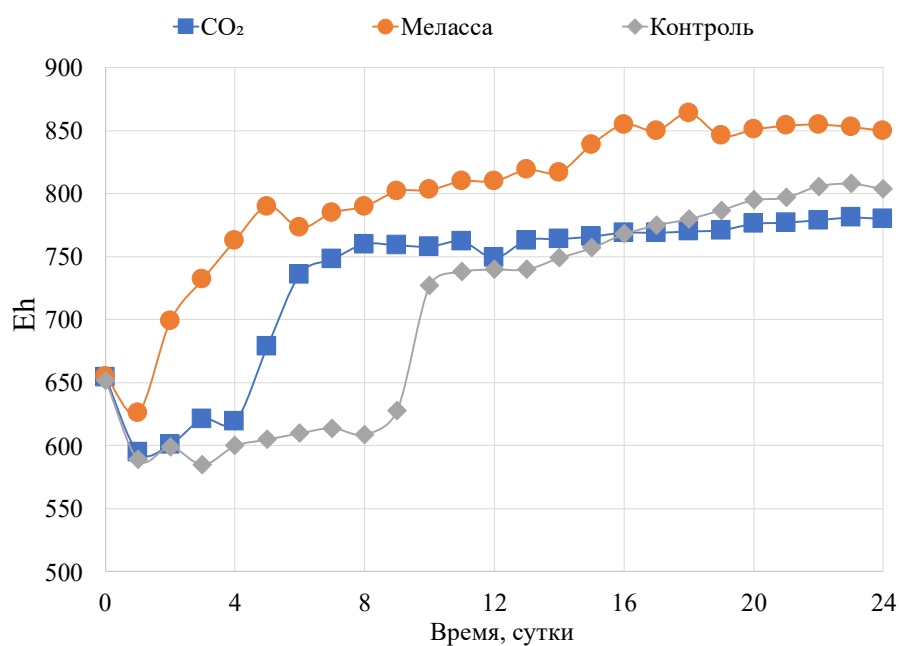


Рисунок 38 — Динамика изменения Eh в течение выщелачивания в периодическом режиме при 45 °С.

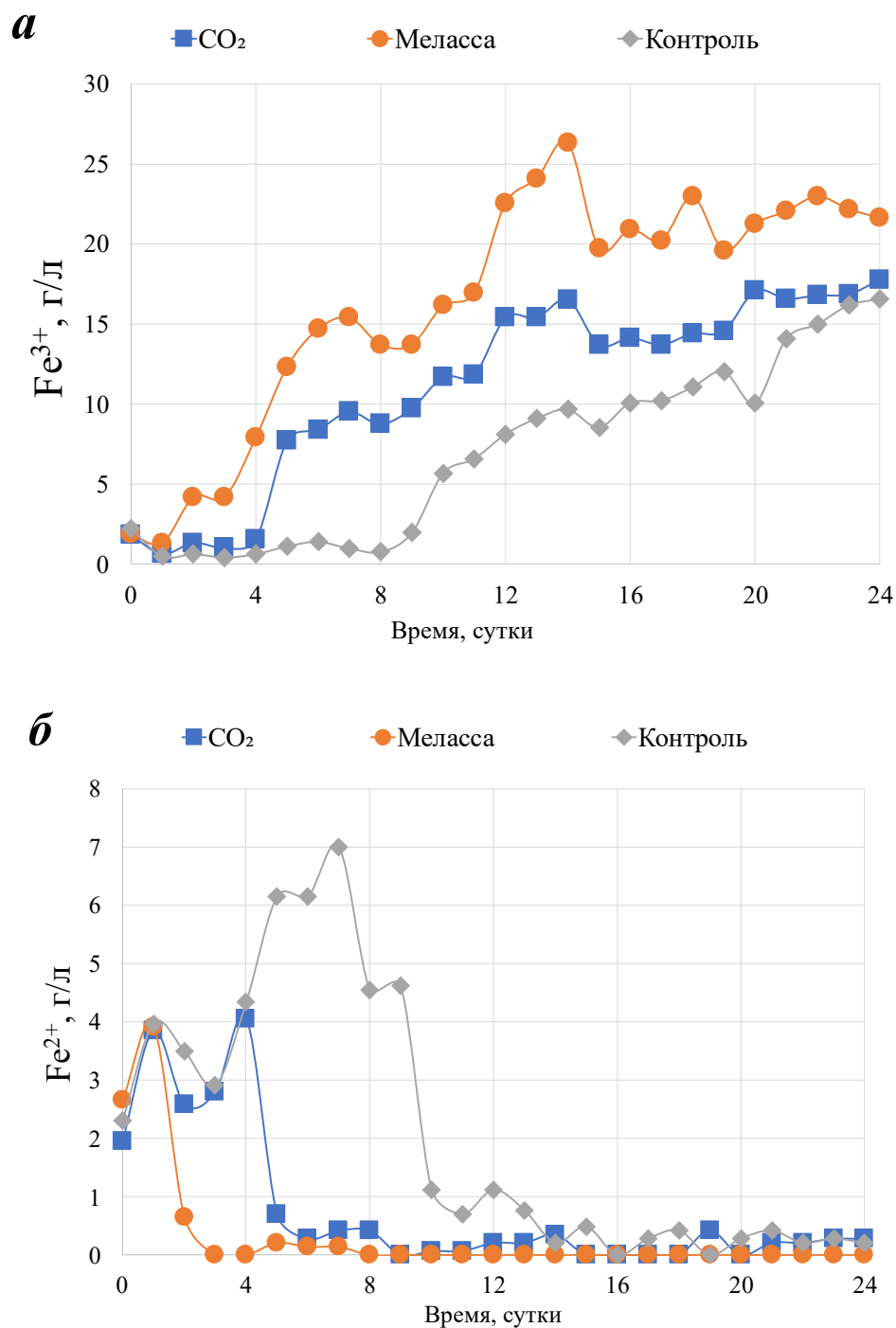


Рисунок 39 — Динамика изменения содержания ионов трехвалентного (**а**) и двухвалентного (**б**) железа в периодическом режиме при 45 °С.

Численность клеток микроорганизмов, однако, значительно отличалась между реакторами. При общей начальной численности 10^8 кл/мл к концу эксперимента в периодическом режиме при 45 °С в контрольном реакторе и реакторе с внесением мелассы численность клеток составила $1,5 \cdot 10^9$ и $2,1 \cdot 10^9$ кл/мл, соответственно, а в реакторе с подачей углекислого газа — $1,7 \cdot 10^8$ кл/мл. Однако, несмотря на отличие в

численности клеток от остальных реакторов на порядок, параметры жидкой фазы в реакторе с подачей CO_2 свидетельствовали о протекающем процессе окисления минералов концентрата.

На следующем этапе эксперимента от периодического режима, продолжавшегося 25 суток, перешли к непрерывному режиму выщелачивания. В ходе эксперимента наблюдаемые значения pH во всех трех реакторах находились на сопоставимом уровне в диапазоне от 0,9 до 1,25 (Рисунок 40).

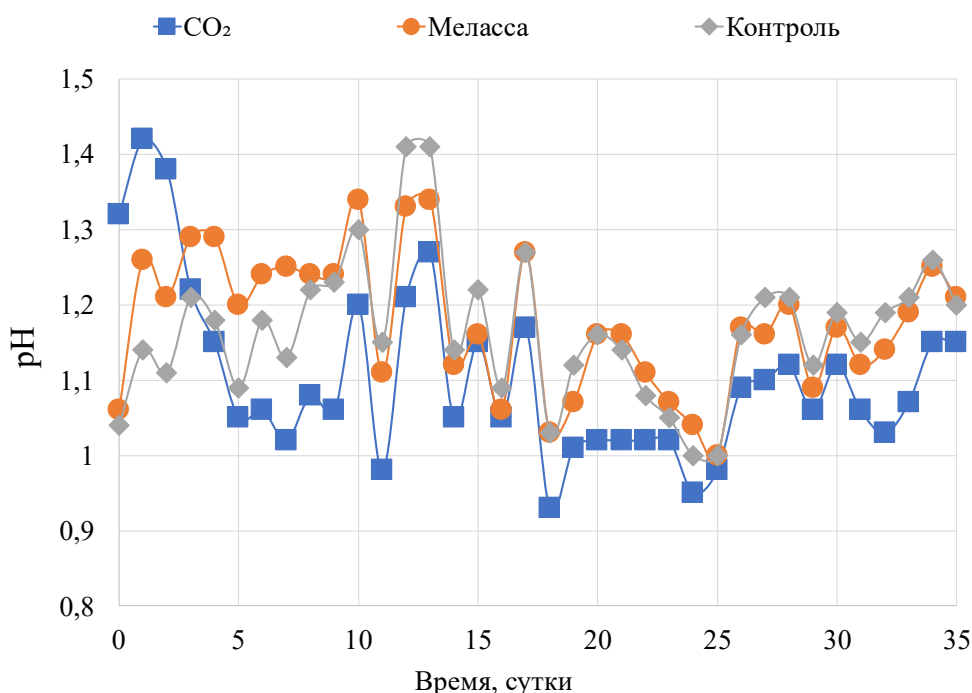


Рисунок 40 — Значения pH жидкой фазы пульпы в течение выщелачивания в непрерывном режиме при 45 °С.

Для поддержания pH в ходе эксперимента не вносили серную кислоту — снижение pH было обусловлено окислением сульфидных минералов с образованием серной кислоты во всех трех реакторах. Изменение pH в реакторе с подачей CO_2 качественно отличалось от наблюдаемой динамики в периодическом режиме: кислотность среды находилась на стабильно более высоком уровне, чем в контрольном реакторе и реакторе с добавлением мелассы.

Более активное окисление минералов концентрата в реакторе с подачей углекислого газа подтверждается и более высоким окислительно-восстановительным потенциалом, наблюдаемым в ходе непрерывного режима выщелачивания (Рисунок 41).

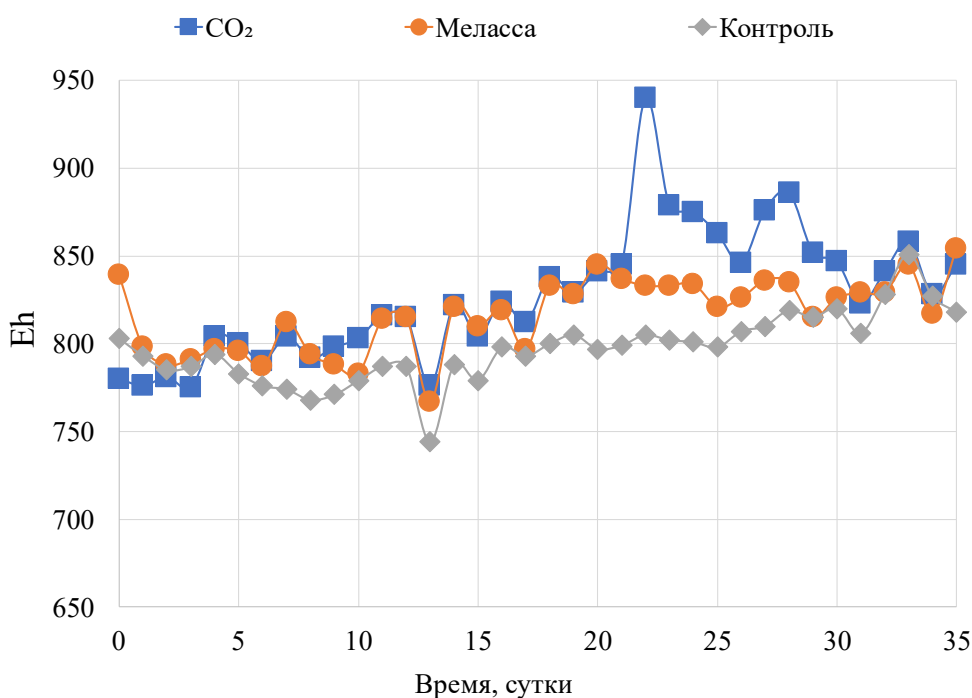


Рисунок 41 — Значения Eh жидкой фазы пульпы в течение выщелачивания в непрерывном режиме при 45 °С.

В реакторе с подачей мелассы Eh был выше, чем в контрольном реакторе. Во всех реакторах наблюдался рост окислительно-восстановительного потенциала по мере продолжения эксперимента. Это свидетельствует о протекающей адаптации смешанной культуры микроорганизмов, которая позволила более эффективно производить окисление сульфидных минералов концентрата. В период от 30 до 35 суток непрерывного режима выщелачивания Eh во всех реакторах выравнился и поддерживался в диапазоне от 800 до 850 мВ.

Численность клеток микроорганизмов в непрерывном режиме выщелачивания в реакторе с добавлением CO₂ линейно росла. Уже к 5 суткам от начала протока численность клеток достигла показателей контрольного реактора, а к 15 суткам превысила численность клеток в реакторе с добавлением мелассы. В остальных реакторах численность клеток резко снижалась после начала непрерывного режима, однако, впоследствии так же выросла (Рисунок 42).

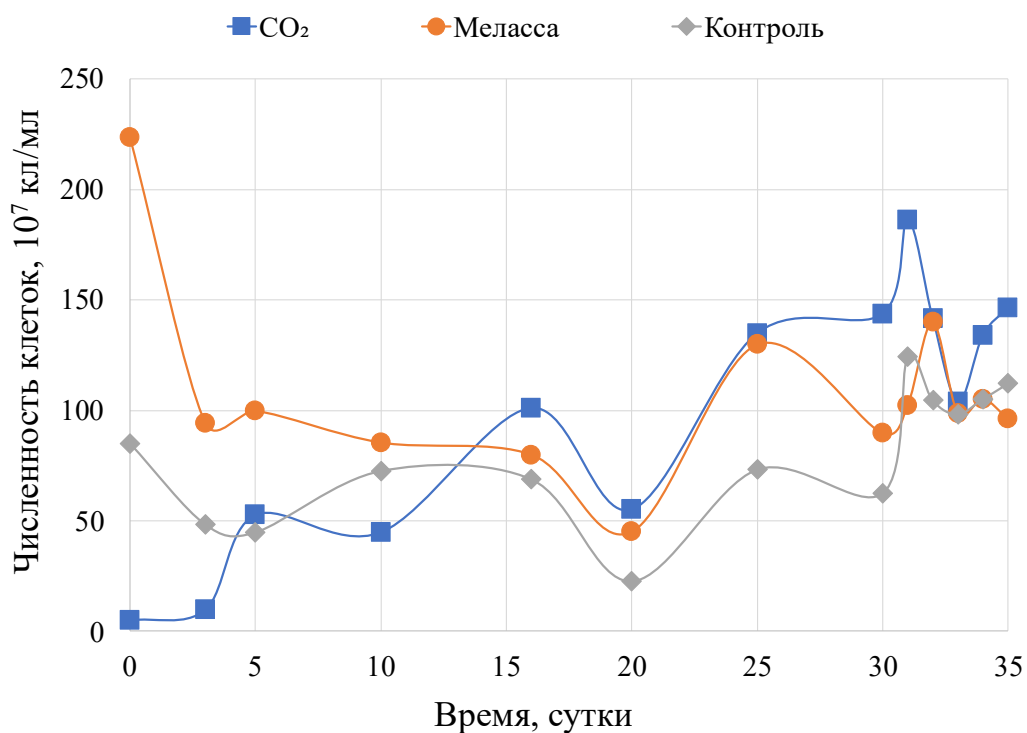


Рисунок 42 — Динамика численности клеток в течение выщелачивания в непрерывном режиме при 45 °С.

Изменения Eh сопровождались схожими изменениями концентраций ионов трехвалентного и двухвалентного железа. В ходе эксперимента в непрерывном режиме при температуре 45 °С концентрация трехвалентного железа имела положительный линейный тренд, наиболее явно прослеживаемый в реакторах с подачей углекислого газа и в контрольном реакторе. Также концентрация трехвалентного железа при подаче CO₂ в жидкой фазе пульпы была выше, чем в реакторах с добавлением мелассы и контрольном реакторе, начиная с 15 суток от начала непрерывного режима выщелачивания. Содержание двухвалентного железа в растворе, в целом, в ходе всего эксперимента в непрерывном режиме оставалось на низком уровне в диапазоне от 0 до 0,42 г/л, что свидетельствует о высокой метаболической активности железоокисляющих микроорганизмов в реакционной среде (Рисунок 43).

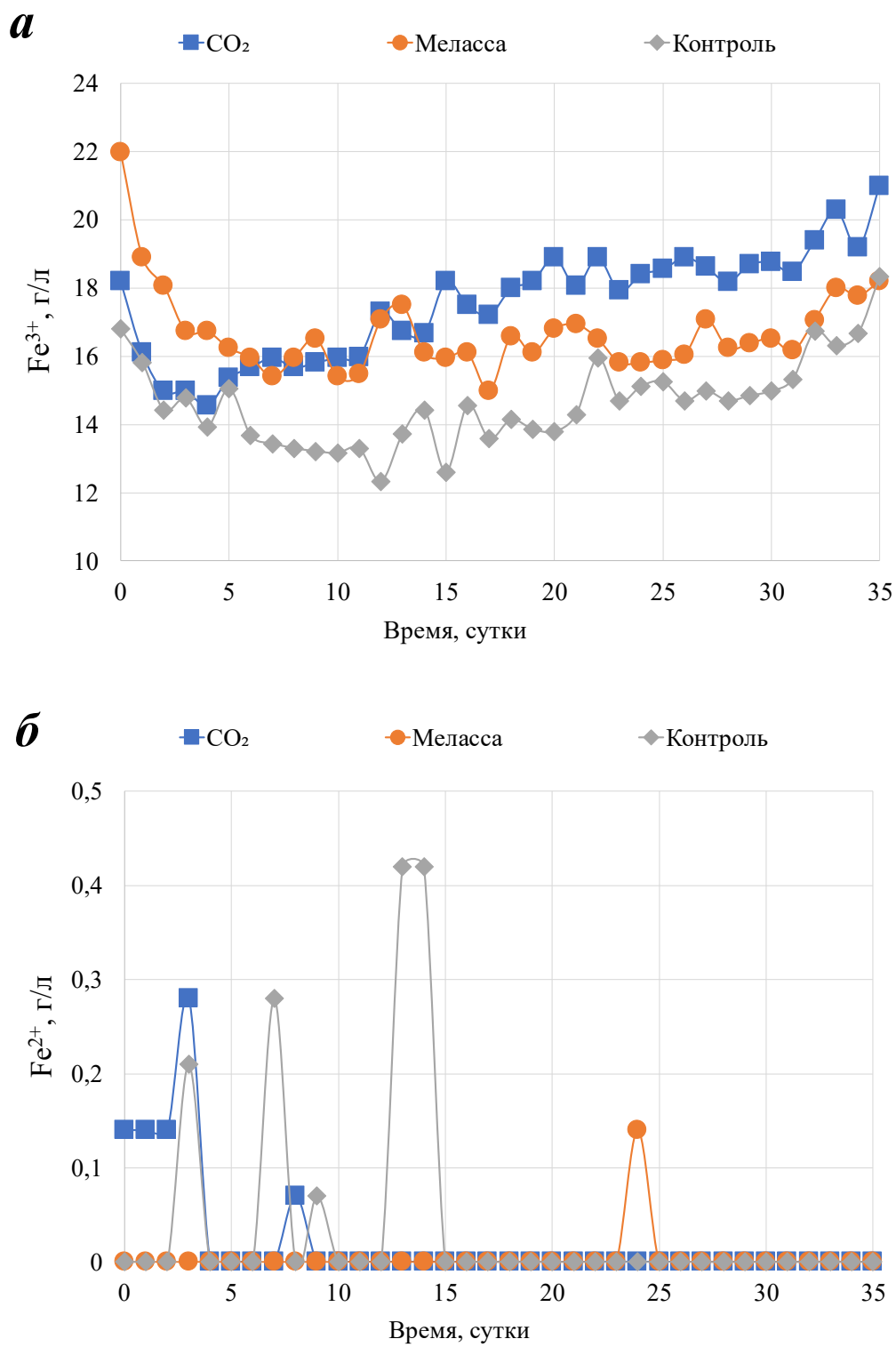


Рисунок 43. Содержание ионов трехвалентного (**а**) и двухвалентного (**б**) железа в жидкой фазе пульпы течение выщелачивания в непрерывном режиме при 45 °С.

В ходе всего эксперимента при температуре 45 °С, продолжавшегося в течение 60 суток, измеряли концентрацию меди и цинка в растворе, по которым определяли степень извлечения металлов в жидкую фазу. Эксперимент проводили в периодическом режиме

в течение 25 суток, а далее выщелачивание продолжали в непрерывном режиме в течение 35 суток. При этом извлечение меди изменялось в ходе эксперимента (Рисунок 44). Динамика извлечения цинка в жидкую фазу пульпы представлена на Рисунке 45.

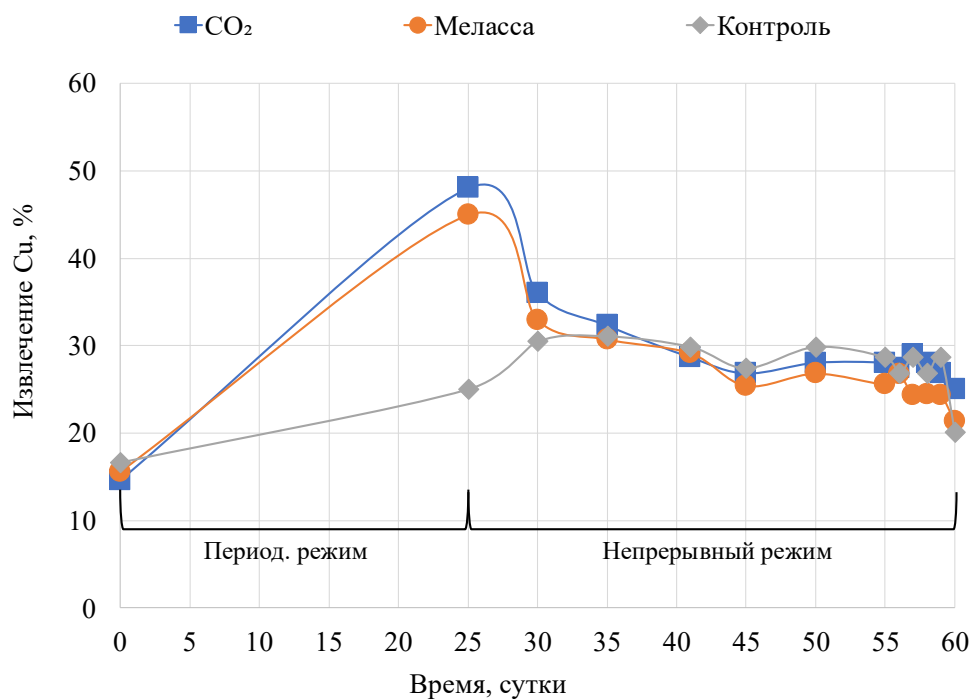


Рисунок 44 — Динамика извлечения меди в течение выщелачивания при 45 °С.

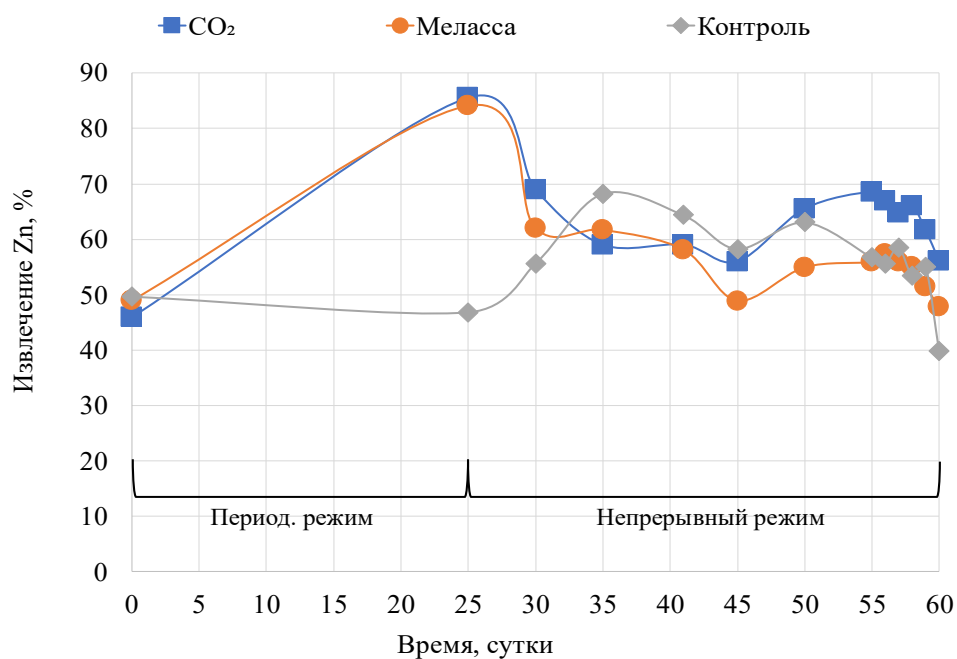


Рисунок 45 — Динамика извлечения цинка в течение выщелачивания при 45 °С.

В начале периода наблюдений в периодическом режиме культивирования концентрации этих металлов оказались выше нуля во всех реакторах, что может быть связано с диссоциацией легкорастворимых соединений (например, сульфатов меди и цинка) или относительно быстрым выщелачиванием этих металлов при начальном закислении пульпы серной кислотой, а также с внесением металлов в жидкую фазу с инокулятом. Динамика извлечения меди и цинка в периодическом режиме не оценивалась.

Использование CO_2 и мелассы позволило извлечь в 1,9 и 1,8 раза больше меди и цинка, чем в контроле. Концентрации меди по окончании периодического режима выщелачивания составили 7,88, 7,37 и 4,10 г/л, а концентрации цинка — 4,53, 4,46 и 2,48 г/л, соответственно, для реакторов с CO_2 , мелассой и контролем. Более того, извлечение цинка в периодическом режиме в контрольном реакторе практически не изменилось относительно начального момента времени, что говорит о том, что выщелачивание данного металла, в первую очередь, обусловлено закислением пульпы. В тоже время, изменение концентрации меди и цинка в растворе в реакторах с подачей дополнительных источников углерода позволяют качественно определить наличие положительного эффекта на выщелачивание.

В непрерывном режиме различия в динамике выщелачивания меди и цинка были менее значительными и сохранялись на уровне, близком к значениям, полученным в начале периодического режима выщелачивания, что указывает на значительную роль выщелачивания серной кислотой. Степень извлечения меди и цинка при использовании разных источников углерода имели различия, как от контроля, так и между собой при оценке извлечения за весь период извлечения в непрерывном режиме (35 суток).

При добавлении мелассы в питательную среду показатели извлечения меди и цинка оказались немного ниже, чем в контрольном реакторе и реакторе с подачей CO_2 , и составили $26,5 \pm 3,1\%$ и $55,4 \pm 4,4\%$, соответственно. Также в ходе эксперимента в непрерывном режиме в реакторе с добавлением мелассы наблюдалось устойчивое линейное снижение извлечения меди и цинка.

Динамика извлечения меди и никеля в контрольном реакторе изменялась отличным от реакторов с дополнительными источниками углерода образом. Несмотря на низкую эффективность выщелачивания в периодическом режиме, извлечение как меди, так и цинка в течение 5 суток от начала выщелачивания в непрерывном режиме приблизилось

к остальным реакторам и, впоследствии, превысила показатели выщелачивания в реакторе с добавлением мелассы. Извлечение меди в непрерывном режиме составило $28,0 \pm 2,8\%$, а цинка — $57,2 \pm 7,0\%$.

Дополнительный барботаж пульпы углекислым газом при биовыщелачивании при $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ в непрерывном режиме позволил добиться наибольших показателей выщелачивания, хоть и сравнимых с контролем. Стоит отметить динамику извлечения цинка, которая, в отличие от остальных, не имела явно выраженного линейного негативного тренда и находилась в локальном максимуме на 55 сутки от начала всего эксперимента (30 суток в непрерывном режиме). Среднее извлечение цинка за весь период эксперимента в непрерывном режиме составило $62,9 \pm 4,6\%$. Извлечение меди значительно не отличалось от остальных реакторов и составило $28,7 \pm 2,9\%$ в среднем за 35 суток эксперимента в непрерывном режиме.

3.2.1.2 Динамика параметров жидкой фазы при $55\text{ }^{\circ}\text{C}$

После проведения биовыщелачивания в непрерывном режиме при 45°C , микробные популяции адаптировали в периодическом режиме к температуре 55°C на протяжении 15 суток. Для этого из реакторов удаляли 50% пульпы и объем компенсировали свежей пульпой концентрата в минеральной питательной среде с Т : Ж 1 : 10. Во всех реакторах адаптация отразилась на динамике изменения значений рН, значительно снизив скорость закисления среды, относительно динамики при $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Рисунок 46). В реакторах, в которые вносили дополнительные источники углерода, значения рН имели снижающийся линейный тренд, в то время как в контрольном реакторе происходило постепенное защелачивание среды, что может свидетельствовать о более низкой динамике окисления соединений серы микроорганизмами в контроле. Однако, подтитровка серной кислотой в течение периодического режима выщелачивания не потребовалась. Обратную динамику показало изменение окислительно-восстановительного потенциала (Рисунок 47). В течение процесса адаптации в периодическом режиме при $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ Eh снижался во всех реакторах, что свидетельствует о преобладающем процессе выщелачивания веществ, сопровождаемом восстановлением окисного железа до двухвалентного. Изменение концентрации ионов железа в периодическом режиме при $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ показано на Рисунке 48.

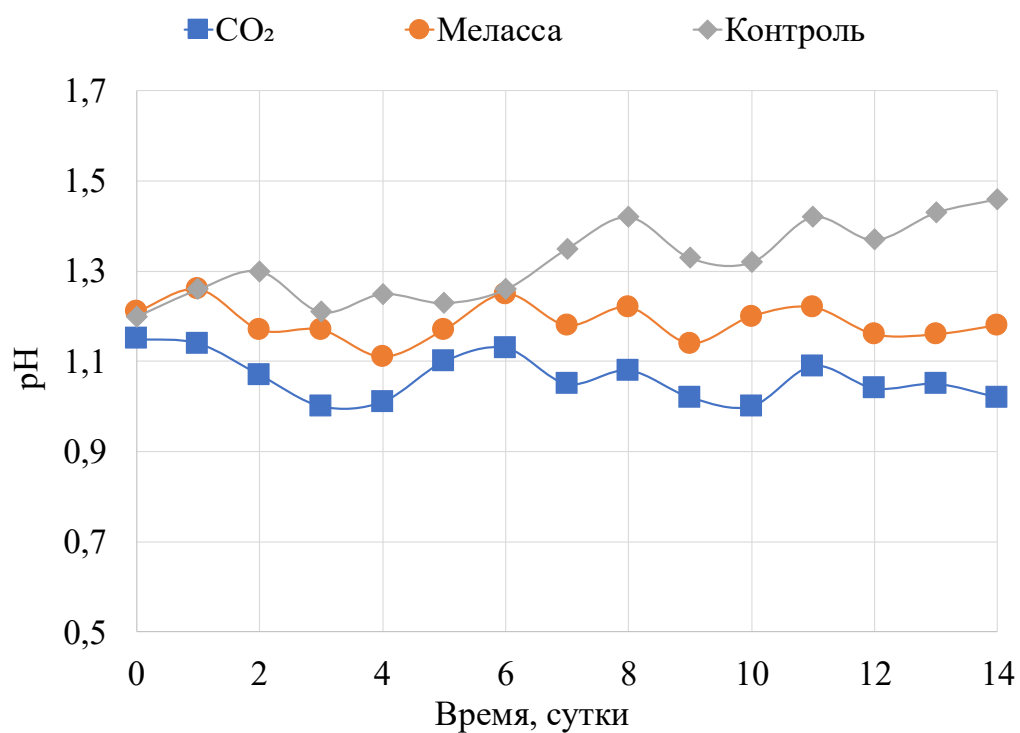


Рисунок 46 — Динамика изменения рН в течение выщелачивания в периодическом режиме при 55 °С.

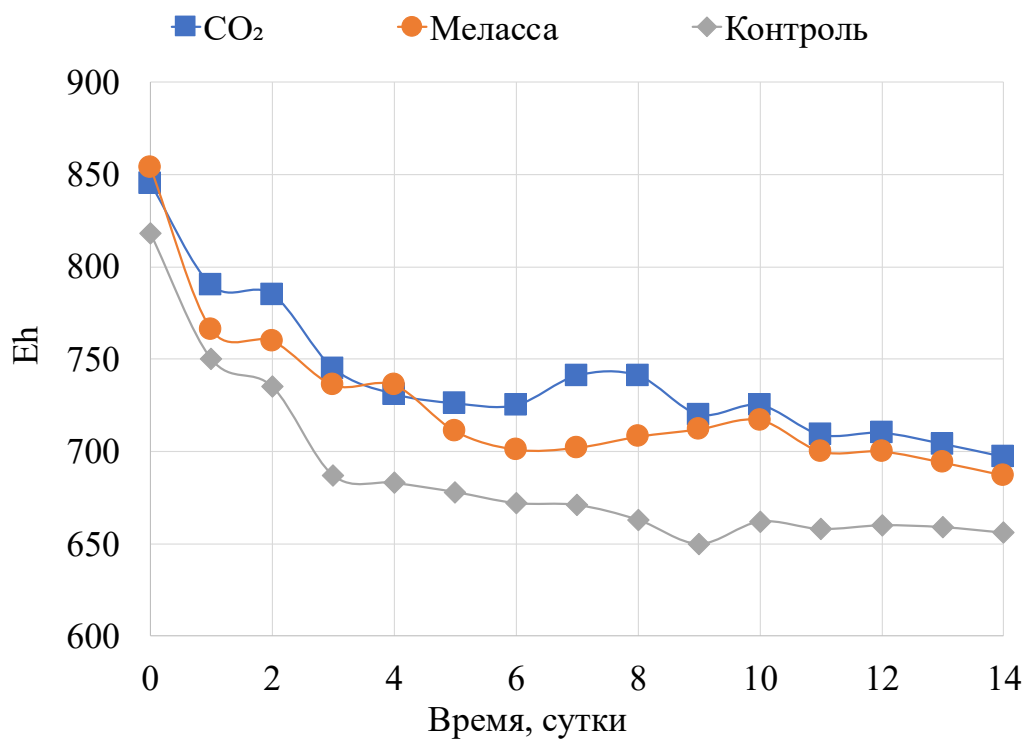


Рисунок 47 — Динамика изменения Eh в течение выщелачивания в периодическом режиме при 55 °С.

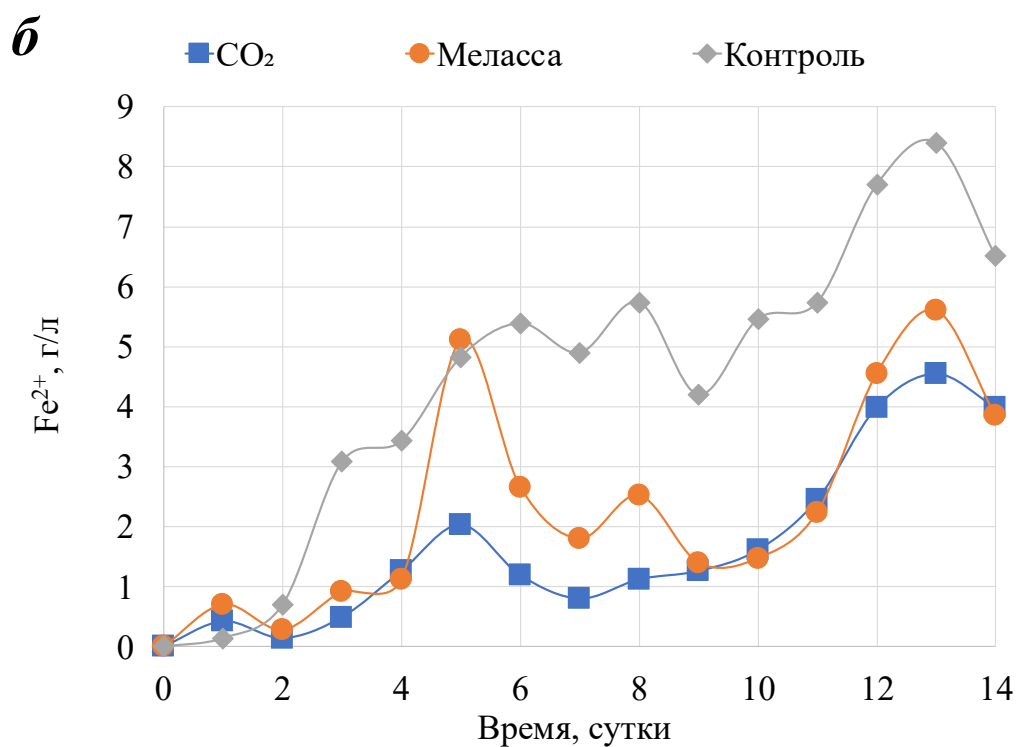
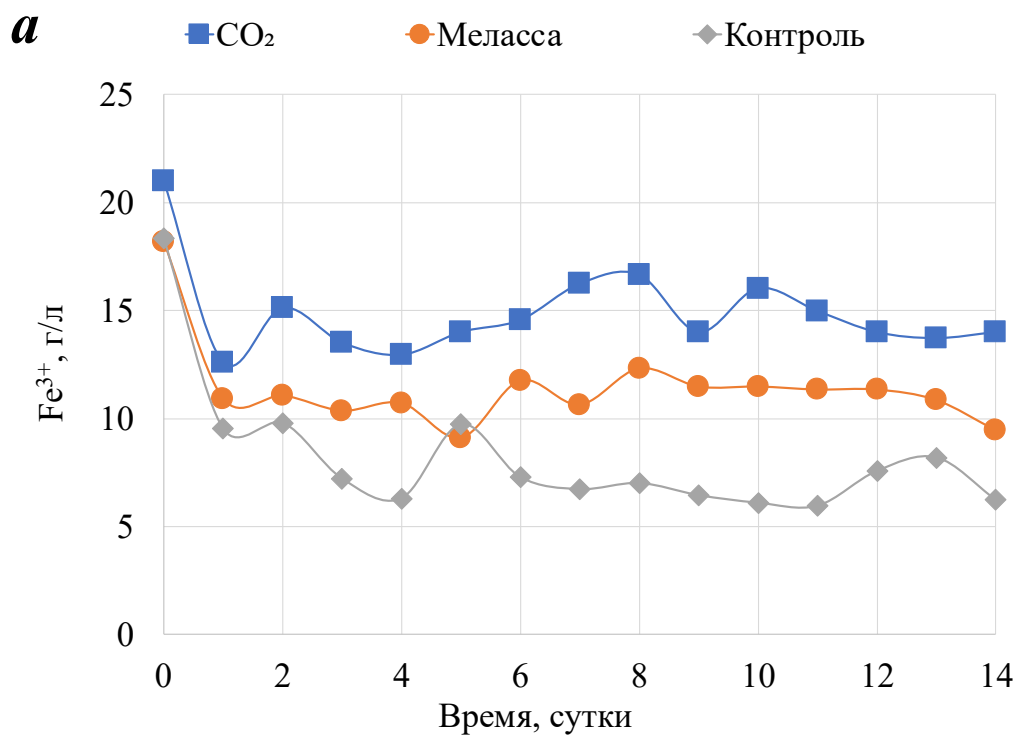


Рисунок 48 — Динамика изменения содержания ионов трехвалентного (А) и двухвалентного (Б) железа в периодическом режиме при 55 °С.

Повышение концентрации двухвалентного железа при сохраняющейся концентрации трехвалентного свидетельствует о снижении скорости окисления железа ацидофильными микроорганизмами при повышении температуры.

Изменение температурного режима сказалось на наблюдаемой численности клеток. В реакторе с подачей углекислого газа численность клеток снизилась с $1,46 \cdot 10^9$ кл/мл до $1,07 \cdot 10^8$ кл/мл в течение адаптации в периодическом режиме. В реакторе с добавлением мелассы в питательную среду численность клеток снизилась с $0,96 \cdot 10^9$ кл/мл до $5,6 \cdot 10^7$ кл/мл, а в контрольном — с $1,12 \cdot 10^9$ кл/мл до $1,7 \cdot 10^7$ кл/мл. Неравномерное снижение численности клеток коррелирует с динамикой изменения параметров жидкой фазы: в реакторе с подачей углекислого газа и скорость снижения pH, и концентрация трехвалентного железа оставались стабильно выше остальных реакторов.

После 15 суток адаптации сообщества к повышенной до $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ температуре эксперимент продолжали в непрерывном режиме. На протяжении всего периода проведения эксперимента в непрерывном режиме наблюдался постепенный рост pH во всех реакторах, который приходилось компенсировать за счет добавления серной кислоты, в отличие от процесса при $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Динамика изменения pH в реакторах отражена на Рисунке 49. Расход кислоты для подтитровки отличался в реакторах, в зависимости от источника углерода. Удельный расход серной кислоты оценивали в контрольный период эксперимента в непрерывном режиме с 30 по 35 сутки, в который система находилась в динамическом равновесии. В реакторе с подачей мелассы расход концентрированной серной кислоты был максимальным и составил 150 кг/т подаваемого концентрата, в контрольном реакторе — 116,7 кг/т, а в реакторе с подачей углекислого газа — 66,7 кг/т. Рост значений pH связан с взаимодействием свободных протонов с минералами концентрата, которое не компенсировалось за счет окисления сульфидов микроорганизмами. Относительно более высокая концентрация серной кислоты снижалась по мере протока в реакторах с дополнительными источниками углерода. Так в реакторе с добавлением мелассы с изначально достаточно высокой концентрацией кислоты, по мере вымывания кислоты с протоком, значения pH приблизились к значениям контрольного реактора, а в контрольный период уже стабильно превосходили их. В реакторе с подачей углекислого газа значения pH находились на стабильном уровне в период с 15 по 35 сутки эксперимента, который поддерживался за счет кратно меньшего расхода серной кислоты на подтитровку. Это может быть обусловлено более высокой активностью микроорганизмов, способных окислять соединения серы, чем в контрольном реакторе и в реакторе с подачей мелассы.

Динамика изменения окислительно-восстановительного потенциала также показала более высокую окислительную активность микроорганизмов в реакторе с подачей углекислого газа (Рисунок 50).

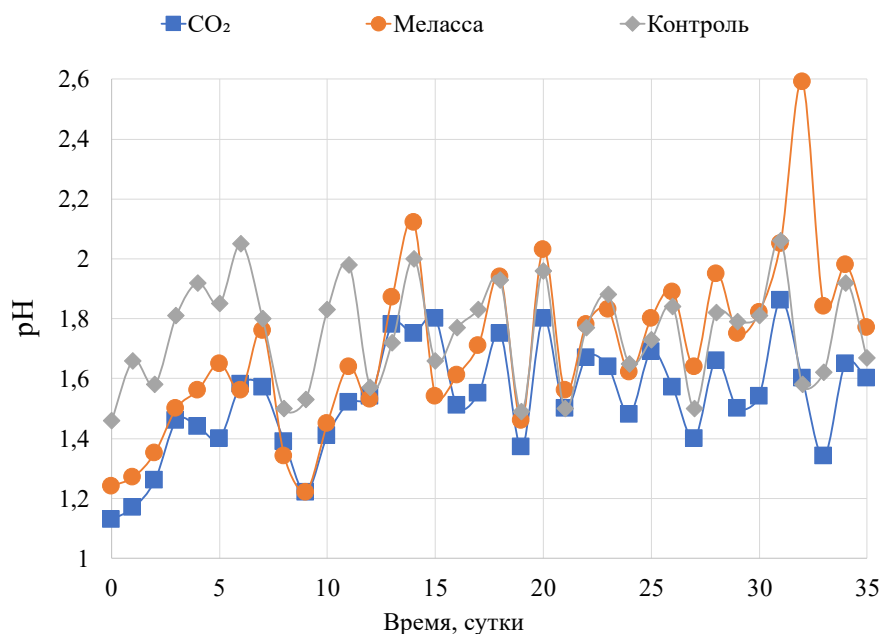


Рисунок 49 — Значения pH жидкой фазы пульпы в течение выщелачивания в непрерывном режиме при 55 °С.

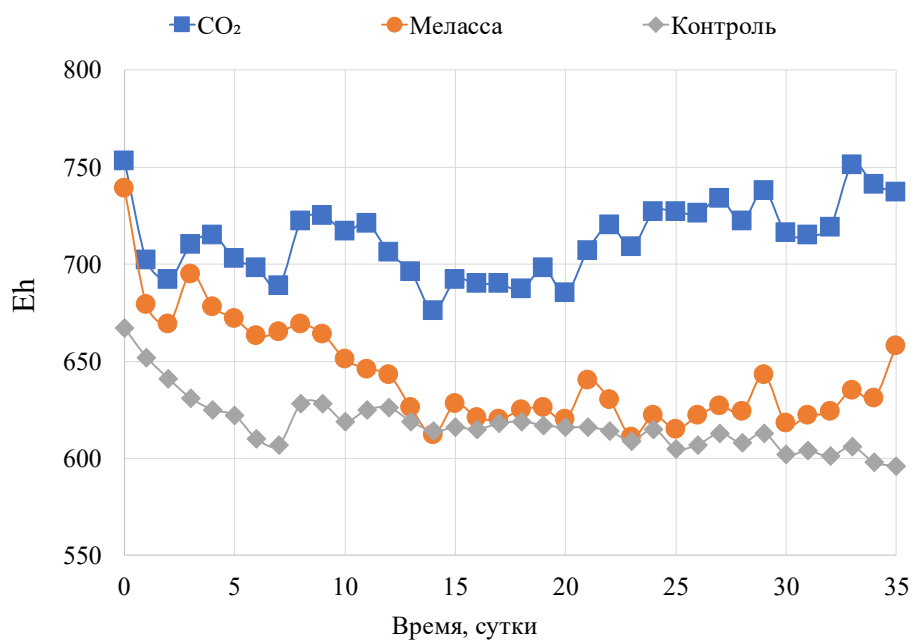


Рисунок 50 — Значения Eh жидкой фазы в течение выщелачивания в непрерывном режиме при 55 °С.

Помимо поддержания более высоких значений Eh в реакторе с подачей углекислого газа наблюдалось его постепенное повышение, которое может косвенно свидетельствовать о происходящей адаптации сообщества в непрерывном режиме. Значения в реакторе с подачей мелассы также были выше, чем в контрольном реакторе, однако, не демонстрировали явно выраженного роста в процессе выщелачивания. В контрольном реакторе наблюдаемый окислительно-восстановительный потенциал демонстрировал линейное снижение в течение всех 35 суток эксперимента.

Динамика изменения содержания двухвалентного и трехвалентного железа отличалась в реакторе с подачей углекислого газа от остальных (Рисунок 51).

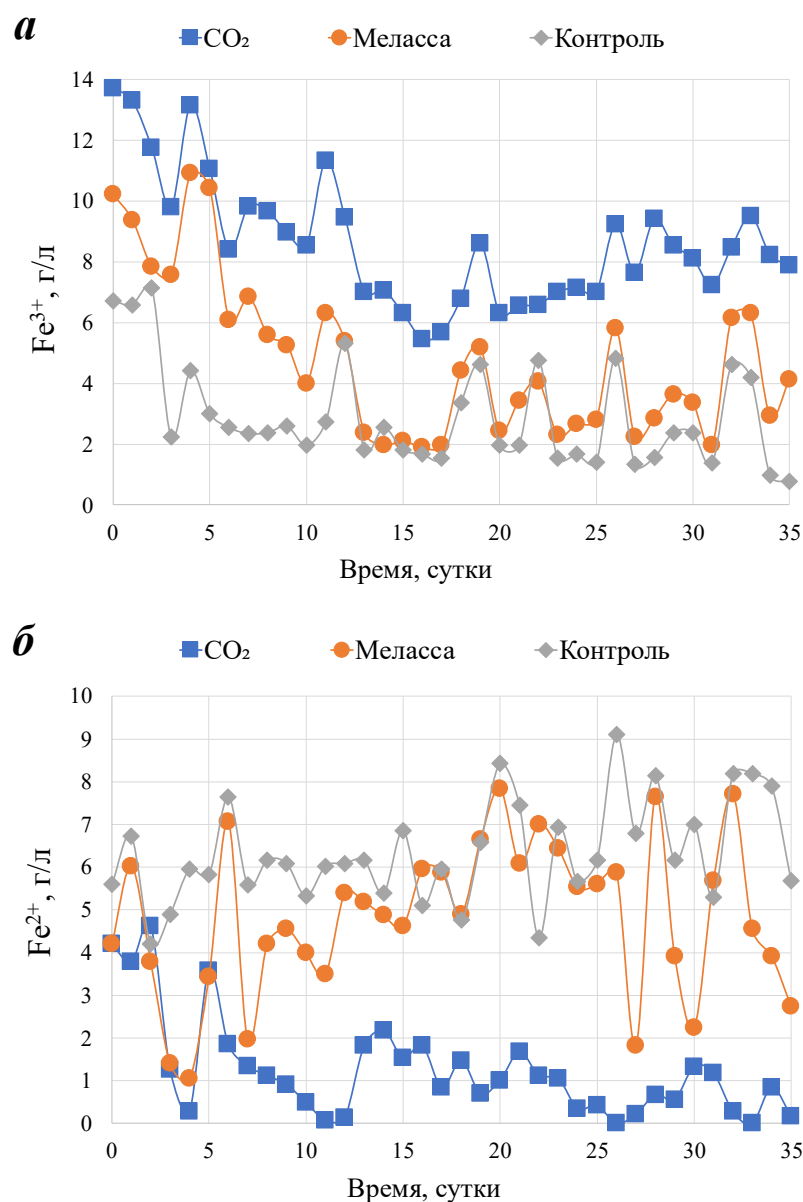


Рисунок 51 — Содержание ионов трехвалентного (а) и двухвалентного (б) железа в жидкой фазе пульпы течение выщелачивания в непрерывном режиме при 55 °С.

Содержание трехвалентного железа в реакторе, барботируемом углекислым газом, снизилось в течение 15 дней эксперимента и оставалось на относительно стабильном уровне, колеблясь в диапазоне от 6 до 10 г/л. Похожая динамика наблюдалась и в контрольном реакторе, и в реакторе с подачей мелассы, однако, колебания титра катионов Fe^{3+} происходили от 1 до 4 г/л и от 2 до 6 г/л, соответственно. В контрольном реакторе наблюдалось постепенное снижение концентраций трехвалентного железа, что свидетельствует о постепенном снижении скорости окисления железа микроорганизмами. Содержание двухвалентного железа в реакторе с подачей углекислого газа также было стабильно ниже, чем в остальных реакторах и редко превышало 2 г/л, в то время как в реакторе с подачей мелассы содержание Fe^{2+} колебалось от 2 до 8 г/л, а в контрольном доходило до 10 г/л.

Изменение содержания соединений железа совпало с наблюдаемыми изменениями численности клеток микроорганизмов (Рисунок 52).

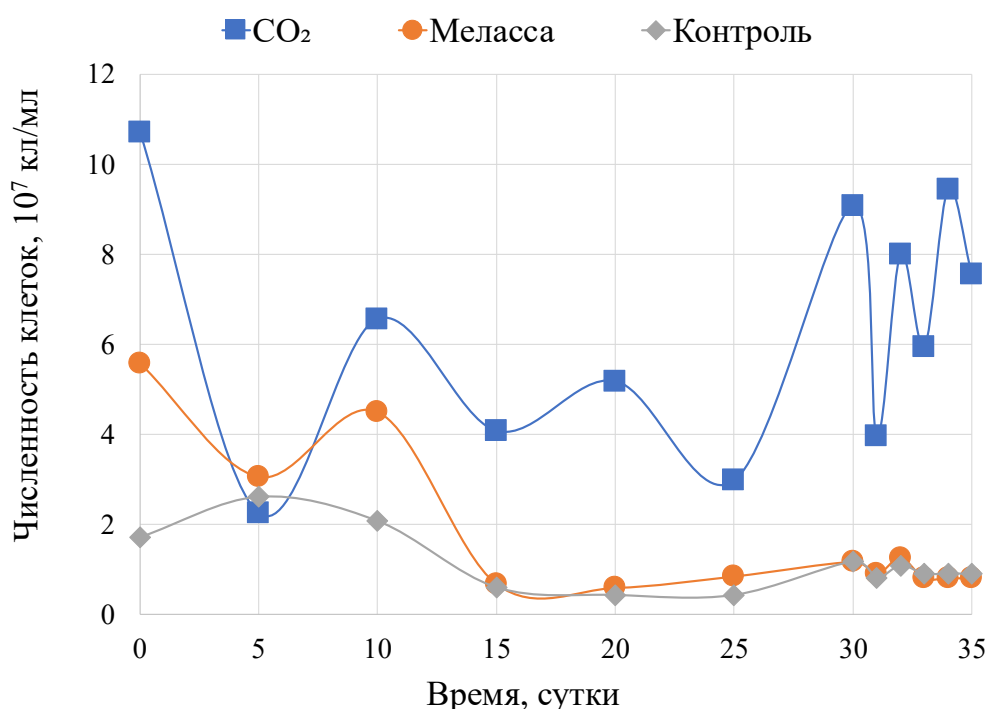


Рисунок 52 — Динамика численности клеток в течение выщелачивания в непрерывном режиме при 55 °C.

Численность клеток практически не различалась в реакторе с подачей мелассы и контрольным реактором. В реакторе с подачей углекислого газа численность клеток снизилась при переходе от периодического режима к непрерывному. К 10 суткам

эксперимента в непрерывном режиме численность клеток стабилизировалась и, коррелируя с остальными параметрами, начала демонстрировать постепенное увеличение.

Совокупность наблюдаемых факторов позволяет заключить, что метаболическая активность микроорганизмов при подаче углекислого газа качественно отличается от остальных систем, описанных в эксперименте, при данном температурном режиме. Наличие выраженной положительной динамики всех параметров выщелачивания при подаче CO_2 , в отличие от контроля и реактора с подачей мелассы, принципиально позволяет использовать данный подход при продолжительном непрерывном процессе биовыщелачивания. Контрольный реактор и реактор с подачей мелассы показали низкую эффективность биологического окисления железа, а также значительное падение численности клеток микроорганизмов, что может стать причиной дестабилизации технологического процесса выщелачивания.

Извлечение меди и цинка в ходе выщелачивания при $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ оказалось более эффективным, чем при температуре $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, во всех реакторах. Извлечение меди не имело значимой корреляции с наблюдаемыми параметрами жидкой фазы ни в периодическом (15 суток), ни в непрерывном (35 суток) режимах (Рисунок 53).

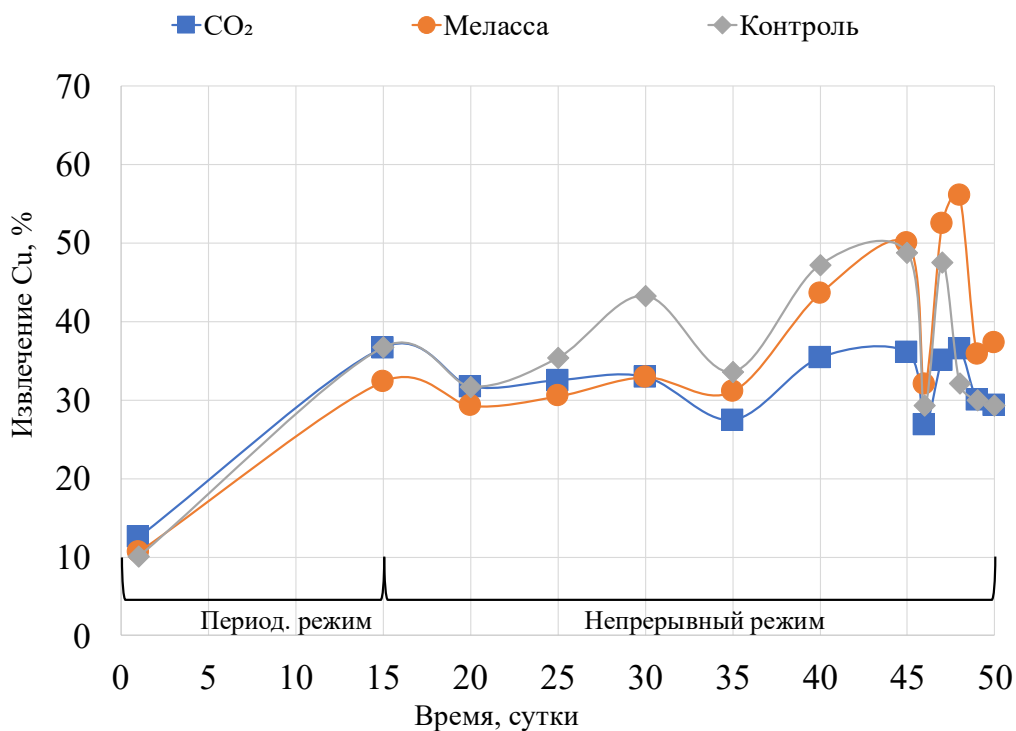


Рисунок 53. Извлечение меди в ходе эксперимента при $55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Извлечение меди в течение эксперимента в контрольном реакторе и реакторе с подачей мелассы находилось на близком уровне, и составляло $37,1 \pm 8,1\%$ и $39,2 \pm 9,0\%$, соответственно. В реакторе с подачей углекислого газа извлечение меди было ниже и составило, в среднем, $32,1 \pm 3,6\%$. В контрольный период с 30 по 35 сутки эксперимента в непрерывном режиме концентрация меди составляла в контроле — 6,90 г/л ($42,1 \pm 5,4\%$ извлечения); при использовании CO_2 — 5,76 г/л ($35,1 \pm 1,4\%$ извлечения); при использовании мелассы — 8,35 г/л ($50,1 \pm 3,4\%$ извлечения). Стоит отметить, что в течение всего эксперимента наблюдался высокий разброс концентрации меди в жидкой фазе, который хронологически совпадает с корректировкой pH в реакторах серной кислотой.

Извлечение цинка совпадало с наблюдаемыми параметрами жидкой фазы и достигало в реакторе с подачей CO_2 наиболее высоких значений (Рисунок 54).

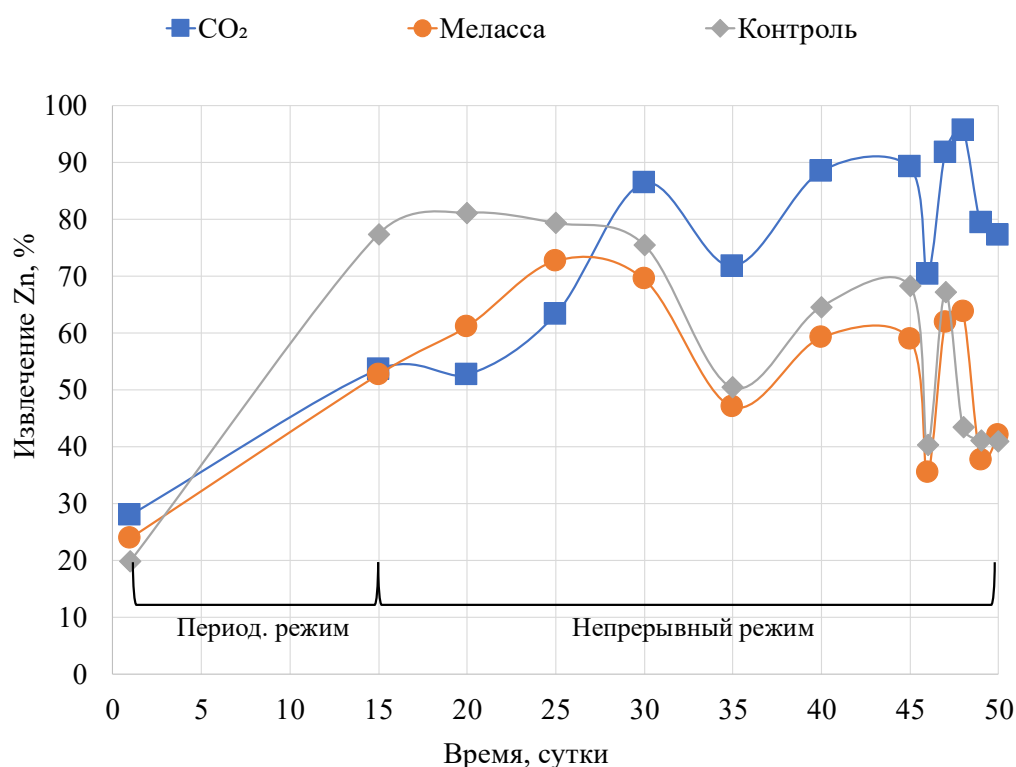


Рисунок 54 — Извлечение цинка в ходе эксперимента при 55 °С.

Эффективность выщелачивания качественно отличалась в периодическом и в непрерывном режимах. В периодическом режиме наибольшая степень извлечения цинка достигалась в реакторе без добавления дополнительных источников углерода. В непрерывном режиме контрольный реактор и реактор с подачей мелассы

демонстрировали схожую эффективность выщелачивания цинка — $58,3 \pm 8,2\%$ и $57,6 \pm 4,9\%$ соответственно. В реакторе с подачей углекислого газа извлечение цинка постепенно росло в течение эксперимента, составив в среднем $80,4 \pm 15,2\%$, а в контрольный период в непрерывном режиме с 30 по 35 сутки от начала протока — $91,4 \pm 3,9\%$, превысив показатели остальных реакторов на 57 – 59%.

Таким образом, использование диоксида углерода позволило значительно увеличить выщелачивание цинка, как по сравнению с другими реакторами при проведении процесса биовыщелачивания при 55 °С, так и по сравнению с экспериментами при 45 °С. Несмотря на это, выщелачивание меди при 55 °С при использовании диоксида углерода снижалось. Выщелачивание меди при 55 °С было максимальным при использовании мелассы, что отличалось от результатов, полученных при 45 °С.

При 55 °С во всех вариантах эксперимента активность процесса биовыщелачивания была очевидно ниже, чем при 45 °С: поддержание pH во всех реакторах требовало внесения серной кислоты, при этом значения pH были выше, чем при более низкой температуре (Рисунки 40 и 49). Eh жидкой фазы пульпы был выше 730 мВ при подаче CO₂ и 600 – 630 мВ в других вариантах (Рисунок 50). Общие концентрации ионов железа были примерно в 2 раза ниже, чем при 45 °С (Рисунки 43, 51). Основываясь на полученных результатах, можно утверждать, что активность биоокисления пирита при 55 °С была очевидно ниже, что приводило к более низким концентрациям ионов железа в среде и низким значениям Eh пульпы, тогда как выщелачивание меди и цинка происходило активно несмотря на снижение активности микробных популяций, что возможно за счет повышения температуры.

3.2.1.3 Изменение состава сообщества микроорганизмов при 45 и 55 °С в периодическом и непрерывном процессах биовыщелачивания

В конце каждой стадии экспериментов проводили отбор пробы биомассы микроорганизмов, содержащихся в жидкой фазе пульпы. При проведении процесса биовыщелачивания при 45 °С в непрерывном режиме средняя численность клеток микроорганизмов была практически одинаковой в контроле, а также в реакторе, в котором в среду вносили мелассу, тогда как при использовании диоксида углерода она была в 1,4 раза выше в период между 30 и 35 сутками эксперимента. Сопоставление таких

факторов, как параметры жидкой фазы, наблюдаемая численность клеток и состав микробного сообщества позволяет подтвердить выводы, сделанные на основании анализа процесса биовыщелачивания.

Соотношение относительной представленности родов микроорганизмов при 45 °С, определенное методом метабаркодирования гена 16S рРНК, отражены в Таблице 22.

Таблица 22 — Состав сообществ ацидофильных микроорганизмов биореакторов, сформировавшихся в ходе периодического и непрерывного биовыщелачивания при 45 °С. Цитировано с изменениями по Bulaev et al., 2024a.

Род	Инокулят	45 °С					
		Контроль		CO ₂		Меласса	
		В конце период. режима	В конце непр. режима	В конце период. режима	В конце непр. режима	В конце период. режима	В конце непр. режима
<i>Ferroplasma</i>	2,66	21,85	12,4	5,05	42,54	45,33	16,84
<i>Acidiplasma</i>	0	0,01	0	0,45	0	0,04	0
<i>Cuniculiplasma</i>	10,61	65,56	31,89	5,09	38,59	37,6	33,94
« <i>Ca. Carboxiplasma ferriphilum</i> »	0,01	1,47	1,60	0	0,65	6,58	0,37
<i>Acidithiobacillus</i>	62,84	5,07	0,48	1,15	5,36	6,07	9,86
<i>Acidiferrobacter</i>	0,01	0,02	0	0,51	0	0	0,03
<i>Acidiphilium</i>	0	0,02	0	0,33	0	0	0
<i>Sulfobacillus</i>	22,83	4,8	53,53	2,43	12,56	3,48	38,52
<i>Leptospirillum</i>	0,03	0,02	0,01	1,53	0,04	0,38	0,13
<i>Ferrimicrobium</i>	0	0	0	0	0	0	0
Доля ацидофилов	98,99	98,82	99,91	16,54	99,74	99,48	99,69

Популяции микроорганизмов, сформировавшиеся в течение эксперимента в периодическом режиме при 45°С, различались количественными соотношениями между группами микроорганизмов. В контрольном реакторе и в реакторе с добавлением мелассы в питательную среду в сообществе преобладали ацидофильные прокариоты, фрагменты гена 16S рРНК составляли, соответственно, 98,99 и 99,48%. Однако, в реакторе, в который подавали углекислый газ в качестве источника углерода, последовательности ацидофильных прокариот составляли немногим более 16% популяции. Значительная часть сообщества была представлена различными гетеротрофными микроорганизмами, для которых рост в ацидофильных условиях нетипичен. Это может подтверждать вывод

о том, что в момент отбора проб для анализа микробная популяция уже перешла в стационарную фазу, в которой наблюдалась элиминация ацидофильных микроорганизмов, сопровождаемая размножением гетеротрофных организмов на продуктах распада клеток.

Среди ацидофильных прокариот преобладали железоокисляющие гетеротрофные археи р. *Ferroplasma*, гетеротрофные археи р. *Cuniculiplasma*, сероокисляющие автотрофные бактерии р. *Acidithiobacillus*, миксотрофные железо- и сероокисляющие бактерии р. *Sulfobacillus*. Кроме того, в контроле и микробной популяции реактора в варианте, в котором использовали мелассу в качестве источника углерода, присутствовали некультивированные археи «*Ca. Carboxiplasma ferriphilum*» (A-plasma), которые, вероятно, способны к окислению железа и нуждаются в органическом источнике углерода.

При переходе к непрерывному режиму, в микробных популяциях произошли изменения. В популяции биореактора, в который подавали углекислый газ, доля последовательностей ацидофильных прокариот значительно выросла, при сохранении соотношения численности основных групп ацидофильных микроорганизмов. Микробные популяции двух других биореакторов также претерпели количественные изменения, тогда как преобладающие группы микроорганизмов сохранялись. В контрольном реакторе и при использовании мелассы преобладали железо- и сероокисляющие бактерии р. *Sulfobacillus*, а также железоокисляющие археи р. *Ferroplasma*. При переходе к непрерывному режиму доля последовательностей бактерий р. *Sulfobacillus* в обоих случаях увеличивалась на порядок (с 4,8 и 3,48% до 53,53 и 38,52%). Доля последовательностей архей р. *Ferroplasma* снижалась в обоих реакторах: в контрольном реакторе доля *Ferroplasma* снизилась в 1,9 раза, а в реакторе с подачей мелассы — в 2,7 раз. Доля архей *Cuniculiplasma* spp. так же снижалась в этих реакторах с исходных 65,56 и 37,6% до примерно одинаковых значений — 31,89 и 33,94% в контрольном реакторе и реакторе с подачей мелассы, соответственно.

Популяции реактора с подачей мелассы и контрольного реактора различались также долей последовательностей бактерий р. *Acidithiobacillus*. Доля данных, преимущественно, мезофильных автотрофных железо- и сероокисляющих бактерий сократилась, практически, на порядок в контрольном реакторе — с 5,07 до 0,48. В то же время, доля этих бактерий увеличилась при использовании мелассы. Хотя большинство

известных представителей р. *Acidithiobacillus* являются облигатными автотрофами, некоторые виды способны к миксотрофии, что предположительно может объяснять увеличение их доли в популяции при использовании мелассы (Hallberg, Lindström, 1994). Возможным механизмом увеличения скорости роста бактерий *Acidithiobacillus* spp. в популяции реактора с мелассой может быть и синергетический эффект, возникающий у автотрофных представителей этого рода в присутствии в сообществе миксо- и гетеротрофных микроорганизмов. К примеру, в работе (Liu et al., 2011) описана положительная регуляция генов фиксации CO₂ *cbbLS-2* и *cbbR*, которая улучшала рост *At. ferrooxidans* в присутствии гетеротрофов *A. acidophilum*. Добавление мелассы в среду в присутствии значительной доли гетеротрофных микроорганизмов в сообществе могло привести к похожему эффекту. Также, хоть и косвенно, внесение углеводного субстрата приводит к увеличению локальной концентрации углекислого газа, который является основным конечным метаболитом, и может усваиваться автотрофными микроорганизмами.

При адаптации микробных популяций к повышению температуры до 55°C их состав значительно изменялся (Таблица 23).

Таблица 23. Состав сообществ ацидофильных микроорганизмов биореакторов, сформировавшихся в ходе периодического и непрерывного биовыщелачивания при 55 °С. Цитировано с изменениями по Bulaev et al., 2024a.

Род	55 °С					
	Контроль		CO ₂		Меласса	
	В конце период. режима	В конце непр. режима	В конце период. режима	В конце непр. режима	В конце период. режима	В конце непр. режима
<i>Ferroplasma</i>	12,59	0,93	15,05	0,01	8,70	2,95
<i>Acidiplasma</i>	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
<i>Cuniculiplasma</i>	7,69	0,41	0,96	0,03	5,94	5,03
« <i>Ca. Carboxiplasma ferriphilum</i> »	4,35	0,24	0,27	0,00	1,65	1,08
<i>Acidithiobacillus</i>	1,86	0,17	0,63	0,00	4,14	6,31
<i>Acidiferrobacter</i>	0,05	0,00	0,02	0,00	0,14	0,00
<i>Acidiphilium</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,00
<i>Sulfobacillus</i>	24,46	45,01	79,85	99,88	25,84	39,17
<i>Leptospirillum</i>	31,66	40,85	2,44	0,05	31,51	44,05
<i>Ferrimicrobium</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00
Доля ацидофилов	82,86	87,59	99,23	99,98	78,55	98,68

На фоне общего снижения численности микроорганизмов, наблюдаемого во всех реакторах, происходило и изменение соотношения в сообществе между основными группами ацидофильных микроорганизмов: доля последовательностей архей *Ferroplasma* и *Cuniculiplasma* во всех случаях, кроме доли *Ferroplasma* в контрольном реакторе, снижалась. Высокой оставалась доля бактерий р. *Sulfobacillus*, которая в контроле и при использовании мелассы снижалась, а при использовании диоксида углерода увеличивалась более чем в 6 раз и стала наиболее значительной в данной популяции (79,9%). Стоит отметить, что во всех случаях увеличивалась и становилась значительной доля последовательностей железоокисляющих автотрофных бактерий р. *Leptospirillum*, большая часть известных представителей которого являются мезофилами, неспособными расти при температуре 55°C. Доля бактерий р. *Acidithiobacillus* снизилась в популяции реактора, в который подавали диоксид углерода, но увеличилась в контроле и при использовании мелассы.

При переходе к непрерывному режиму биовыщелачивания при 55°C тенденции в изменении микробных популяций были аналогичными изменениям, которые наблюдались в периодическом режиме. В популяции реактора, в который подавали углекислый газ, доля последовательностей бактерий р. *Sulfobacillus* увеличивалась до 99,9%. Так как известные представители данного рода являются умеренно-термофильными бактериями, способными к окислению как соединений серы и железа, они очевидно играли основную роль в окислении сульфидных минералов в данном случае. Увеличение доли в популяции бактерий р. *Sulfobacillus* при повышении температуры процесса и использовании диоксида углерода в качестве источника углерода было отмечено в наших предыдущих работах (Bulaev & Boduen, 2022; Bulaev et al., 2023). Стоит отметить, что рост доли данных бактерий в микробном сообществе коррелирует с наличием протока в реакторах и при 45 °C, и, в целом, является естественным следствием перехода от периодического режима выщелачивания к непрерывному. Доля последовательностей бактерий р. *Leptospirillum* была высокой в контроле и при использовании мелассы, что трудно объяснить, если основываться на свойствах известных представителей данного рода. Нужно отметить, что аналогичное увеличение в популяции доли бактерий р. *Leptospirillum* при повышении температуры до 50°C и использовании мелассы было отмечено в работе (Bulaev et al., 2023). Вероятно, что на основании полученных в данной работе данных можно предположить существование

новых представителей р. *Leptospirillum* способных расти при относительно высоких температурах в условиях проведения процессов биовыщелачивания в непрерывном режиме. Доля бактерий р. *Acidithiobacillus* в реакторе с добавлением мелассы в питательную среду оставалась высокой и в непрерывном режиме, в то время как в популяциях остальных реакторов *Acidithiobacillus*, практически, исчез.

3.2.2 Биовыщелачивание меди и цинка из полиметаллического концентрата с применением хлорида натрия и диоксида углерода в каскаде биореакторов

В первой серии экспериментов установлено, что нагрев системы с 45 до 55 °C интенсифицирует переход меди и цинка в жидкую фазу. Рост степени выщелачивания в данном температурном диапазоне согласуется с известным фактом температурной зависимости кинетики растворения халькопирита и сфалерита (Hedrich et al., 2018; Rodríguez et al., 2003). С другой стороны, температурный стресс вызвал падение численности клеток микроорганизмов на два порядка, а также угнетение их способности к окислению ионов Fe^{2+} и соединений серы. Таким образом, термическая активация химического выщелачивания цветных металлов сопровождалась одновременным снижением метаболической активности микробной популяции. Одной из причин снижения активности микроорганизмов при 55 °C мог стать дефицит углерода. Дополнительная подача CO_2 частично нивелировала этот негативный эффект, однако не позволила достичь показателей микробной активности, характерных для режима при 45 °C.

Поэтому в данной работе исследовали возможность проведения процесса биовыщелачивания в 2 стадии при 45 и 55 °C — чтобы производить наращивание биомассы микроорганизмов и накопление окислителя (ионов Fe^{3+}) в пульпе на 1 стадии при 45 °C и активное выщелачивание металлов на 2 стадии при более высокой температуре (55 °C). Также в данной работе проводили исследование эффекта использования диоксида углерода на процесс биовыщелачивания.

3.2.2.1 Параметры жидкой фазы пульпы при трех разных режимах добавления 100 мМ хлорида натрия

Изменение параметров жидкой фазы в реакторах с подачей диоксида углерода (Таблица 24) и контрольных реакторов (Таблица 25) продемонстрировало различие в режимах 2 и 3.

В режиме 1 (без добавления NaCl в среду) значения параметров жидкой фазы в реакторах с подачей диоксида углерода и без него были сходными (Таблицы 24 – 25). Значения этих параметров свидетельствовали об окислении сульфидных минералов медно-цинкового концентрата и высвобождении ионов Fe, Cu и Zn в жидкую фазу. В режиме 2 при внесении NaCl в реакторы с рабочей температурой 55 °C обнаруживались различия между параметрами жидкой фазы в реакторах с подачей CO₂ и без него. Так, содержание ионов Fe, Cu и Zn было выше в пульпе реакторов с подачей углекислого газа (Таблица 24). Стоит отметить, что наиболее высокие концентрации ионов металлов наблюдали в реакторе с рабочей температурой 55 °C и с подачей углекислого газа. В режиме 3 с добавлением хлорида натрия во все реакторы наблюдали снижение интенсивности биоокисления, о чем говорило снижение Eh и концентрации ионов металлов в жидкой фазе во всех реакторах.

Таблица 24. Параметры жидкой фазы биореакторов в процессе биоокисления медно-цинкового концентрата (непрерывный режим, добавление CO₂).

Режим	Реактор	T, °C	CO ₂	NaCl	pH	Eh, мВ	Fe ³⁺ , г/л	Fe ²⁺ , г/л	ΣFe, г/л	Cu, г/л	Zn, г/л	N, 10 ⁷ кл/мл
1	1	45	+	-	1,43±0,05	649 ±252	9,12±1,70	0,06±0,16	9,18±1,65	3,95±0,15	4,09±0,23	66±10
	2	55	+	-	1,27±0,02	720±7	12,6±2,15	0,72±0,57	13,32±1,68	5,14±0,80	3,6±0,56	83±33
2	1	45	+	-	1,41±0,16	756±8	8,47±0,62	0,14±0,16	8,61±0,55	3,66±0,19	3,95±0,19	108±27
	2	55	+	+	1,27±0,03	685±7	6,83±1,36	2,66±0,73	9,49±1,06	6,66±0,47	4,47±0,27	135±17
3	1	45	+	+	1,52±0,11	726±5	3,05±1,26	0,18±0,18	3,22±1,29	3,87±0,12	3,99±0,08	111±1
	2	55	+	+	1,39±0,10	652±11	2,43±0,95	2,03±0,91	4,46±0,60	5,85±1,00	4,09±0,61	102±32

Таблица 25. Параметры жидкой фазы биореакторов в процессе биоокисления медно-цинкового концентрата (непрерывный режим, контроль).

Режим	Реактор	T, °C	CO ₂	NaCl	pH	Eh, мВ	Fe ³⁺ , г/л	Fe ²⁺ , г/л	ΣFe, г/л	Cu, г/л	Zn, г/л	N, 10 ⁷ кл/мл
1	1	45	-	-	1,41±0,03	740±32	9,28±0,95	0±0	9,28±0,95	4,36±0,94	4,20±0,08	56±9
	2	55	-	-	1,29±0,03	760±7	10,52±1,3 3	1,14±0,64	11,66±0,85	5,03±1,01	3,69±0,07	90±35
2	1	45	-	-	1,46±0,06	751±7	7,79±1,24	0,14±0,19	7,93±1,17	3,55±0,22	3,97±0,13	92±12
	2	55	-	+	1,32±0,05	672±8	5,19±1,04	3,09±0,68	8,28±0,99	5,78±0,28	4,17±0,22	109±12
3	1	45	-	+	1,65±0,11	719±3	2,66±0,75	0,12±0,11	2,78±0,72	3,55±0,10	3,59±0,05	128±20
	2	55	-	+	1,72±0,18	603±1	1,09±0,45	3,79±0,37	4,88±0,57	5,46±0,44	3,42±0,16	67±7

При этом снижение этих параметров было частично нивелировано в реакторах с добавлением углекислого газа. Извлечение меди и цинка в каждом режиме показано в Таблице 26. Наиболее эффективно эти металлы удавалось извлекать во втором режиме, при котором во второй реактор каскада с повышенной температурой вносили хлорид натрия. При этом в реакторах с дополнительной подачей диоксида углерода степень извлечения меди и цинка была выше, чем в контроле.

Таблица 26 — Извлечение меди и цинка в ходе биовыщелачивания с применением хлорида натрия.

Режим	Реактор	CO ₂	Извлечение Cu, %	Извлечение Zn, %
1	1	+	24,69±0,94	77,08±4,27
	2	+	32,14±4,99	67,98±10,62
2	1	+	22,87±1,17	74,55±3,62
	2	+	41,61±2,93	84,26±5,07
3	1	+	24,19±0,74	75,22±1,43
	2	+	36,54±6,26	77,19±11,43
1	1	-	27,28±5,88	79,18±1,50
	2	-	31,41±6,32	69,57±13,16
2	1	-	22,18±1,35	74,92±2,40
	2	-	36,12±1,73	78,71±4,21
3	1	-	22,18±0,65	67,65±1,02
	2	-	34,13±2,78	64,52±3,11

3.2.2.2 Анализ микробных популяций

В ходе эксперимента с каскадом реакторов исследовали состав микробных популяций как в периодическом режиме, чтобы отследить изменение сообщества ацидофилов при адаптации к условиям процесса, так и в непрерывном режиме при трех различных режимах внесения хлорида натрия. Состав популяции исследовали для обоих реакторов каскада (45 и 55 °C) (Рисунки 55 – 58).

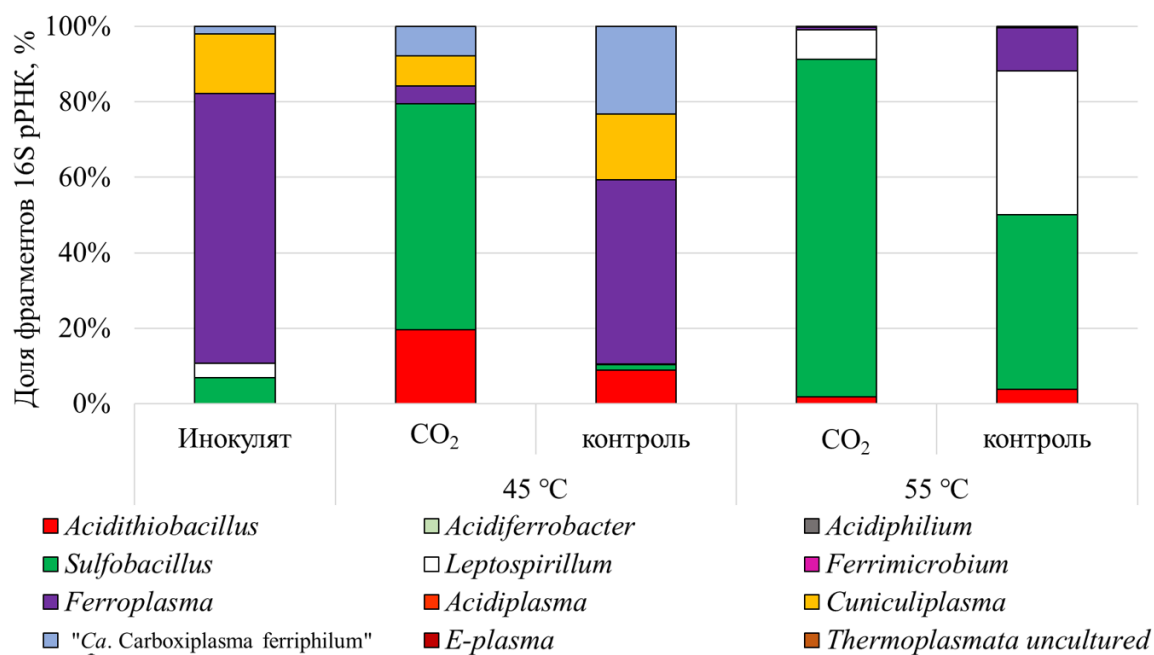


Рисунок 55 — Изменение состава популяций в периодическом режиме.

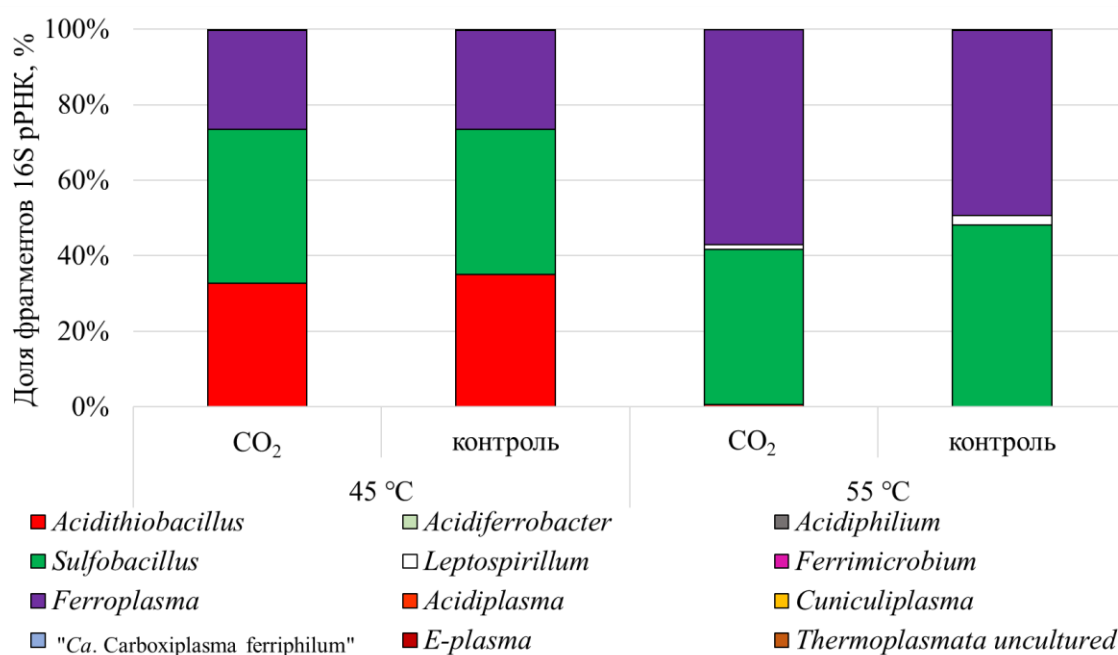


Рисунок 56 — Изменение состава популяций, непрерывный процесс, режим 1.

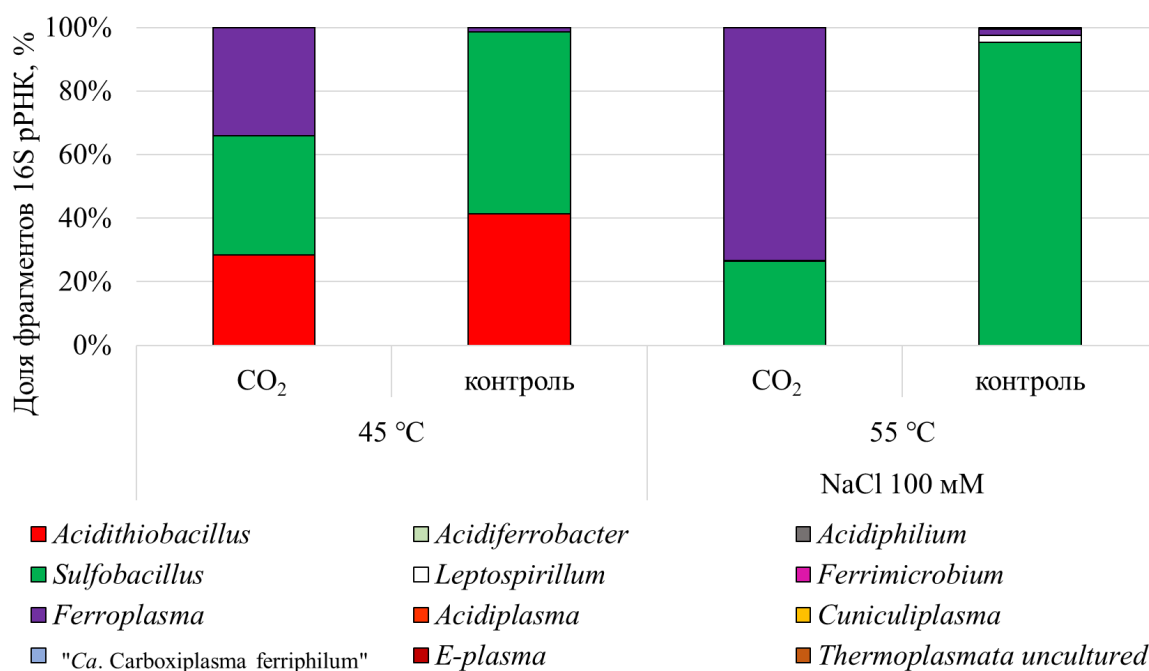


Рисунок 57 — Изменение состава популяций, непрерывный процесс, режим 2.

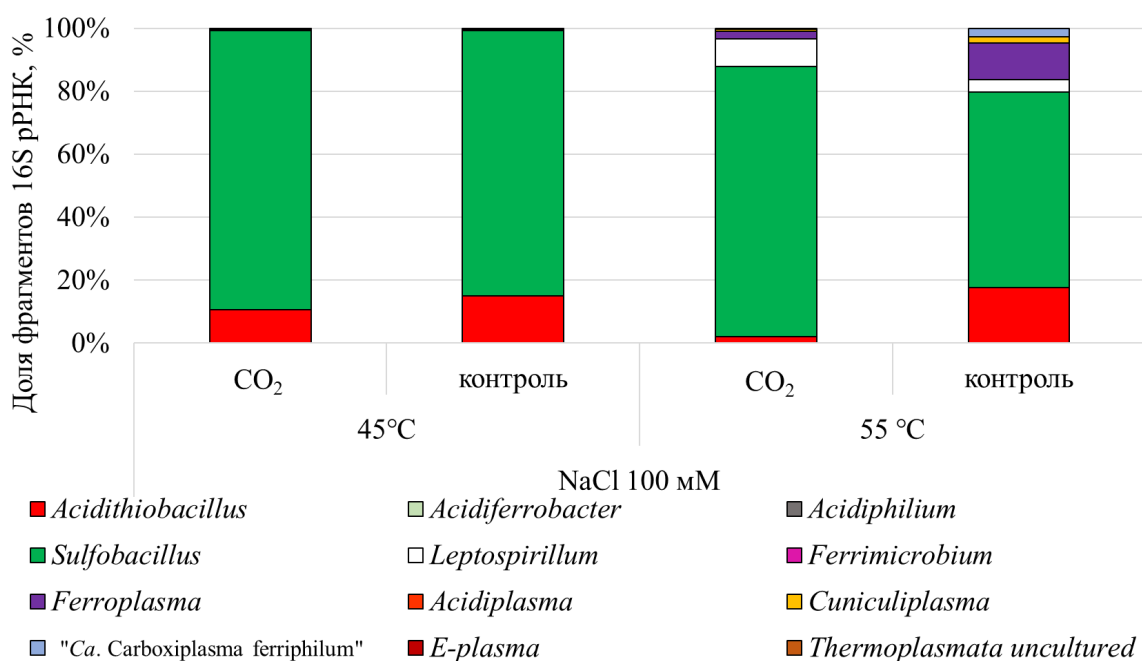


Рисунок 58 — Изменение состава популяций, непрерывный процесс, режим 3.

В инокуляте преобладали археи рода *Ferroplasma*, присутствовали бактерии р. *Acidithiobacillus* и *Sulfobacillus*. В периодическом режиме состав микробных популяций различался при использовании диоксида углерода и различной температуре выщелачивания (Рисунок 55). В контрольном реакторе при 45 °C преобладали бактерии р. *Acidithiobacillus*, железоокисляющие археи р. *Ferroplasma*, гетеротрофные археи р.

Cuniculiplasma, а также некультивируемые археи "*Ca. Carboxiplasma ferriphilum*" (*A-plasma*). Были также выявлены бактерии р. *Sulfobacillus*, но их относительная доля в популяции была невысокой — около 1,5%.

Использование диоксида углерода не привело к качественным изменениям в микробной популяции, но была увеличена до 59,3% фракция бактерий р. *Sulfobacillus*, тогда как относительная доля других групп микроорганизмов сократилась. При повышении температуры до 55 °С в контроле уменьшилась доля бактерий р. *Acidithiobacillus*, но значительно увеличились доли бактерий р. *Sulfobacillus* и *Leptospirillum*. Кроме того, были выявлены археи р. *Ferroplasma*. Использование диоксида углерода привело к еще большему увеличению фракции бактерий р. *Acidithiobacillus*.

При переходе к непрерывному режиму происходило изменение в составе микробных популяций. Так, в режиме 1 (без использования NaCl) при 45 °С состав микробных популяций фактически не различался (Рисунок 56). Преобладали бактерии р. *Acidithiobacillus* и *Sulfobacillus*, археи р. *Ferroplasma*. При повышении температуры до 55°С произошла элиминация бактерий р. *Acidithiobacillus*, преобладающими микроорганизмами были бактерии р. *Sulfobacillus* и археи р. *Ferroplasma*, относительно значительной была доля бактерий р. *Leptospirillum*.

Во втором режиме (Рисунок 57) при 45 °С, несмотря на то, что параметры процесса фактически не изменились, в контроле произошло изменение микробной популяции — уменьшилась доля архей р. *Ferroplasma*. При 55 °С состав микробных популяций изменился относительно первого режима, что может быть связано с добавлением 100 мМ NaCl в среду реакторов с повышенной температурой. При этом качественных отличий от состава популяций, сформировавшихся в режиме 1, не было. Преобладали бактерии р. *Sulfobacillus* и археи р. *Ferroplasma*. При использовании дополнительного диоксида углерода состав микробной популяции был количественно близок к микробным популяциям, сформировавшимся в режиме 1, тогда как в контроле доля бактерий р. *Sulfobacillus* значительно возросла (более 90%) при сокращении доли архей р. *Ferroplasma*. Таким образом, использование хлорида натрия привело к изменению микробной популяции, а использование диоксида углерода при этом нивелировало влияние хлорида натрия на состав микробной популяции.

В третьем режиме (Рисунок 58) при внесении хлорида в среду всех реакторов произошли изменения в составе микробных популяций, сформировавшихся при 45 °С. Произошло вытеснение архей р. *Ferroplasma* (их доля снизилась до значений 0,03 – 0,3%). Преобладали бактерии р. *Acidithiobacillus* и *Sulfobacillus*. При 55 °С в контроле преобладали бактерии р. *Acidithiobacillus*, *Sulfobacillus* и *Leptospirillum*. Кроме того, были выявлены археи р. *Ferroplasma* и *Cuniculiplasma*, а также некультивируемые археи “*Ca. Carboxiplasma ferriphilum*”. При использовании дополнительного диоксида углерода состав микробной популяции качественно не отличался, но доля бактерий р. *Sulfobacillus* была значительно выше (до 90%). Также при добавлении CO₂ отметили большую однородность микробного сообщества, соответственно, присутствие минорных групп, таких как A-plasma было ниже, чем в контрольных биореакторах.

3.2.3 Обсуждение полученных результатов

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

Влияние условий биовыщелачивания на извлечение металлов, которое наблюдалось в данной работе, может быть объяснено свойствами минералов концентрата и особенностями закономерностей их выщелачивания. Увеличение степени выщелачивания меди в раствор (Рисунки 44, 53) при увеличении температуры может объясняться хорошо известным фактом, что скорость биовыщелачивания халькопирита зависит от температуры, возрастая с ее увеличением (Rodriguez et al., 2003a; Hedrich et al., 2018). Значительное увеличение степени выщелачивания сфалерита при температуре 55

°C и использовании диоксида углерода (Рисунок 54) может объясняться закономерностями, выявленными в работе (Rodriguez et al., 2003b). В данной работе описывается зависимость скорости биовыщелачивания сфалерита от повышения температуры. Скорость выщелачивания цинка в значительной степени лимитируется слоем элементарной серы, которая образуется как промежуточный продукт окисления сфалерита и откладывается на поверхности минерала. Удаление образующейся серы, в свою очередь, также зависит от активности микроорганизмов, определяемой источником углерода. Значительное увеличение извлечения меди в раствор при использовании мелассы может объясняться относительно низким E_h среды в данном варианте эксперимента, что может позволить увеличить скорость выщелачивания халькопирита (Masaki et al., 2018).

Сопоставление результатов данной работы с нашим предыдущим исследованием (Elkina et al., 2022) позволяет сделать заключение о том, что влияние различных условий (в частности температуры) на биовыщелачивание меди из сульфидных концентратов может зависеть от соотношения между содержанием различных минералов меди в конкретном концентрате. В данной работе исследовали процесс биовыщелачивания меди из концентрата, который содержал около 7,7% теннантита и 33,5% халькопирита, а в работе (Elkina et al., 2022) проводили эксперименты в сходных методических условиях с концентратом, аналогичным по качественному минеральному составу, но с другим соотношением минеральных фаз – 5,3% халькопирита и 7,7% теннантита, т.е. отличающимся относительно низким содержанием халькопирита. Исследовали биовыщелачивание концентрата в диапазоне температур 40 – 60 °C, при этом было показано, что наибольшая степень извлечения меди была достигнута при температуре 45 – 50 °C, а повышение температуры до 55 – 60°C приводило к снижению выщелачивания меди, при этом при 60°C выщелачивание повышалось при использовании диоксида углерода, тогда как при более низких температурах извлечение меди слабо зависело от использования дополнительных источников углерода (Elkina et al., 2022). Это соответствует закономерности, выявленной в работе (Elkina et al., 2020), где было показано, что в температурном диапазоне 40 – 60 °C скорость биовыщелачивания халькопирита зависела в большой степени от температуры, тогда как скорость выщелачивания теннантита в меньшей степени определялась температурой.

Использование каскада реакторов во второй части экспериментов позволило частично преодолеть проблему низкой численности клеток и динамики биоокисления при повышении температуры до 55 °С (Таблицы 24 – 25) в непрерывном режиме культивирования в режиме 1 без подачи хлорида натрия. При дальнейшем внесении хлорида натрия в режимах 2 и 3 наблюдали снижение эффективности выщелачивания, схожее с первой частью экспериментов с данным концентратом.

В данной работе на извлечение меди и цинка влияли как температура, так и дополнительный источник углерода и присутствие хлорид-иона. Стоит отметить, что извлечение меди как при одностадийном биовыщелачивании, так и при использовании каскада реакторов оставалось относительно низким. Выщелачивание цинка протекало более эффективно и коррелировало с наблюдаемыми параметрами жидкой фазы пульпы, которые свидетельствовали о большей активности биоокисления при использовании диоксида углерода. Обобщенные результаты выщелачивания меди и никеля в непрерывном режиме в ходе обеих стадий эксперимента в контрольный период приведены в Таблице 27.

Таблица 27 — Сводная таблица с результатами биовыщелачивания меди и цинка из полиметаллического концентрата. Извлечение в каскаде определяли по составу жидкой фазы пульпы реакторов с температурой 55 °С.

Условия биовыщелачивания	Ист. углерода	Извл. Cu, %	Извл. Zn, %
45 °С, RT=10 сут	К	27,31±3,13	53,21±6,23
45 °С, RT=10 сут	CO ₂	28,06±1,25	63,96±4,15
45 °С, RT=10 сут	Меласса	25,06±1,69	53,96±3,21
55 °С, RT=10 сут	К	43,13±5,56	58,30±8,11
55 °С, RT=10 сут	CO ₂	36,00±1,44	91,32±3,77
55 °С, RT=10 сут	Меласса	52,19±3,50	57,55±4,91
Каскад, режим 1	CO ₂	32,14±4,99	67,98±10,62
Каскад, режим 2	CO ₂	41,61±2,93	84,26±5,07
Каскад, режим 3	CO ₂	36,54±6,26	77,19±11,43
Каскад, режим 1	К	31,41±6,32	69,57±13,16
Каскад, режим 2	К	36,12±1,73	78,71±4,21
Каскад, режим 3	К	34,13±2,78	64,52±3,11

При анализе совокупных данных о микробных популяциях реакторов (Рисунок 59), сформировавшихся в течение биовыщелачивания в непрерывном режиме в ходе первой и второй части экспериментов, можно выявить некоторые закономерности изменений.

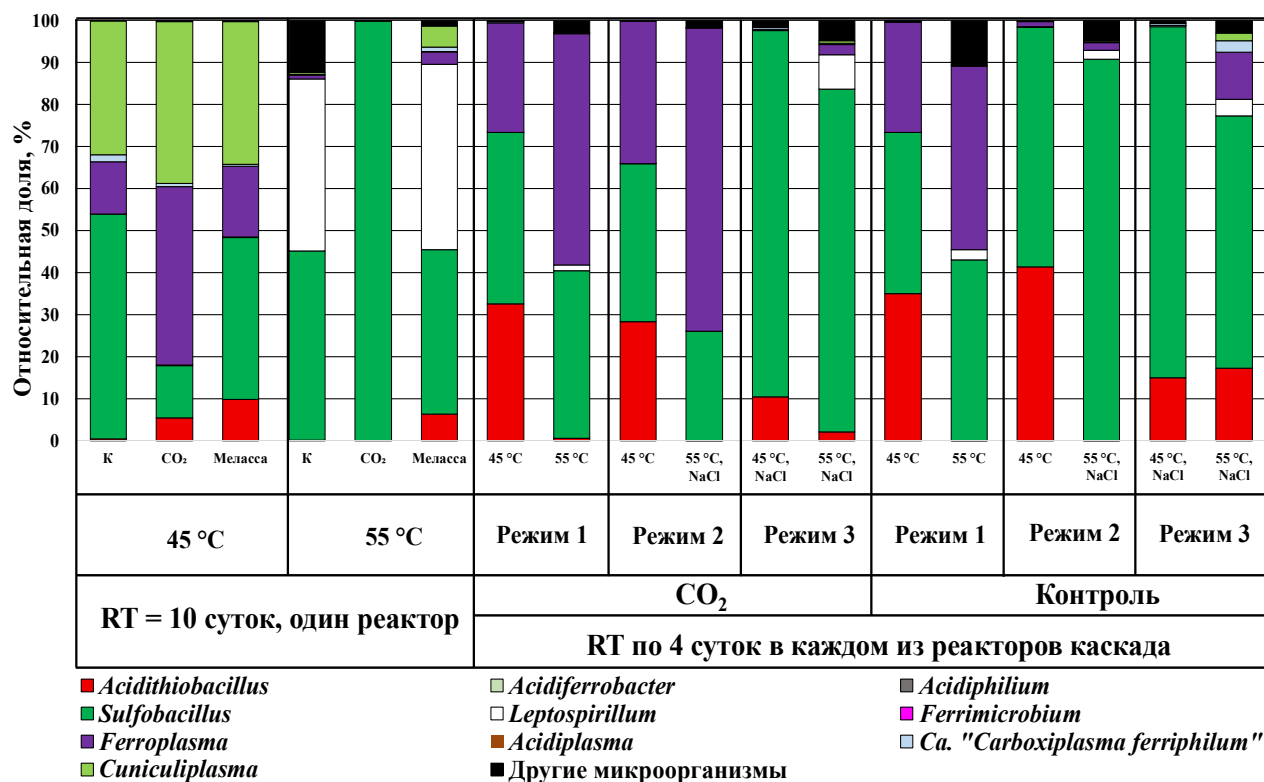


Рисунок 59 — Сводная гистограмма, которая демонстрирует состав микробных популяций, сформировавшихся в ходе непрерывного процесса биовыщелачивания полиметаллического концентрата.

При 45 °C состав популяций был схожим в разных вариантах эксперимента. В ходе первой части экспериментов в одностадийном процессе в популяциях реакторов доминировали археи *Ferroplasma* и *Cuniculiplasma* и бактерии р. *Sulfobacillus* и *Acidithiobacillus*. В первых реакторах каскада в ходе режимов 1 и 2 наблюдали схожее сообщество за исключением архей р. *Cuniculiplasma*, ниша которой в сообществе (гетеротроф, способный окислять преимущественно двухвалентное железо и, реже, элементарную серу) могла быть занята *Sulfobacillus* и *Ferroplasma*. Дальнейшее добавление хлорида при температуре 45 °C как при подаче дополнительного CO₂, так и в контроле коррелировало со снижением доли *Ferroplasma* в сообществе.

Изменение состава популяций в реакторах при 55 °C имело существенные различия в ходе экспериментов в одностадийном процессе и при использовании каскада. Ввиду низкой численности клеток микроорганизмов в жидкой фазе пульпы при 55 °C в первой

части эксперимента, проблематично проводить сравнение популяций, полученных во второй части экспериментов. Однако, общей закономерностью, наблюдаемой в двух экспериментах, можно считать тенденцию к увеличению доли бактерий р. *Sulfobacillus*, которое наблюдалось в первом эксперименте при добавлении CO₂ и в ходе режимов 2 и 3 (т.е. при добавлении NaCl) во втором эксперименте, а также присутствие бактерий р. *Leptospirillum*, для основных видов которых (*L. ferrooxidans* и *L. ferriphilum*) оптимальным диапазоном температур считается 35 – 45 °С.

Таким образом, было показано, что выщелачивание металлов из концентрата и состав микробной популяции зависели от совокупности различных факторов, но извлечение цинка превосходило извлечение меди во всех экспериментах. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейших исследованиях для повышения эффективности биовыщелачивания исследуемого концентрата и подобного ему минерального сырья. Например, различные подходы, включая хлоридное выщелачивание, могут быть использованы для повышения биовыщелачивания меди (Artykova et al., 2020), а выявленные в настоящей работе закономерности могут быть использованы для оптимизации условий процесса.

В данных экспериментах при исследовании процесса биовыщелачивания содержащего мышьяк полиметаллического концентрата, содержащего халькопирит, теннантит и сфалерит, при разных температурах и с использованием разных источников углерода и двух различных установок биовыщелачивания было показано, что применение разных источников углерода и повышение температуры позволяет интенсифицировать процесс биовыщелачивания меди и цинка. При этом сопоставление полученных результатов с результатами, полученными в предыдущих работах, показывает, что такие эффекты могут определяться соотношением сульфидных минералов в концентрате. Наблюдаемый эффект исследованных факторов на процесс биовыщелачивания во многом определяется их воздействием на микробную популяцию, которая осуществляет процесс биовыщелачивания, так как при изменении условий процесса наблюдались изменения в составе микробных популяций биореакторов.

3.3 Базовые закономерности периодического биовыщелачивания измельченных печатных плат

3.3.1 Зависимость эффективности биовыщелачивания от используемых сред и наличия микроорганизмов

В ходе предварительных экспериментов в колбах Эрленмейера проводили качественно-количественное исследование процессов, протекающих в ходе выщелачивания измельченных печатных плат (РСВ) в условиях, пригодных для жизнедеятельности ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов. Было установлено, что добавление измельченных плат в среду, содержащую серную кислоту, приводит к быстрому защелачиванию среды, поэтому на первом этапе экспериментов по одностадийному выщелачиванию проводили стабилизацию пульпы посредством подтитровки концентрированной серной кислоты в течение 3 суток до стабилизации значений рН на уровне ниже 2,0. После фиксации значений таких параметров среды, как рН и титры двухвалентного и трехвалентного железа, на 3 сутки эксперимента вносили посевной материал, сульфат железа II или III, элементарную серу. Изменение значений рН в ходе одностадийного процесса представлено на Рисунке 60.

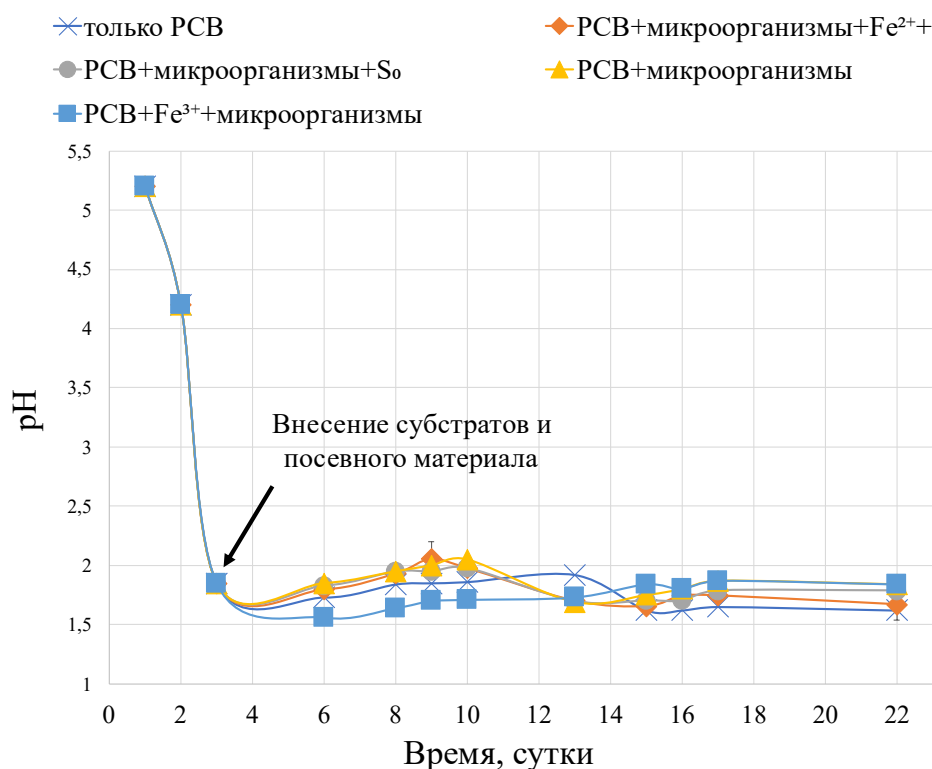


Рисунок 60 — Динамика изменения рН в ходе одностадийного выщелачивания.

В процессе стабилизации пульпы в жидкую среду высвобождались катионы двухвалентного железа за счет окисления серной кислотой (Рисунок 61).

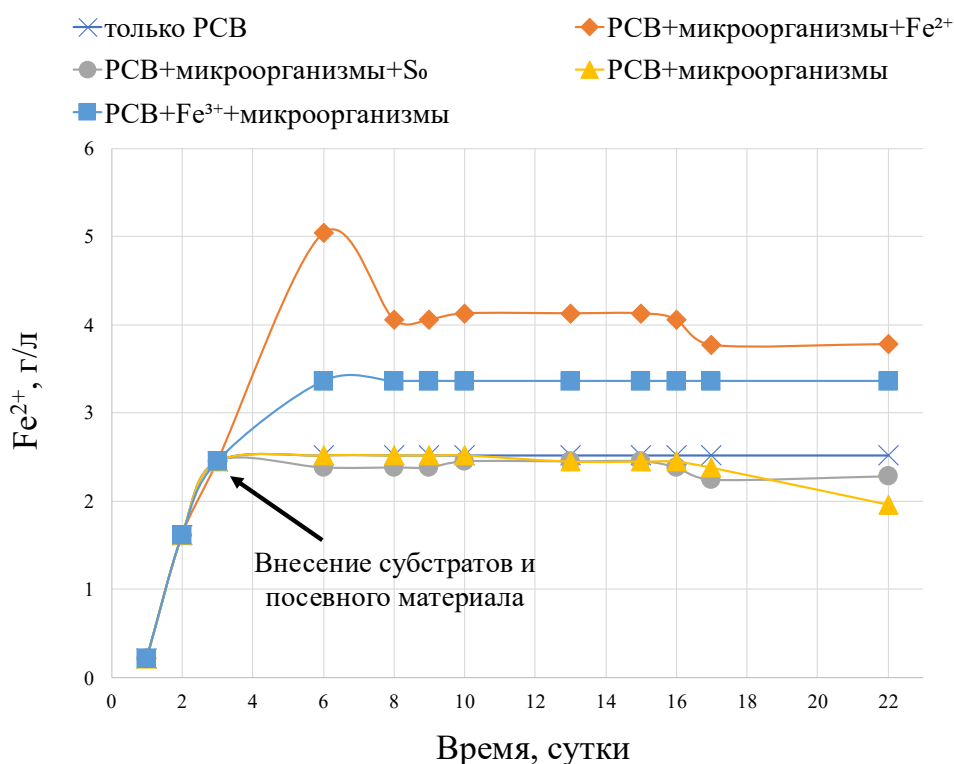


Рисунок 61 — Динамика изменения концентрации двухвалентного железа в ходе одностадийного выщелачивания.

После добавления FeSO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ или S^0 в пульпу поведение кривых начало предсказуемо различаться: в образцах без добавления FeSO_4 или $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ концентрация двухвалентного железа стабилизировалась на уровне около 2,5 г/л, что соответствует выщелачиванию 50% массы железа из измельченных плат. Добавление ацидофильных микроорганизмов в образец коррелирует с постепенным снижением концентрации двухвалентного железа на поздних стадиях эксперимента (после 16 суток). Данное снижение сопровождается повышением концентрации трехвалентного железа в среде (Рисунок 62).

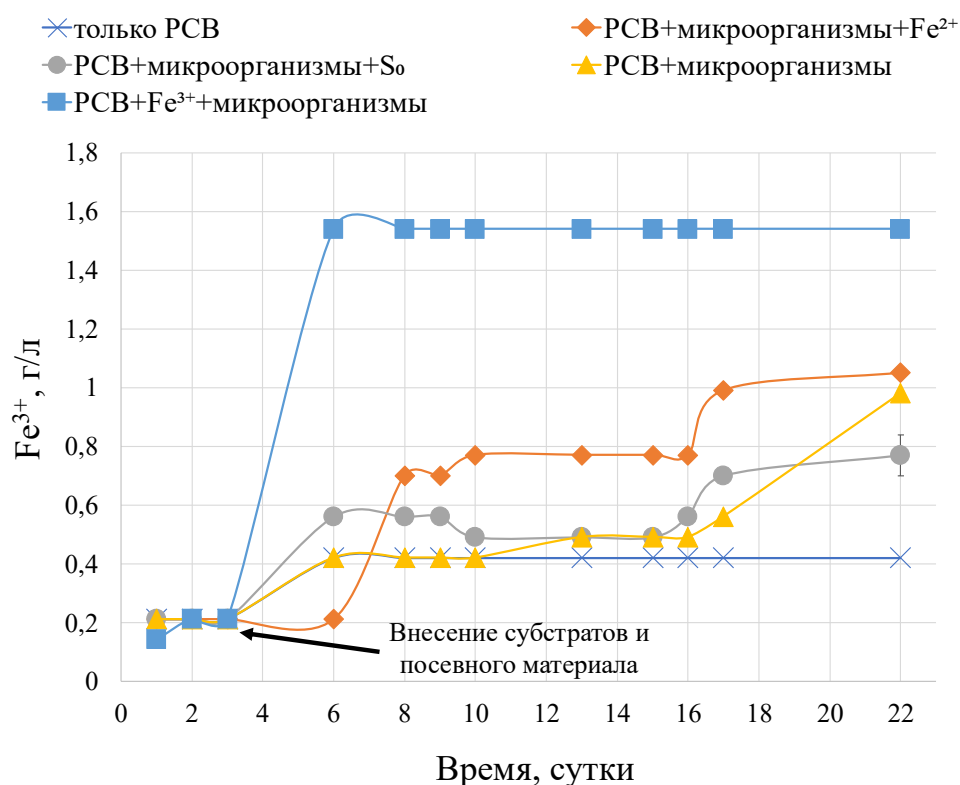


Рисунок 62 — Динамика изменения концентрации трехвалентного железа в ходе одностадийного выщелачивания.

Повышение концентрации трехвалентного железа в условиях высокой кислотности среды в присутствии ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов обычно связывают с их жизнедеятельностью, так как абиотическое окисление железа протекает крайне медленно (Johnson et al., 2012). Однако, при фазово-контрастной микроскопии образцов, в которые вносили посевной материал (РСВ+микроорганизмы, РСВ+микроорганизмы+S⁰/Fe²⁺/Fe³⁺), не было обнаружено клеток микроорганизмов в количестве, позволяющем проводить их прямой подсчет (<10⁶ кл/мл). Не было обнаружено и значительного количества клеток микроорганизмов, прикрепленных к частицам плат. Таким образом, было установлено, что численность клеток, внесенных в составе инокулята, снизилась в присутствии плат в концентрации 50 г/л не менее, чем на 2 порядка. Данное наблюдение позволило сформировать базовую гипотезу об ингибировании роста ацидофильных микроорганизмов в присутствии плат, которая легла в основу последующих экспериментов.

В ходе эксперимента с использованием культуральной жидкости, содержащей продукты окисления элементарной серы и двухвалентного железа ацидофильными микроорганизмами (spent medium), измельченные печатные платы вносили после

предварительного инкубирования. Основными параметрами, которые указывали на активное окисление двухвалентного железа было повышение концентрации трехвалентного железа и соответствующее ему падение концентрации двухвалентного железа в среде до неидентифицируемых методом трилометрического титрования значений (менее 0,07 г/л). Маркером окисления элементарной серы было снижение значений pH в среде до 1,0 – 1,1, вызванное накоплением серной кислоты. В ходе эксперимента платы в колбы с предварительно окисленным железом вносили на 8 сутки, а в колбы, содержащие метаболиты окисления серы, образец плат внесли на 15 сутки. Внесение навески измельченных плат производили после фиксации параметров жидкой фазы. Эффектом внесения измельченных плат стало резкое защелачивание среды, зафиксированное на следующие сутки после добавления плат (Рисунок 63).

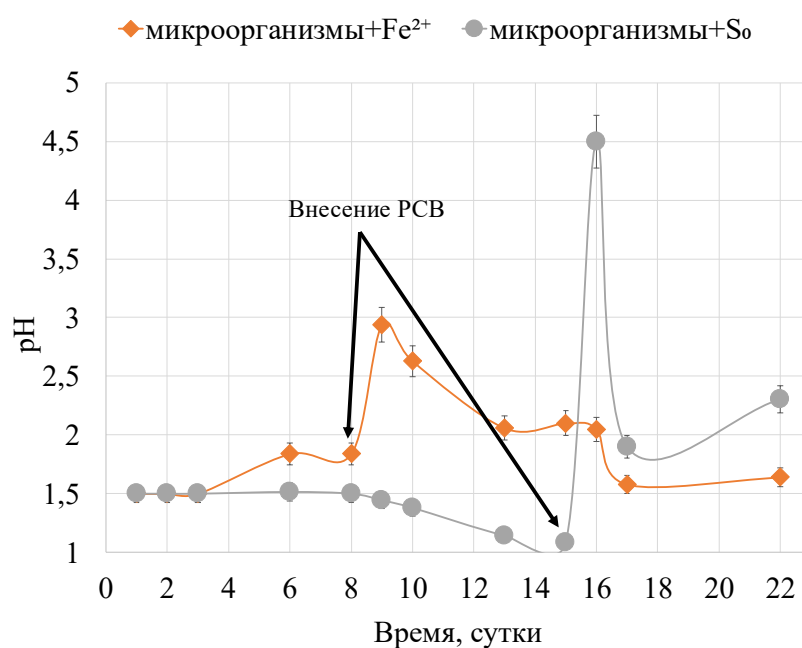
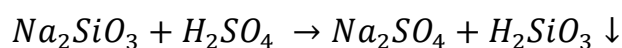


Рисунок 63 — Динамика изменения pH в ходе двухстадийного защелачивания.

Изменение pH происходит за счет взаимодействия серной кислоты с материалами плат — щелочными и щелочноземельными металлами, железом, медью, цинком, пластиковыми частями, стекловолокном и т.д. Например, широко распространенное связующее в составе печатных плат — жидкое стекло, состоящее из силиката натрия, — может взаимодействовать с серной кислотой, согласно следующему уравнению реакции:



Образование сульфата натрия при снижении активности анионов в растворе за счет образования нерастворимого осадка кремниевой кислоты приводит к росту значений pH в среде.

Добавление измельченных плат привело к росту концентрации двухвалентного железа в растворе (Рисунок 64). Также при добавлении плат произошло резкое снижение концентрации трехвалентного железа (Рисунок 65).

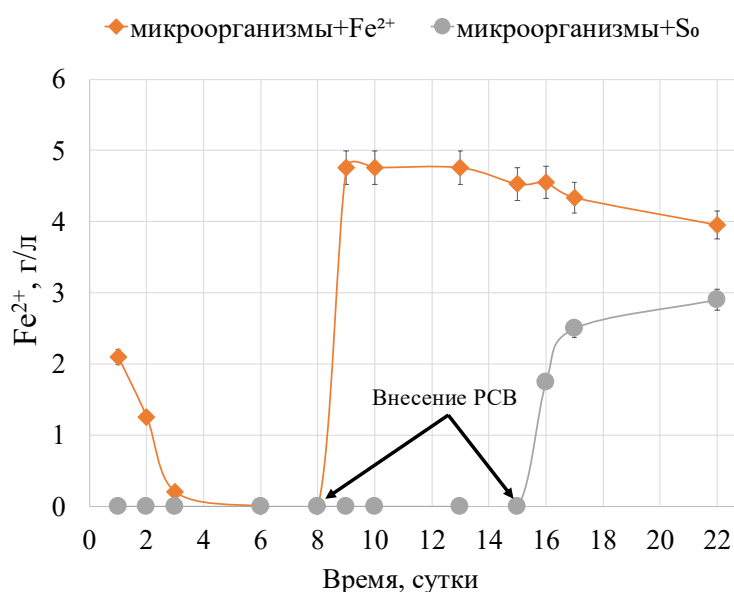


Рисунок 64 — Динамика изменения двухвалентного железа в ходе двухстадийного выщелачивания.

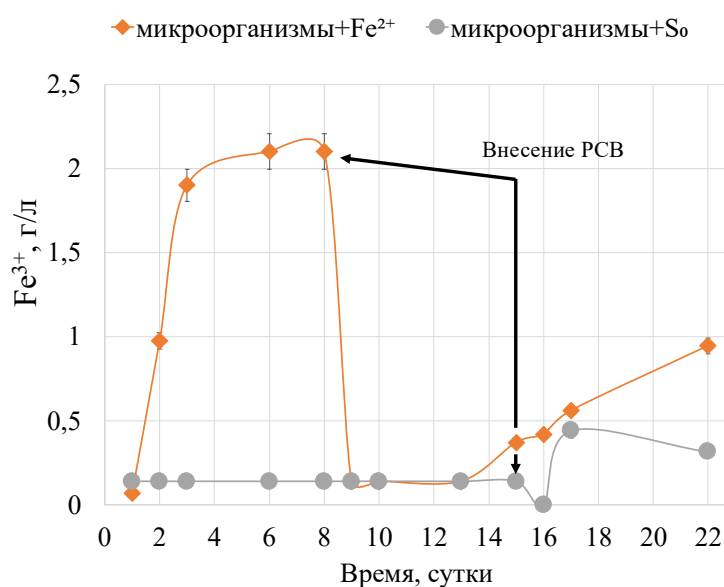


Рисунок 65 — Динамика изменения трехвалентного железа в ходе двухстадийного выщелачивания.

Ионы железа Fe^{3+} являются сильным окислителем, широко используемым в гидрометаллургических процессах. При взаимодействии с металлами (железом, медью, цинком и т.д.) происходит восстановление железа до двухвалентного. Повышение pH также может влиять на концентрацию трехвалентного железа за счет образования нерастворимых осадков. При добавлении серной кислоты в ходе подтитровки произошел небольшой рост концентрации Fe^{3+} , объяснимый растворением образовавшегося осадка. В колбах, в которых происходило предварительное биоокисление двухвалентного железа, наблюдался постепенный линейный рост концентрации трехвалентного железа, который был обусловлен окислением ацидофильными микроорганизмами. Однако, как и в экспериментах с одностадийным выщелачиванием, при микроскопии культуральной жидкости на 22 сутки опыта было выявлено снижение численности клеток микроорганизмов ниже 10^6 кл/мл.

Эффективность процесса выщелачивания оценивали по извлечению меди в жидкую фазу пульпы. Кинетика выщелачивания качественно следовала единому тренду, однако, количественно наблюдались различия при разных вариантах выщелачивания (1 и 2 стадии) (Рисунок 66).

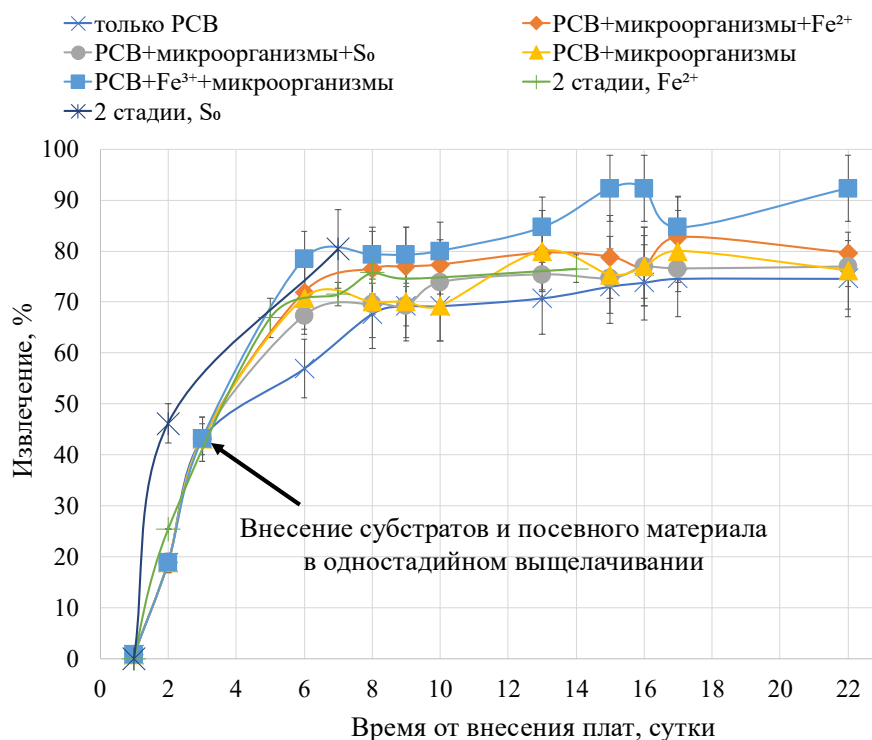


Рисунок 66 — Динамика выщелачивания меди при различных вариантах процесса для образцов, содержащих печатные платы (PCB) и дополнительные субстраты (Fe^{2+} , Fe^{3+} , S^0), а также с добавлением инокулята ацидофильных микроорганизмов.

Добавление микроорганизмов, элементарной серы и сульфатов железа привело к увеличению извлечения меди в ходе одностадийного выщелачивания, относительно контроля. Выделялись результаты двух вариантов эксперимента: с добавлением сульфата железа III и микроорганизмов на третьи сутки эксперимента при одностадийной схеме и с предварительным окислением элементарной серы по двухстадийной схеме выщелачивания. Повышение скорости и степени выщелачивания в обоих случаях объясняется дополнительным внесением веществ, связанных с химическим процессом выщелачивания.

В результате проведенных пробных экспериментов были сформированы два основных направления дальнейших исследований по гидрометаллургической технологии извлечения цветных металлов из плат:

1. Исследование химического выщелачивания с применением растворов серной кислоты и сульфата железа III.
2. Биологическое выщелачивание, связанное с исследованием потенциала адаптации культуры ацидофильных микроорганизмов к печатным платам.

3.3.2 Зависимость скорости окисления железа и роста численности микроорганизмов от концентрации внесенных измельченных плат, температуры и наличия органического субстрата

Наблюдаемое в предварительных экспериментах снижение численности клеток микроорганизмов показало необходимость дополнительного исследования зависимости ростовых характеристик культуры микроорганизмов от концентрации измельченных плат. Поэтому были проведены эксперименты, направленные на установление критического порога концентрации плат в пульпе. Также целью экспериментов было определение влияния температуры и доступности органического субстрата на скорость окисления двухвалентного железа и на скорость роста микроорганизмов. Для этого провели серию экспериментов в колбах Эрленмейера с рабочим объемом среды 100 мл в два основных этапа: на первом этапе оценивали динамику изменения численности клеток и параметров жидкой фазы в зависимости от плотности пульпы измельченных печатных плат в диапазоне от 0 до 5,0%, а на втором этапе дополнительно исследовали установленные в первом эксперименте пороговые концентрации.

3.3.2.1 Зависимость скорости окисления железа и роста численности микроорганизмов от концентрации внесенных измельченных плат

В ходе первой стадии эксперимента определяли качественно-количественную зависимость изменения рН и количество необходимой серной кислоты для подтитровки в зависимости от плотности пульпы печатных плат. В качестве контроля использовали образцы без внесенных плат с минеральной средой 9KS с начальным содержанием 2 г/л Fe^{2+} . Колбы инкубировали при 30 °С (Рисунок 67).

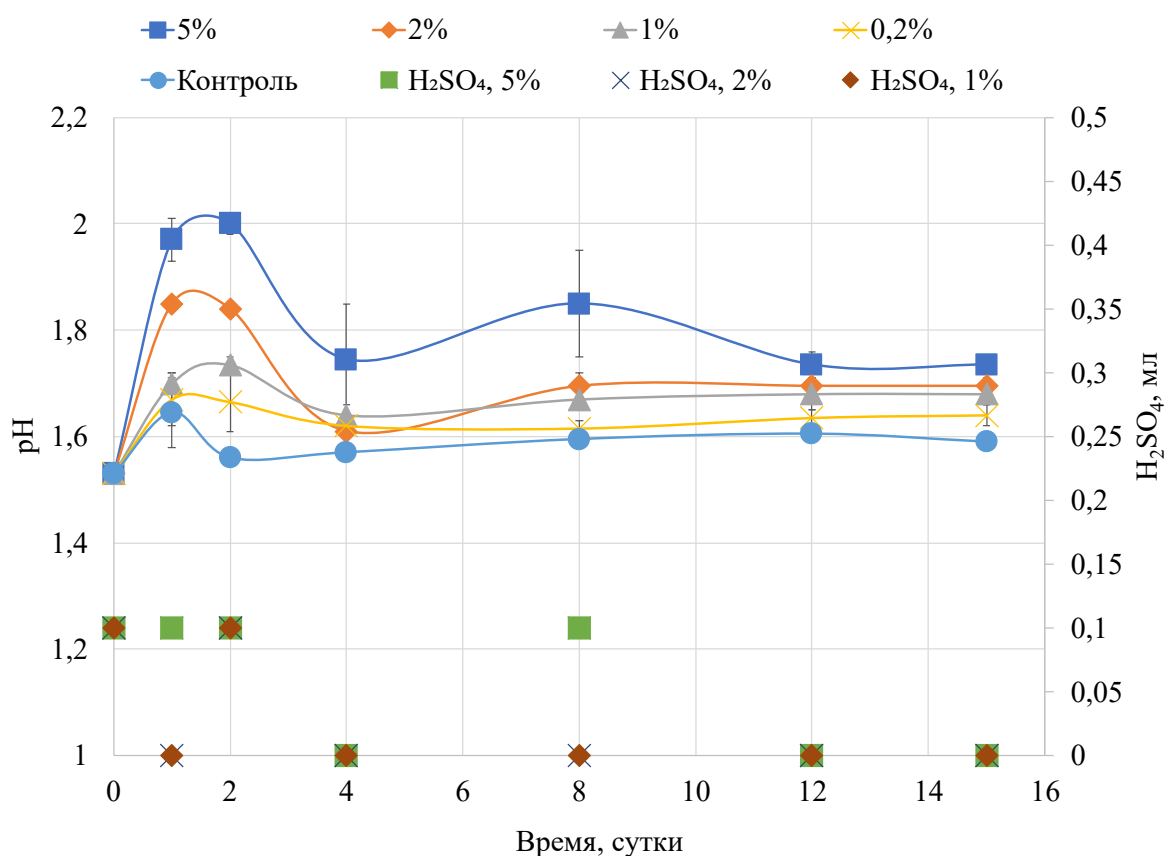


Рисунок 67 — Динамика изменения значений рН в течение эксперимента по определению пороговых значений плотности пульпы измельченных печатных плат.

Как и в пробных экспериментах по биовыщелачиванию, внесение плат привело к защелачиванию среды. Было установлено, что удельный расход серной кислоты для стабилизации кислотности среды в диапазоне от 1,5 до 1,8 рН от плотности пульпы плат имеет обратную степенную зависимость (Рисунок 68).

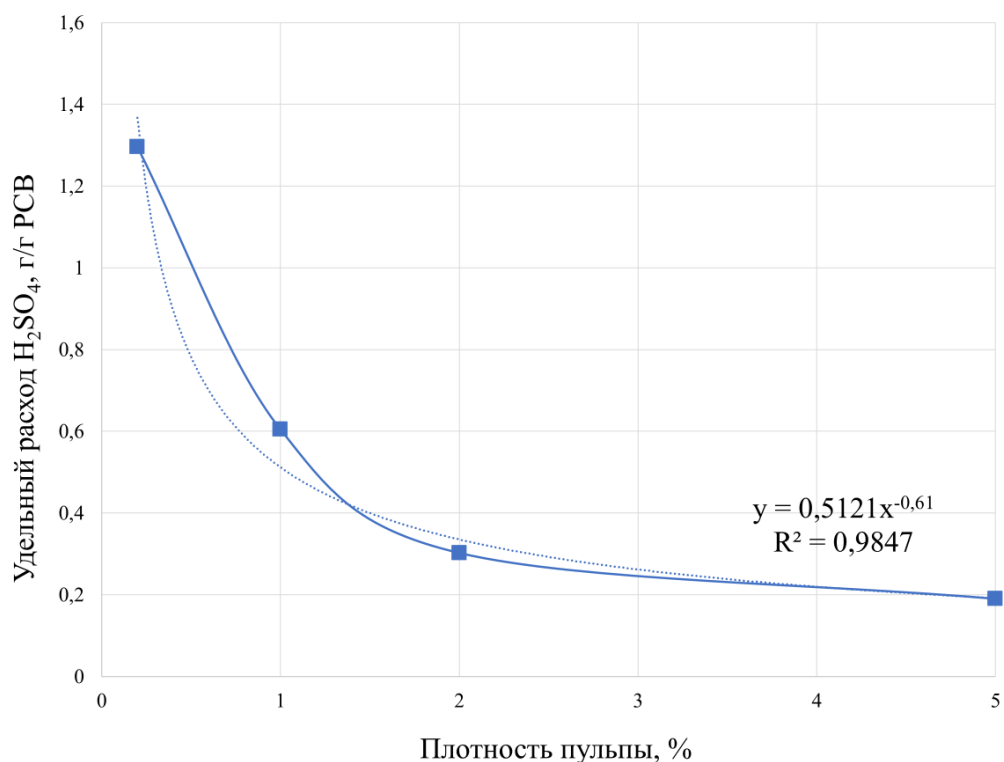
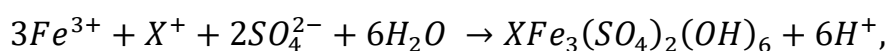


Рисунок 68 — Зависимость удельного потребления серной кислоты для подтитровки от плотности пульпы измельченных плат.

Данная зависимость характерна для процессов выщелачивания металлосодержащего сырья. Этот эффект может быть обусловлен образованием ярозита с последующим высвобождением протонов в среду, согласно следующему уравнению реакции (Gahan et al., 2009):



где X^{+} — это K^{+} , Na^{+} , H_3O^{+} , NH_4^{+} и т.д.

Вторым механизмом, объясняющим снижение удельного потребления серной кислоты при повышении плотности пульпы, может быть снижение доступной площади поверхности частиц. Взаимодействие частиц между собой с последующим образованием агломератов с меньшей суммарной площадью поверхности — распространенный фактор ограничения гидрометаллургических процессов (MacCarthy et al., 2015; Nagar et al., 2021).

Добавление печатных плат привело к повышению концентрации растворенного железа. При протекании метаболических процессов ацидофильных железоокисляющих микроорганизмов железо окислялось до трехвалентного. Однако, динамика изменения

концентрации трехвалентного железа отличалась при разных плотностях пульпы (Рисунок 69).

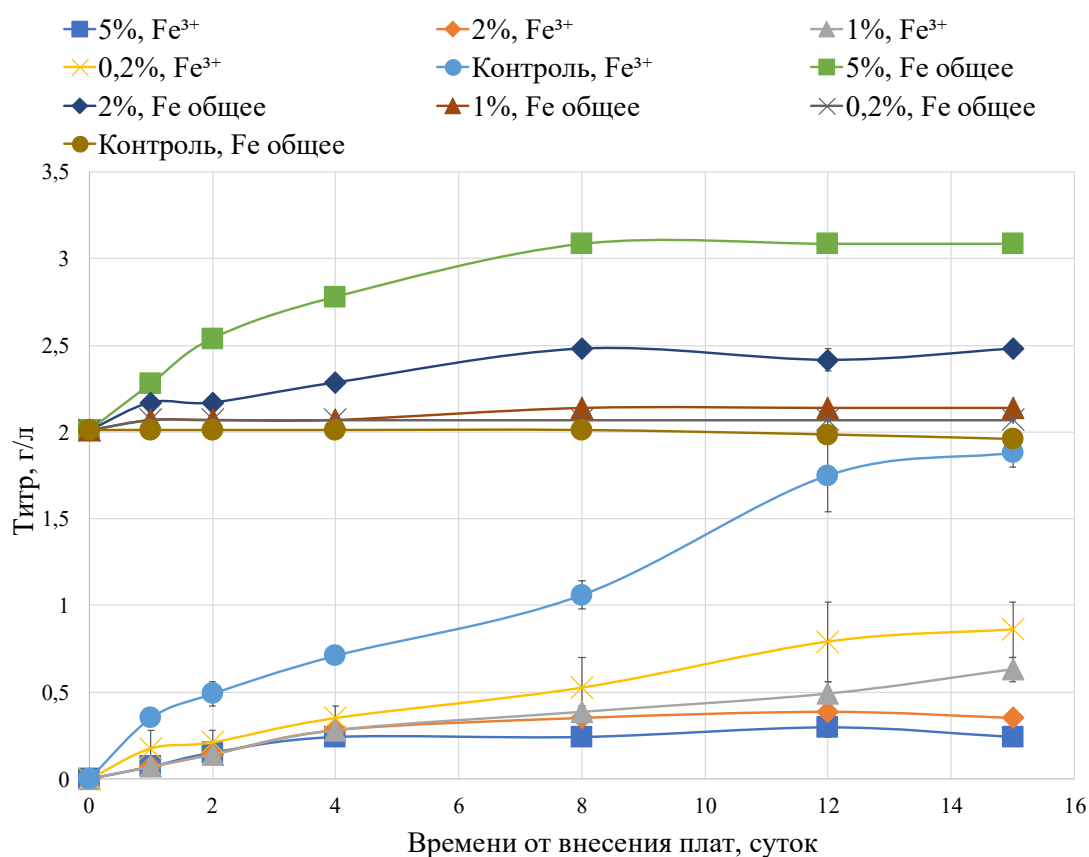


Рисунок 69 — Динамика изменения концентрации соединений железа при разной плотности пульпы измельченных плат.

При добавлении печатных плат даже в небольшой концентрации (2 г/л или 0,2% плотности пульпы (п/п)) снижалась скорость окисления железа ацидофильными микроорганизмами. При плотностях пульпы 2% и 5% концентрация трехвалентного железа прекратила расти на четвертые сутки, что свидетельствует об отсутствии окисления железа микроорганизмами, и, как следствие, роста их численности. Полученная динамика коррелирует к наблюдаемой численностью клеток микроорганизмов в жидкой фазе пульпы (Рисунок 70).

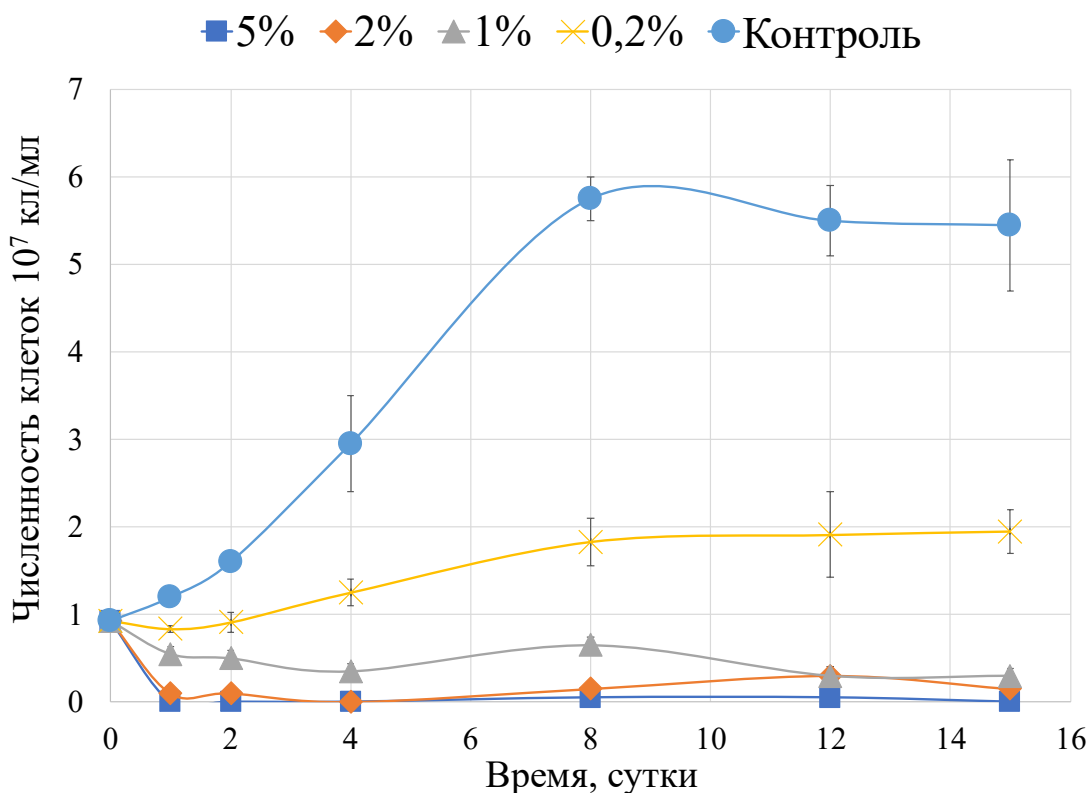


Рисунок 70. Изменение численности клеток микроорганизмов при разной плотности пульпы измельченных плат.

При повышении концентрации печатных плат выше 0,2% наблюдаемая численность клеток не повысилась относительно стартовой (10^7 клеток/мл). В ходе обсуждения результатов эксперимента были выдвинуты две основные гипотезы: в присутствии плат микроорганизмы не способны к росту и частично лизируются; при добавлении плат микроорганизмы переходят в осаждаемую отстаиванием перед подсчетом клеток твердую фазу — в виде прикрепленной биомассы (био пленок). Вторая гипотеза может быть отброшена в виду отсутствия видимой по концентрации трехвалентного железа активности микроорганизмов, характерных для ацидофильных микроорганизмов. Это показывает, что внесение измельченных плат, по меньшей мере, сказывается негативно на выживаемости и активности железоокисляющих микроорганизмов, которые должны были бы играть ключевую роль в процессах биовыщелачивания. Поэтому дальнейшие эксперименты в колбах Эрленмейера в среде с двухвалентным железом и пульпой измельченных плат продолжали с низкими плотностями пульпы — 0,2%, и исследовали потенциал к адаптации используемой накопительной культуры ацидофильных микроорганизмов.

3.3.2.2 Влияние наличия органического субстрата и температуры на рост численности микроорганизмов и скорость окисления железа в присутствии плат

В ходе второй части эксперимента целью было качественно определить направления оптимизации процесса выщелачивания в присутствии плат. Для этого исследовали влияние добавления дрожжевого экстракта (0,02%) в минеральную среду 9KS (4 г/л Fe^{2+}) в двух температурных режимах: 30 и 42 °С. В ходе исследования в экспериментальные колбы вносили тот же образец измельченных печатных плат, что и в первой стадии эксперимента, используя плотности пульпы 0,1% и 0,2%. Контрольные образцы были представлены в двух вариантах: с дрожжевым экстрактом (0,02%) и без добавления дрожжевого экстракта. В оба варианта контрольных образцов вносили минеральную среду 9KS с добавлением сульфата железа II до начального содержания двухвалентного железа в среде 4 г/л. Период наблюдений составил 21 сутки.

Выбор температурного режима определялся температурными оптимумами роста ацидофильных микроорганизмов, способных окислять железо. Для бактерий *Acidithiobacillus ferrooxidans* оптимальной для роста и окисления железа считается температура 30 °С, в то время, как для бактерий родов *Leptospirillum* и *Sulfobacillus* более оптимальными являются более высокие температуры. Поэтому часть образцов инкубировали при температуре 42 °С, которая находится в границах диапазона роста как для многих мезофильных микроорганизмов, так и для умеренных термофилов. Добавление органического субстрата в виде дрожжевого экстракта — важный фактор роста для миксотрофных и гетеротрофных ацидофильных микроорганизмов (Konishi et al., 1998, Muravyov et al., 2010; Zhou et al., 2008), который мог бы значительно увеличить скорость окисления двухвалентного железа и стимулировать рост микроорганизмов.

В ходе экспериментов, проведенных при температуре инкубирования 30 °С, определяли динамику изменения значений pH, концентраций ионов железа и численности клеток (Рисунок 71 – 73).

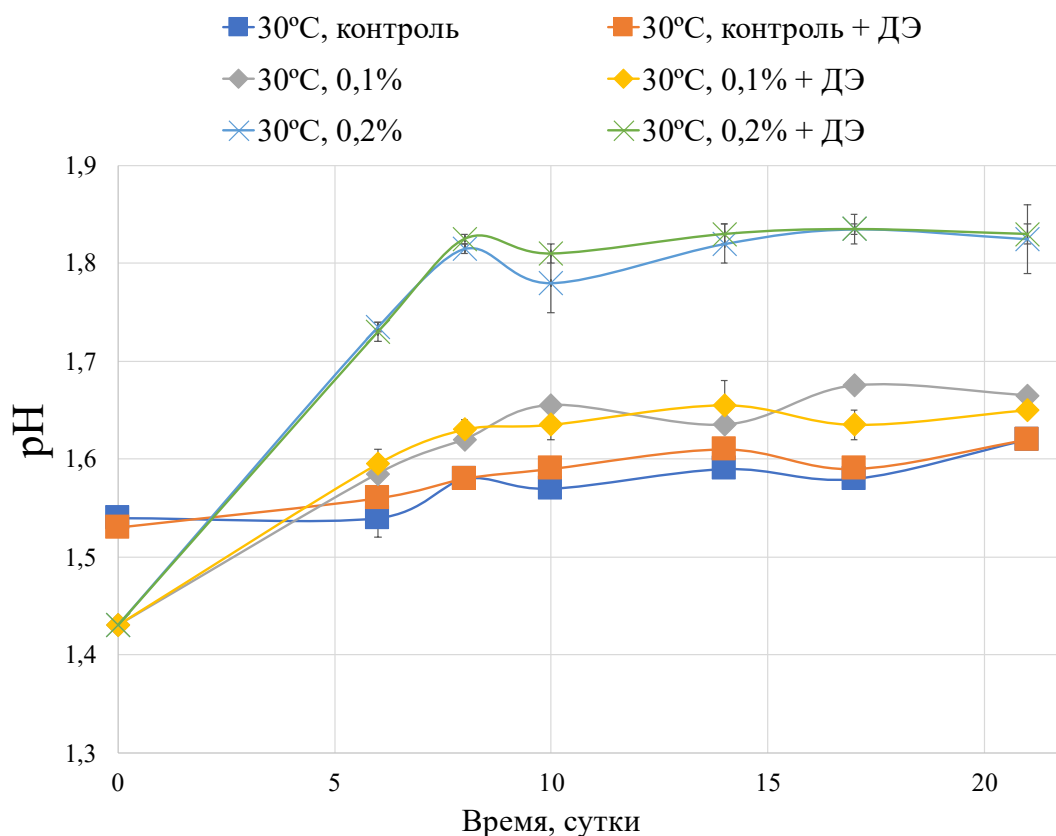


Рисунок 71 — Изменение рН в ходе эксперимента при 30 °С.

Во всех образцах среда постепенно защелачивалась по мере окисления двухвалентного железа до трехвалентного. В течение эксперимента не потребовалось внесение серной кислоты для корректировки рН, так как во всех образцах кислотность среды находилась в оптимальном диапазоне роста ацидофильных микроорганизмов. В экспериментальных образцах, в которые вносили измельченные платы, наблюдаемые значения рН зависели от плотности пульпы неравномерно. При пересчете рН в концентрацию свободных протонов с последующим учетом степени диссоциации серной кислоты при наблюдаемом рН, удельное потребление кислоты соединениями, присутствующими в составе плат, уменьшилось при снижении плотности пульпы с 0,2 до 0,1%, соответственно, с 1,14 г H_2SO_4 до 0,81 г H_2SO_4 на грамм измельченных плат. Это может обуславливаться взаимодействием частиц со стенками колб и между собой, которое может характеризоваться определенной концентрацией насыщения, прямо пропорциональной площади поверхности сосуда. Такое взаимодействие визуально заметно и требует дополнительного механического воздействия на пульпу (поперечного перемешивания, скребковых устройств и т.д.), которое затруднено при использовании колб Эрленмейера.

Скорость окисления железа также снижалась при увеличении плотности пульпы, как и в предыдущем эксперименте (Рисунок 72).

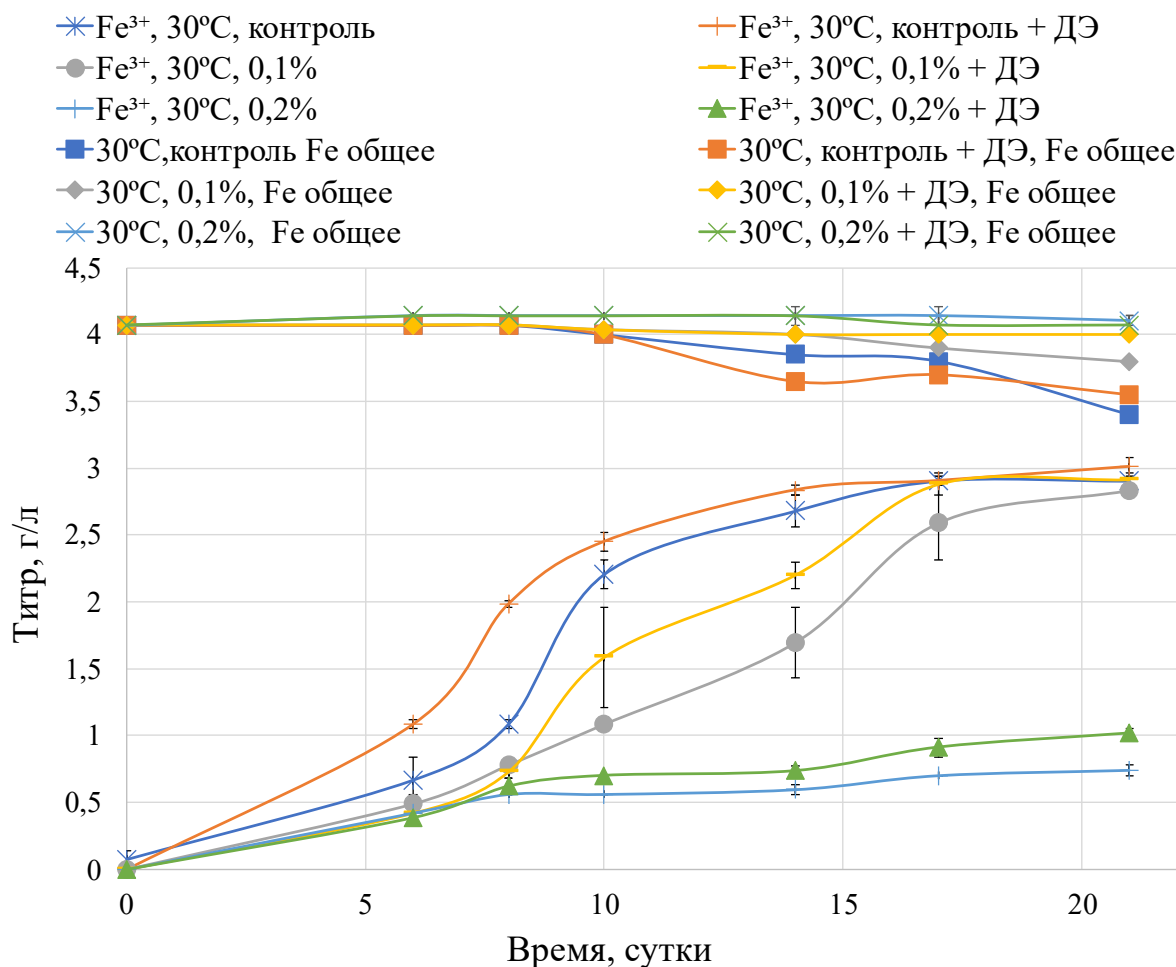


Рисунок 72 — Изменение концентрации соединений железа при 30 °С.

Общее содержание железа в растворе во всех образцах имело тенденцию к снижению из-за образования малорастворимых соединений. Однако, в экспериментальных образцах содержание железа снижалось меньше, чем в контрольных. Это может быть обусловлено различием в динамике концентрации трехвалентного железа: в контрольных образцах двухвалентное железо в значительной степени окислялось как при наличии, так и при отсутствии дрожжевого экстракта, в то время как в экспериментальных образцах окисление железа происходило значительно медленнее.

Внесение дрожжевого экстракта оказало положительный эффект на скорость окисления железа во всех образцах. Присутствие ДЭ, по всей видимости, стимулировало рост и железоокисляющую активность гетеротрофных и миксотрофных

микроорганизмов (например, архей рода *Ferroplasma*, большинство штаммов которых являются мезофильными) (Рисунок 73).

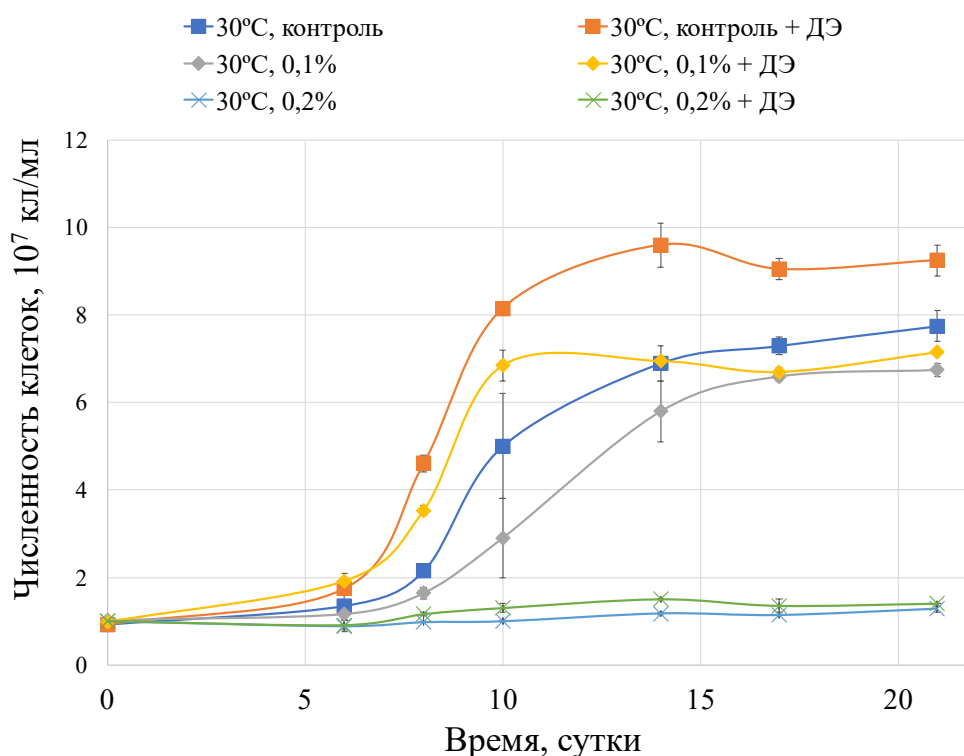


Рисунок 73 — Динамика изменения численности клеток микроорганизмов в жидкой фазе пульпы при 30 °С.

Рост численности клеток в образцах с добавлением в среду дрожжевого экстракта происходил быстрее, чем в образцах без добавления органических субстратов, причем в образцах с плотностью пульпы печатных плат 0,1% с добавлением ДЭ численность микроорганизмов увеличивалась быстрее, чем в контроле без ДЭ и плат. Динамика изменения численности клеток микроорганизмов несколько расходится с динамикой окисления железа, что может указывать на рост хемоорганотрофной ацидофильной микробиоты, которая не окисляла железо в присутствии органического субстрата. На это также указывает сравнение динамики изменения численности клеток после 10 суток эксперимента: если в образцах с плотностью пульпы 0,1% и ДЭ численность клеток не увеличивалась, то в контрольных образцах без ДЭ и плат происходило постепенно линейное увеличение численности, характерное для стадии замедленного роста микроорганизмов. В образцах с плотностью пульпы плат 0,2% также численность клеток при добавлении ДЭ была выше, однако, при сравнении с другими образцами с более

низкой плотностью пульпы становится очевиден ингибирующий эффект, как на скорость окисления железа, так и на рост численности клеток.

При 42 °С наблюдалась схожая динамика изменения значений рН в ходе эксперимента, что и при 30 °С (Рисунок 74).

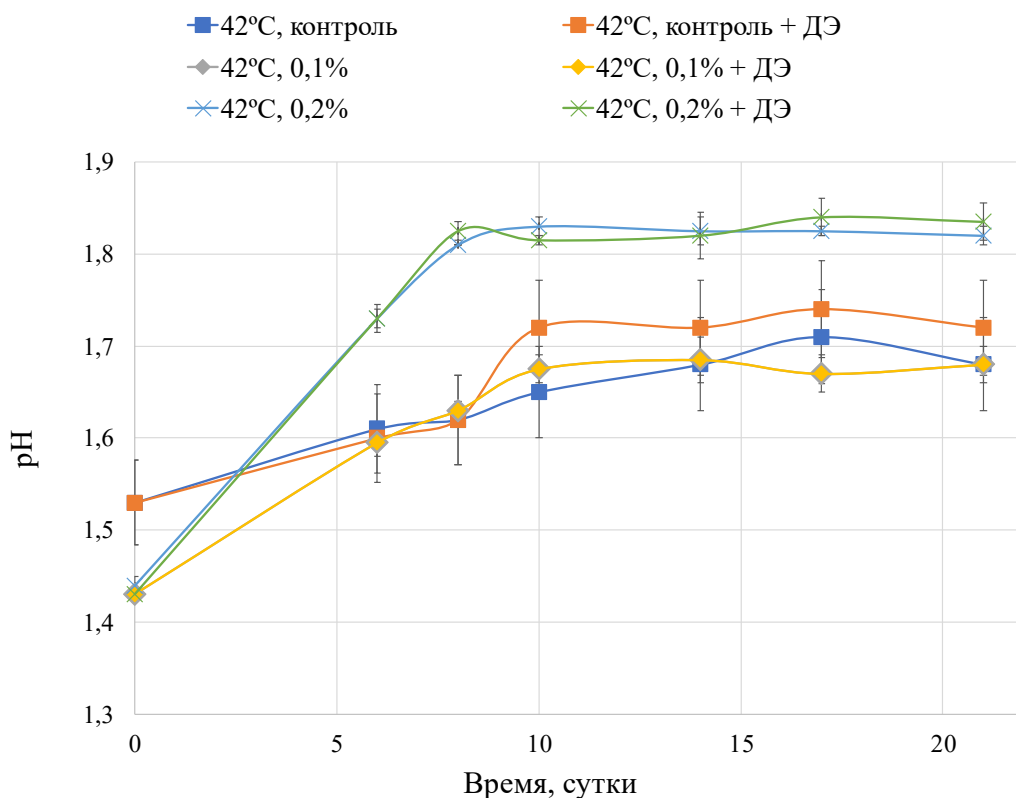


Рисунок 74 — Изменение рН в течение эксперимента при 42 °С.

Добавление 2 г/л измельченных плат повлияло на изменение рН более выражено, чем 1 г/л. При проведении аналогичного подсчета удельного потребления серной кислоты за счет изменения рН, значение составило 1,31 г H_2SO_4 /г печатных плат при плотности пульпы 1 г/л и 0,83 г H_2SO_4 /г печатных плат при плотности пульпы 2 г/л.

Динамика изменения концентрации трехвалентного железа и общего содержания железа качественно совпадает с наблюдаемыми аналогичными параметрами при 30 °С. Скорость окисления железа в экспериментальных образцах была относительно низкой с небольшим увеличением при добавлении ДЭ. В контроле скорость окисления железа на среде с ДЭ была значительно выше, чем на среде с органическим субстратом (Рисунок 75).

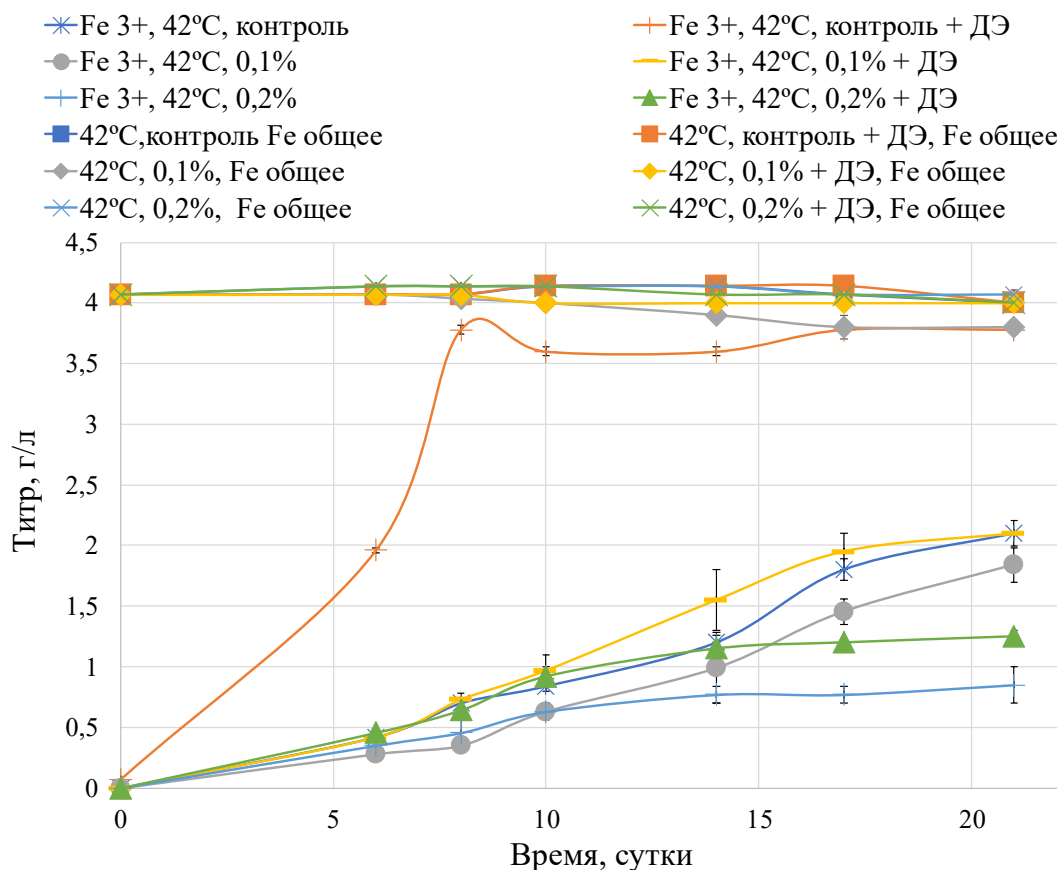


Рисунок 75 — Динамика изменения содержания железа в течение эксперимента при 42 °С.

Динамика численности клеток микроорганизмов зависела от наличия дрожжевого экстракта в среде при инкубировании образцов при температуре 42 °С. В отличие от процесса при 30 °С, численность клеток в экспериментальных образцах была ближе к контрольным: при плотности пульпы 0,1% с ДЭ численность клеток оказалась максимальной среди всех образцов, а при плотности пульпы 0,2% с ДЭ численность клеток была близка к контрольным образцам без ДЭ.

Рост клеток с использованием органики в качестве субстрата более характерен для микроорганизмов при повышенных температурах (Muravyov et al., 2010; Zhou et al., 2008), что обуславливает более высокую скорость роста микроорганизмов при 42 °С, чем при 30 °С (Рисунок 76).

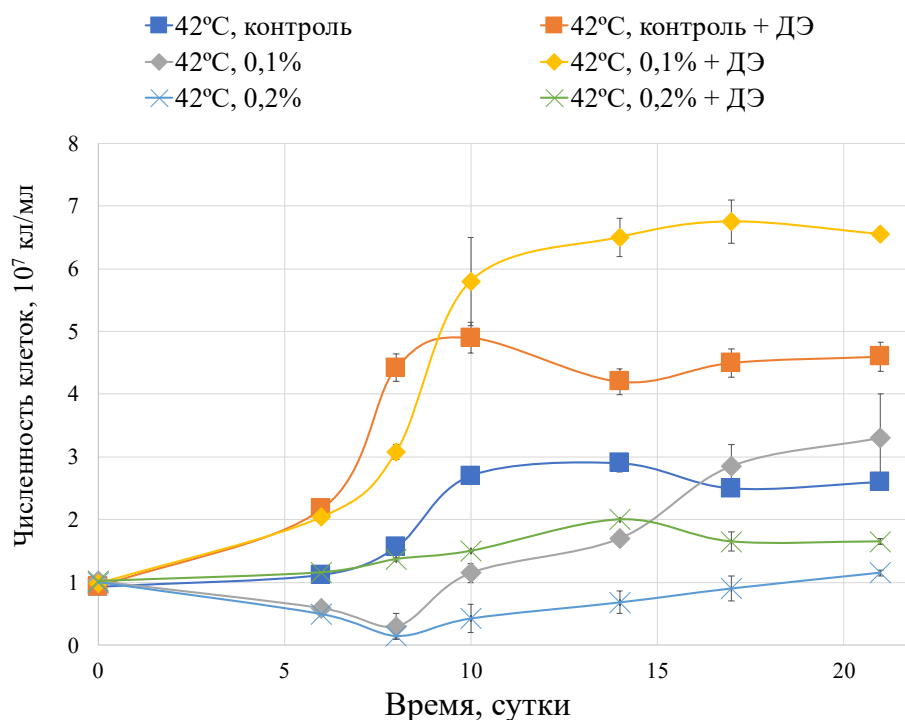


Рисунок 76 — Динамика изменения численности клеток микроорганизмов в жидкой фазе пульпы при 42 °С.

Таким образом, в ходе проведенных экспериментов была показана зависимость динамики роста численности микроорганизмов и скорости окисления железа от плотности пульпы измельченных плат при двух температурных режимах — 30 °С и 42 °С при добавлении ДЭ в среду. Установлено, что добавление ДЭ положительно влияет на скорость роста микроорганизмов при добавлении плат, но эффект не позволяет преодолеть ингибирование роста при плотности пульпы 0,2%. Такие же выводы можно сделать и о динамике окисления двухвалентного железа в обоих температурных режимах. Попытки провести адаптацию смешанной культуры в колбах Эрленмейера путем многократных пассажей накопительной культуры в среду, содержащую измельченные платы (от 0,2% до 0,4%), не позволили добиться качественного изменения ни динамики окисления железа, ни скорости роста. Добавление ДЭ и повышение температуры в дальнейших процессах адаптации культуры в колбах не оказали значительного влияния на процесс.

Основываясь на полученных данных, было принято решение продолжить исследования процессов переработки измельченных печатных плат в других системах культивирования — с использованием сульфидных материалов и с использованием двухстадийного процесса.

3.4 Химическое выщелачивание меди и никеля из измельченных печатных плат

Для оценки базовых кинетических параметров процесса выщелачивания были проведены эксперименты по химическому выщелачиванию меди и никеля из представленного образца печатных плат с помощью растворов серной кислоты, содержащих сульфат железа III с разными концентрациями. Проведение пробных экспериментов в лабораторной установке, которые были нацелены на оптимизацию основных параметров выщелачивания, показали разную динамику извлечения меди и никеля при плотности пульпы плат 10% в зависимости от температуры.

Снижение плотности пульпы до 5% при схожих условиях (50 °C и начальный титр $\text{Fe}^{3+} \sim 10$ г/л) изменило динамику извлечения меди (Рисунок 77).

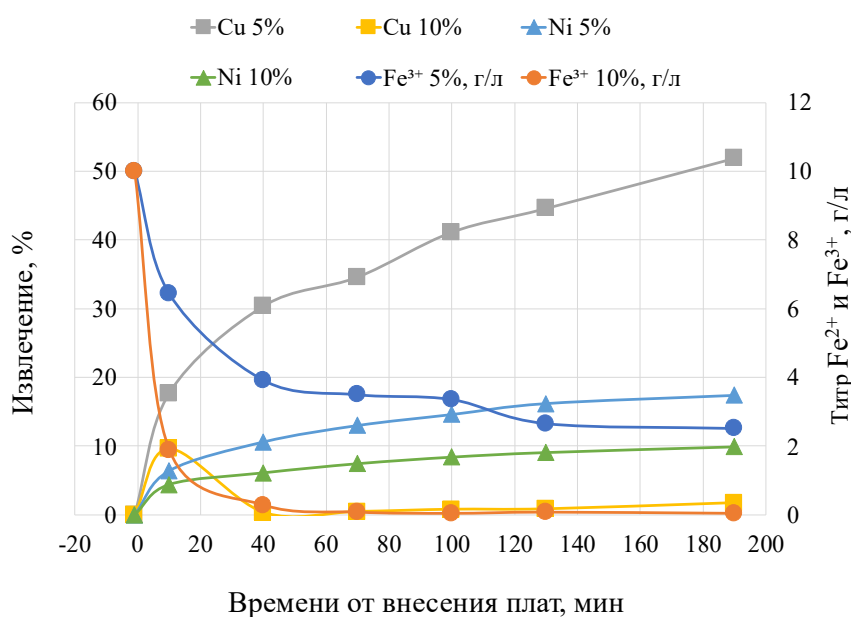


Рисунок 77 — Динамика выщелачивания меди и никеля при плотности пульпы 5 и 10%.

Зависимость скорости выщелачивания от температуры является нелинейной, что необычно для данного процесса и идет в разрез с данными, описанными в работе (Yazıcı & Devesi, 2014). Изменение концентрации меди в растворе при температурах 25, 50 и 75°C имело различную форму кривой, в то время как абсолютные значения за 180-минутный период исследования были выше при 25 °C по сравнению с 50 °C. Извлечение цветных металлов в раствор сопровождается снижением концентрации трехвалентного железа. Мы предполагаем, что эффект снижения скорости выщелачивания связан с

колебаниями окислительно-восстановительного потенциала, которые возникают при низких концентрациях трехвалентного железа (<1 г/л), и этот эффект становится менее значительным с повышением температуры.

Снижение плотности пульпы оказало существенное влияние на процесс выщелачивания меди. Это не только привело к увеличению скорости выщелачивания, но и предотвратило падение концентрации меди в растворе, которое наблюдалось при более низкой концентрации трехвалентного железа. Содержание трехвалентного железа в растворе при 5% плотности пульпы сначала резко снижалось, но оставалось в пределах не менее 2 г/л. Увеличение начальной концентрации Fe^{3+} при 50 °С и плотности пульпы 10% показало аналогичную картину выщелачивания меди по сравнению с процессом при более низкой плотности пульпы (Рисунок 78).

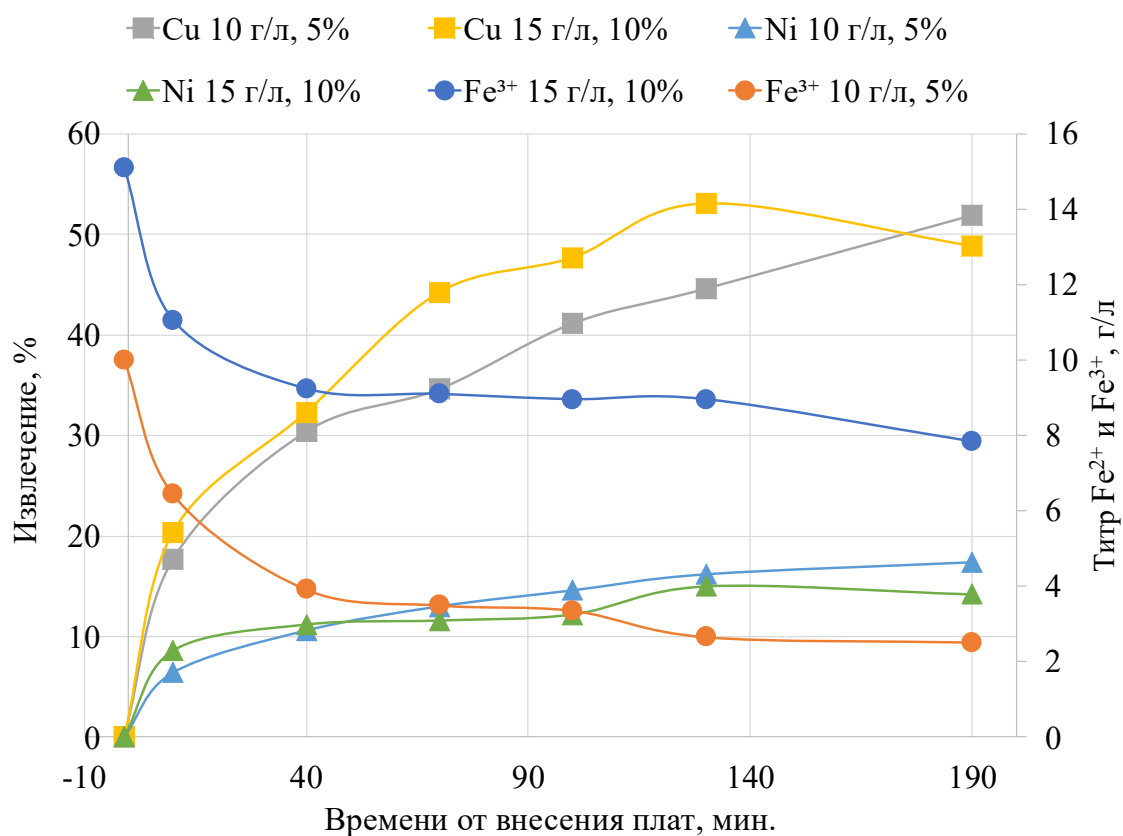


Рисунок 78 — Сравнение динамики извлечения меди и никеля при 50 °С в двух вариантах: при п/п 10% и стартовым содержанием Fe^{3+} 15 г/л, и п/п 5% и стартовым содержанием Fe^{3+} 10 г/л.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что повышение температуры может привести к повышению эффективности выщелачивания, но только при наличии

избытка трехвалентного железа в растворе. Этого можно достичь либо снижением плотности пульпы, либо увеличением начальной концентрации трехвалентного железа. Кроме того, скорость химического выщелачивания может быть повышена за счет повторного окисления железа *in situ* с использованием окислителей, таких как перекись водорода или кислород (Yazıcı & Deveci, 2014).

Подбор оптимальных параметров химического выщелачивания в опытной установке позволил определить основные закономерности процесса (Таблица 28).

Таблица 28 — Извлечение Cu и Ni после 180 минут от внесения плат при изменении параметров выщелачивания

Температура, °C	(Fe ³⁺) стартовая, г/л	Плотность пульпы, %	Извл. Ni, %	Извл. Cu, %
50	0	10	6,6	0
75	0	10	9,2	0,5
25	10	10	16	17,3
50	10	10	21,9	6,2
75	10	10	21,6	24,2
50	15	10	18,3	35,2
50	15	5	14,2	48,8
50	10	5	17,4	51,9

Расход кислоты, необходимый для поддержания pH в растворе выщелачивания в диапазоне от 1,0 до 2,0, также зависел от температуры. Повышение температуры привело к увеличению расхода кислоты следующим образом: при 25 °C — 0,13 г H₂SO₄/грамм образца; при 50 °C — 2,01 г H₂SO₄/грамм образца; и при 75 °C — 0,32 г H₂SO₄/грамм образца. Однако изменения начальной концентрации трехвалентного железа и плотности пульпы в пределах, описанных выше, практически не влияли на потребление кислоты. Чтобы оценить потенциал масштабирования результатов, полученных на первом этапе экспериментов, мы провели процесс выщелачивания в лабораторных реакторах с мешалкой. Скорость выщелачивания меди при плотности пульпы 5% была выше, чем при плотности 10%, как и в предварительных экспериментах. Окислительно-восстановительный потенциал в процессе выщелачивания при более низкой плотности пульпы не опускался ниже 605 мВ, в то время как значения в процессе с плотностью пульпы 10% снизились до 463 мВ. Выщелачивание никеля происходило медленнее, чем

выщелачивание меди, и в ходе эксперимента на плотность пульпы и окислительно-восстановительный потенциал (Eh) существенно не влияли. Увеличение концентрации никеля в растворе имело одинаковую линейную тенденцию в обоих реакторах (Рисунок 79).

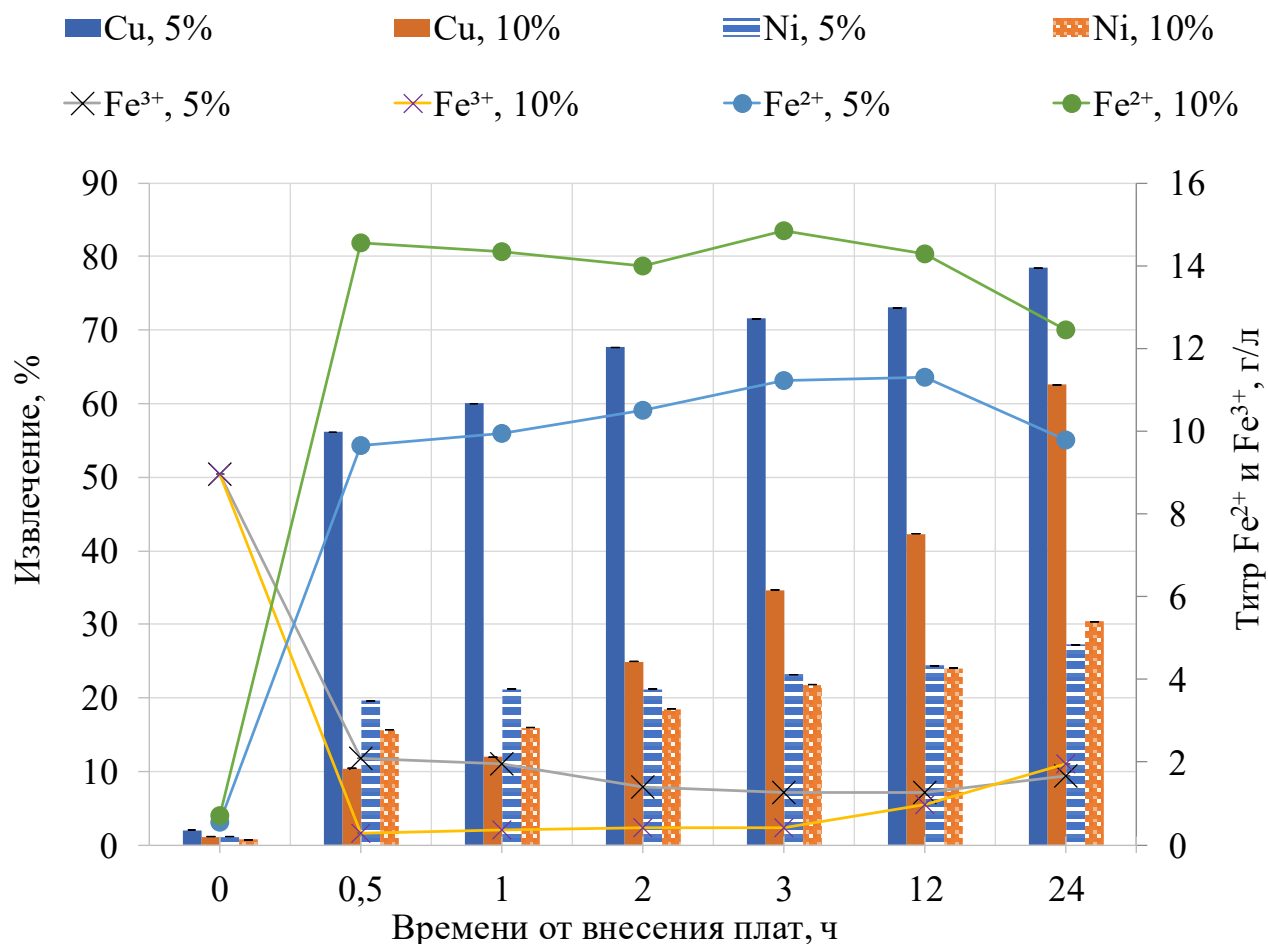


Рисунок 79 — Сравнение динамики извлечения меди и никеля при 50 °С и стартовым содержанием Fe³⁺ 10 г/л в реакторах при п/п 10% и п/п 5%.

Таким образом, в ходе данного эксперимента была принципиально показана эффективность растворов трехвалентного железа и серной кислоты как выщелачивающего раствора для измельченных печатных плат. Полученные данные были использованы в экспериментах по двухстадийному выщелачиванию.

3.5 Одностадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат

В соответствии с планом эксперимента результаты представлены в отдельных разделах, соответствующих двум исследованным режимам работы. В этих разделах описывается динамика ключевых параметров биоокисления и анализ связанных с этим изменений в структуре микробного сообщества.

3.5.1 Результаты эксперимента в периодическом режиме

В ходе эксперимента отслеживали следующие параметры выщелачивания в периодическом режиме: pH, окислительно-восстановительный потенциал (Eh), концентрацию двухвалентного и трехвалентного железа и общее содержание железа. Данные, полученные в экспериментальном реакторе во время первого, второго и третьего циклов, представлены в сравнении со средними значениями, полученными в контрольном реакторе за три цикла. Содержание измельченных плат в пульпе экспериментального реактора во всех трех циклах составляло 5 г/л или 0,5% плотности пульпы.

3.5.1.1 Динамика параметров жидкой фазы

Динамика изменений параметров жидкой фазы в экспериментальном реакторе менялась от первого к третьему циклу, приближаясь к результатам, полученным в контрольном реакторе. Анализ значений pH, Eh и концентрации катионов Fe^{2+} и Fe^{3+} показал отчетливые различия между экспериментальным и контрольным реакторами. В ходе первого запуска показатели жидкой фазы пульпы экспериментального реактора не изменялись вплоть до 24 суток от начала эксперимента, после которых было зафиксировано снижение pH, рост Eh и концентрации трехвалентного железа. Во втором запуске биоокисление железа и серы наблюдалось уже после 12 суток от начала процесса, в третьем — к 10 суткам.

Динамика параметров отражена на следующих диаграммах (Рисунок 80). Динамика выщелачивания меди и никеля в экспериментальном реакторе в ходе трех запусков отображена на следующих диаграммах (Рисунок 81).

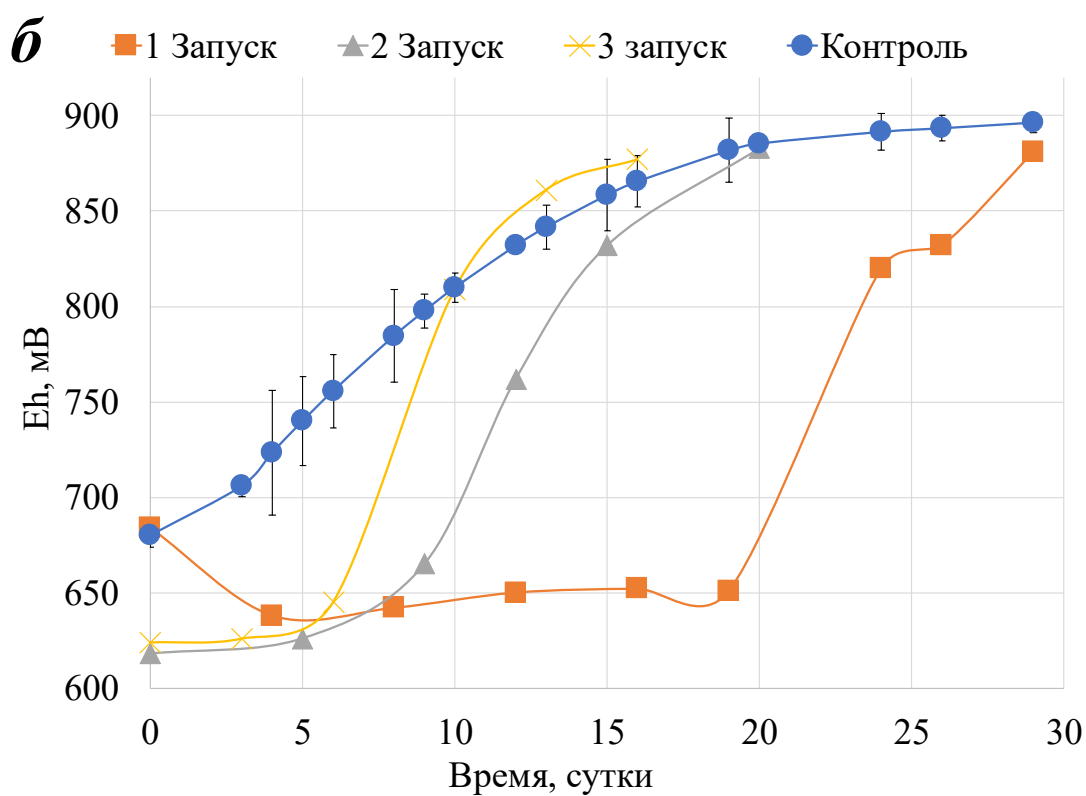
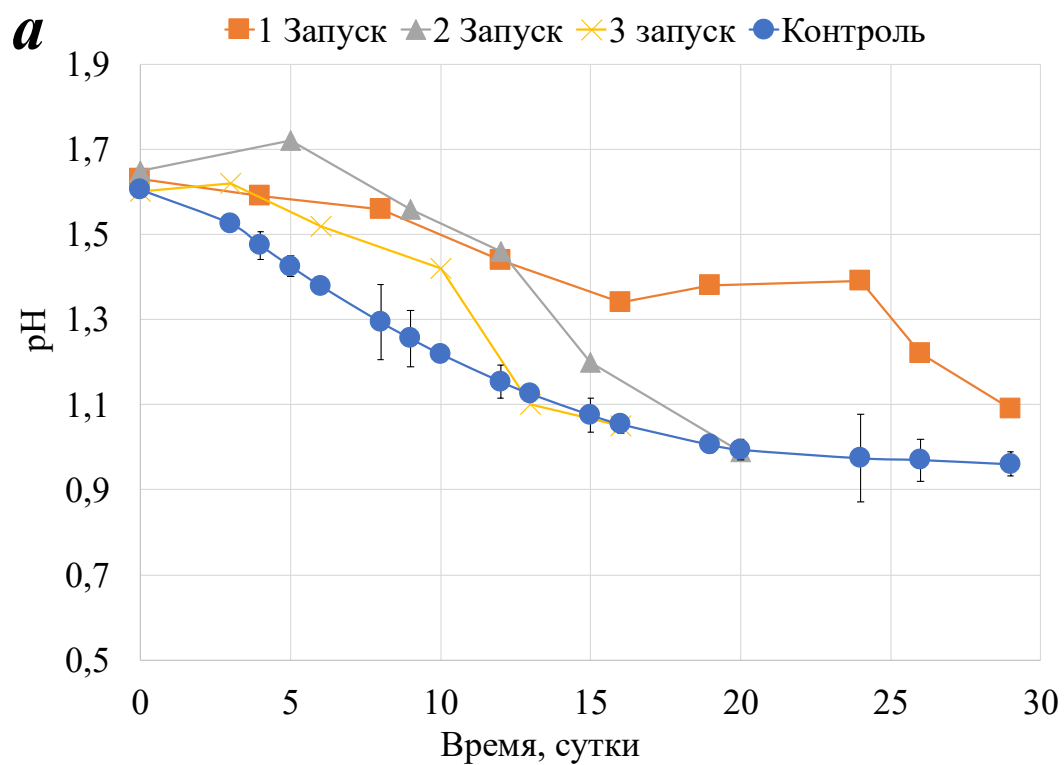


Рисунок 80 — Динамика изменения параметров жидкой фазы в периодическом режиме: pH (**a**), Eh (**б**). Цитировано с изменениями по Kolossoff et al., 2026.

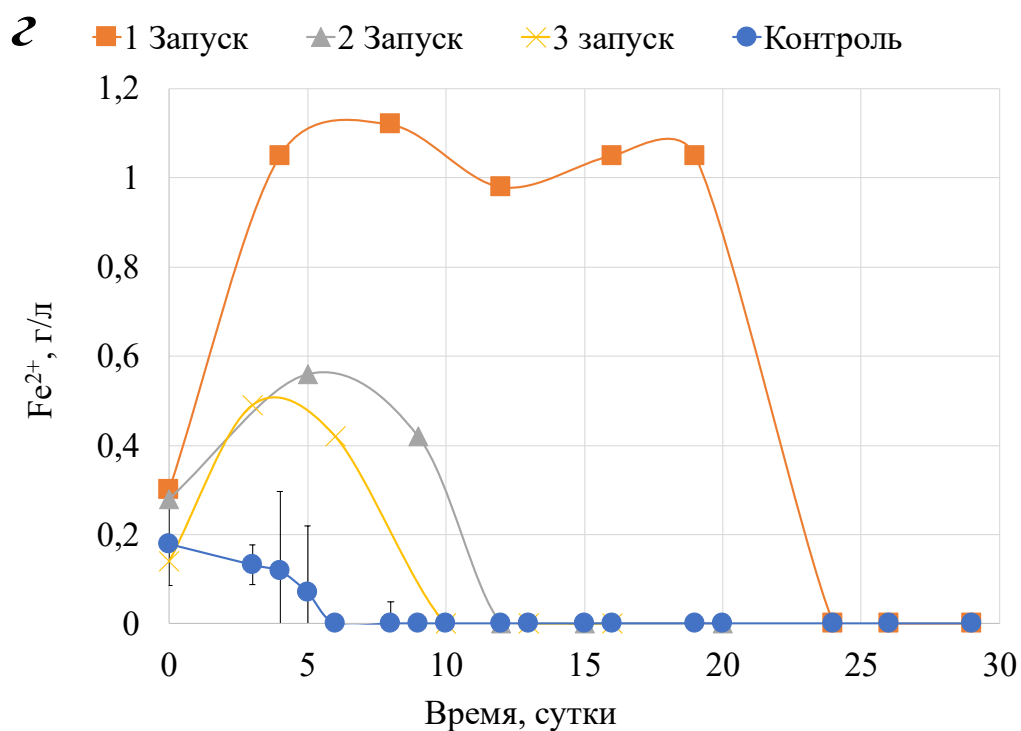
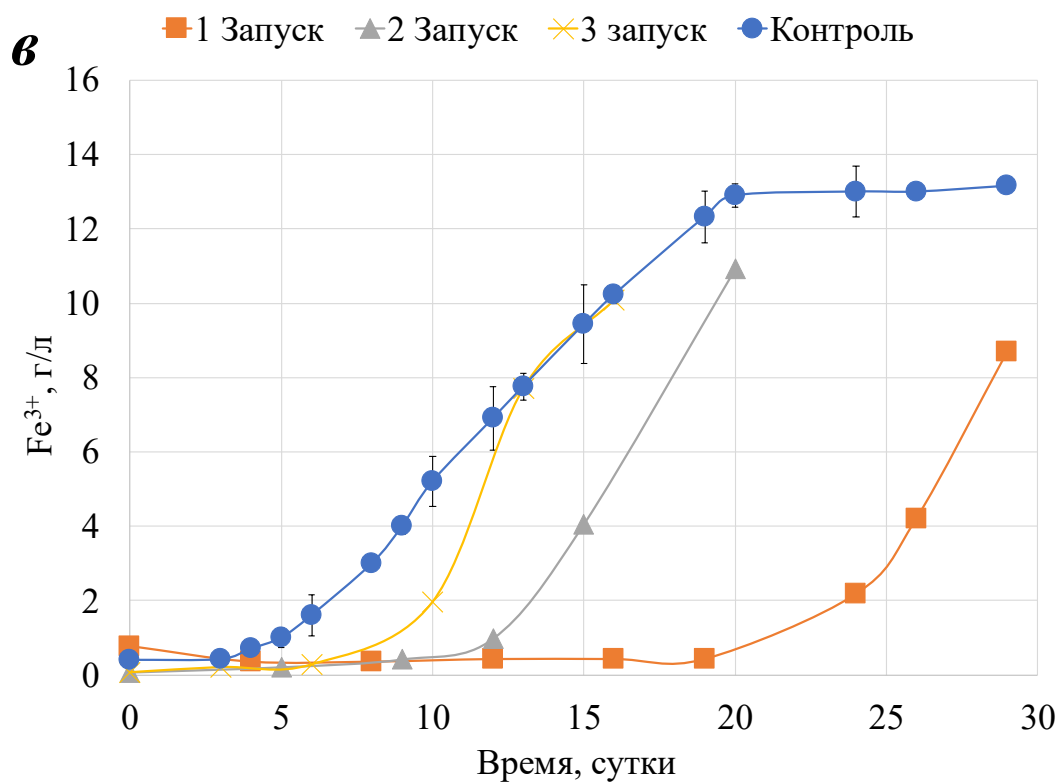


Рисунок 80 (продолжение) — Динамика изменения параметров жидкой фазы в периодическом режиме: титр трехвалентного (в) и двухвалентного (з) железа. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

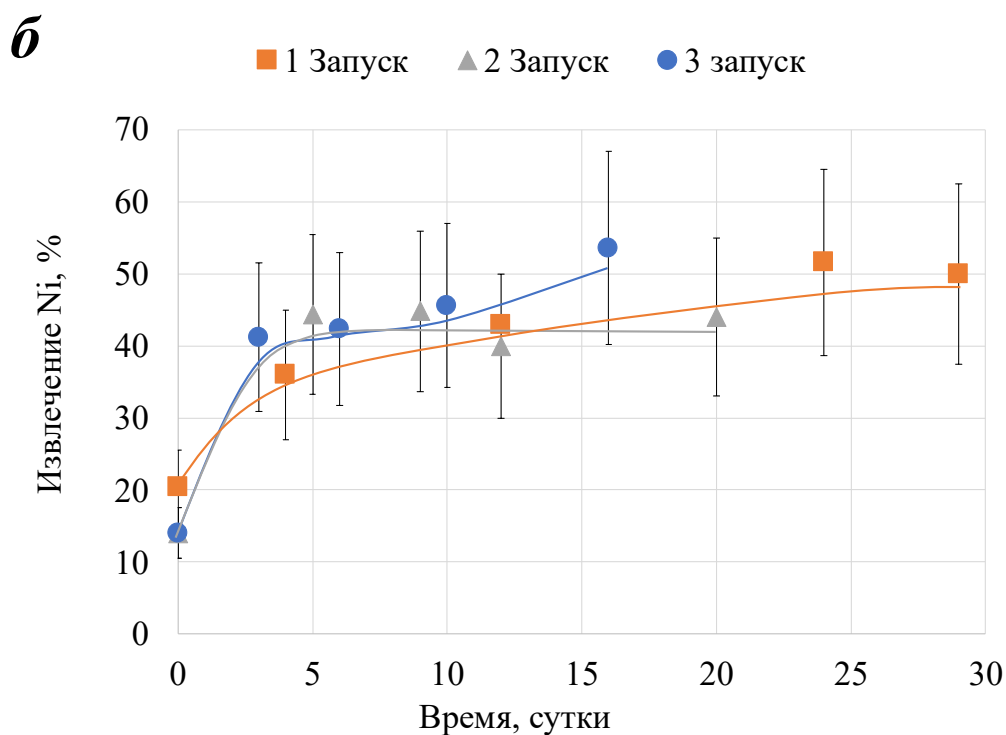
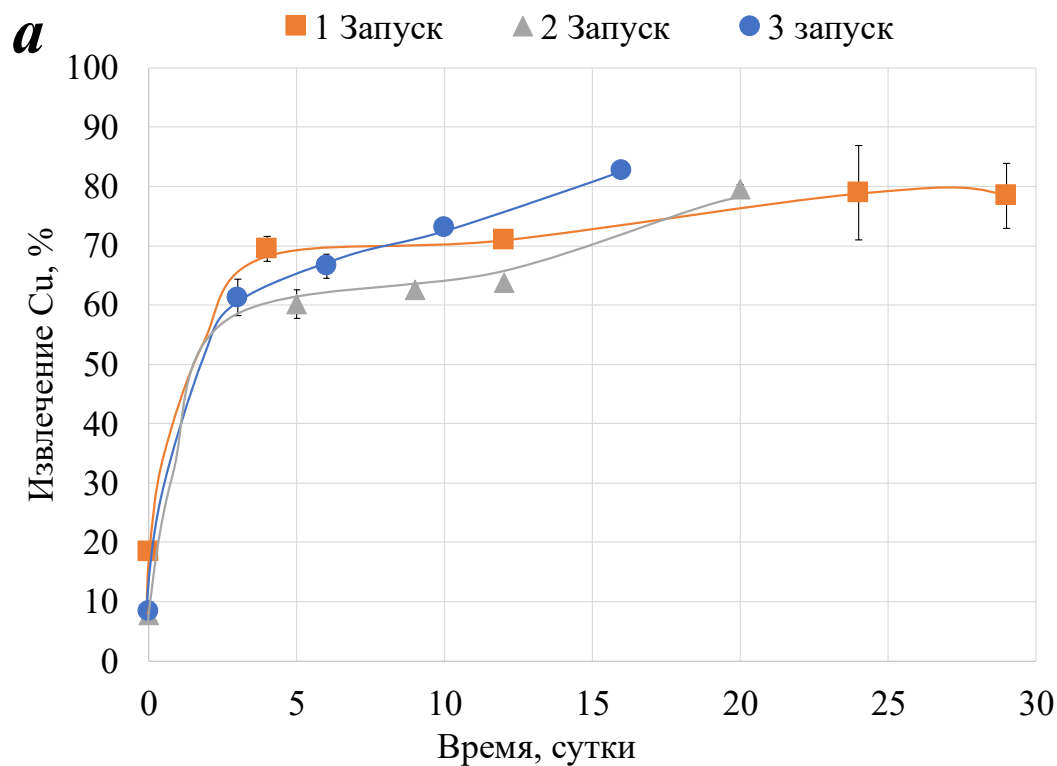


Рисунок 81 — Динамика извлечения меди (а) и никеля (б) в течение трех запусков в периодическом режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

Значительная часть меди растворилась в течение первых часов обработки: анализ образцов жидкой фазы, взятых через 30 минут после внесения измельченных плат, показал, что концентрация меди в растворе соответствовала извлечению 10 – 20% масс.

Извлечение меди из отхода измельчения печатных плат превысило 70% к концу выщелачивания во всех циклах, при этом не наблюдалось существенных различий в общей динамике извлечения. Извлечение никеля происходило с похожей динамикой, характеризующейся быстрым повышением концентрации в течение первых 30 минут. Последующее выщелачивание никеля протекало с сопоставимой кинетикой во всех трех циклах, при этом конечные показатели извлечения немного различались и составили 50,0% (1 цикл), 44,0% (2 цикл) и 53,6% (3 цикл).

3.5.1.2 Изменение состава сообщества микроорганизмов

В ходе эксперимента в периодическом режиме популяции микроорганизмов, образцы которых были проанализированы посредством метабаркодинга фрагментов гена 16S рРНК, имели определенную динамику изменения (Рисунки 82 – 83). Анализ микробной популяции продемонстрировал связь с параметрами жидкой фазы в ходе эксперимента и выявил постепенные изменения сообщества как в контрольном, так и экспериментальном реакторах. В течение первого запуска лаг-фаза роста численности клеток микроорганизмов в экспериментальном реакторе составила 24 дня, что коррелирует с началом окисления железа и снижением pH. Во втором запуске в экспериментальном реакторе лаг-фаза была значительно короче (12 дней), после чего начался быстрый рост, который к 20 суткам достиг контрольных значений. В третьем эксперименте лаг-фаза была еще больше сокращена (10 дней), и к 12 суткам численность клеток микроорганизмов в экспериментальном реакторе достигла, а затем и превысила показатели контроля. Динамика роста микроорганизмов соответствовала классической модели периодического культивирования в контрольном реакторе. В процессе роста наблюдается лаг-фаза с низкой линейной скоростью роста в течение 6 – 8 дней с последующей логарифмической фазой роста с 8 по 11 день и выходом на плато с численностью клеток в диапазоне $130 - 160 \cdot 10^7$ кл/мл (Рисунок 83).

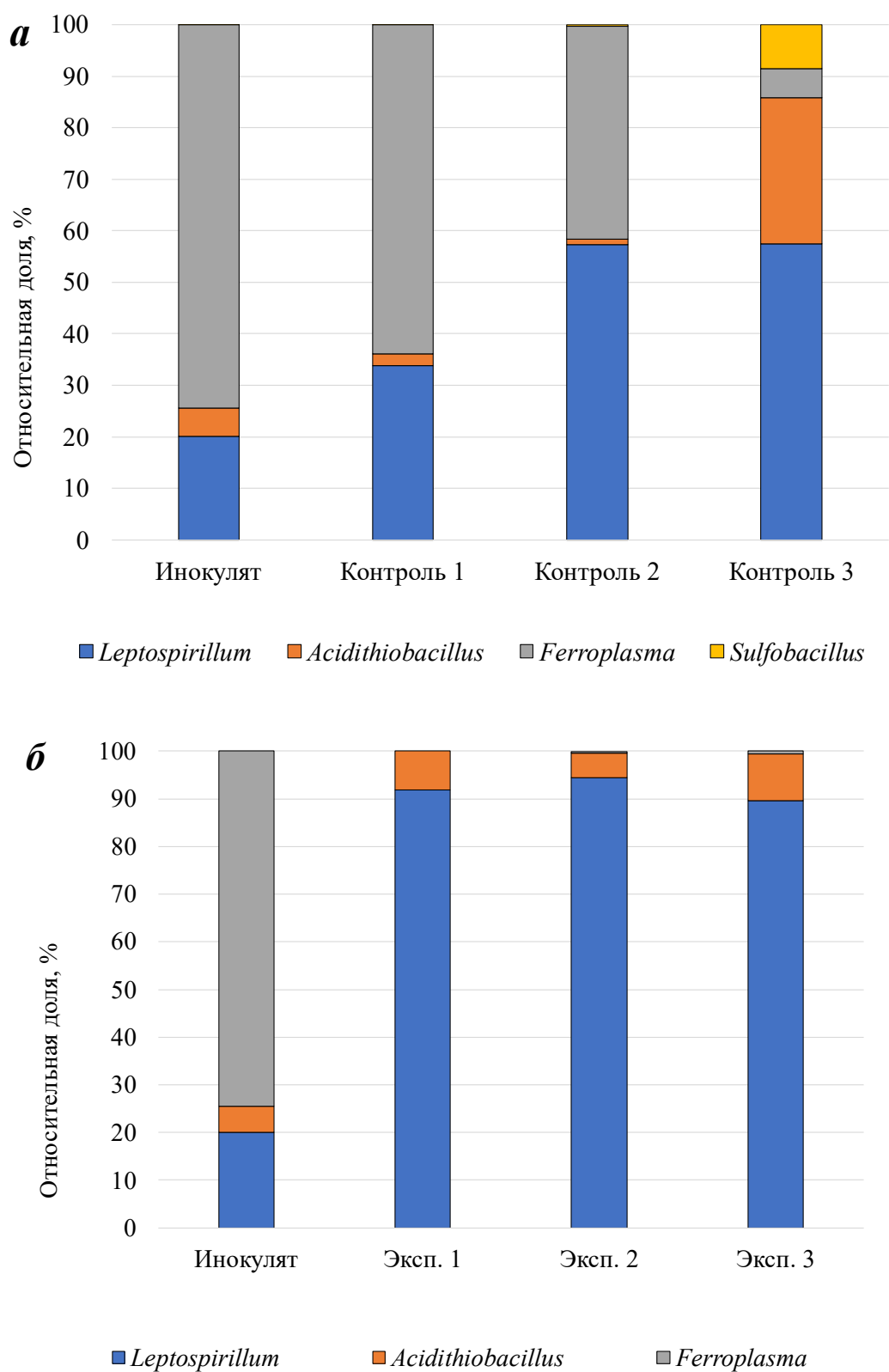


Рисунок 82 — Изменение состава сообщества в течение 3 запусков в периодическом режиме в контрольном (а) и экспериментальном (с РСВ 0,5%) (б) реакторах.
Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

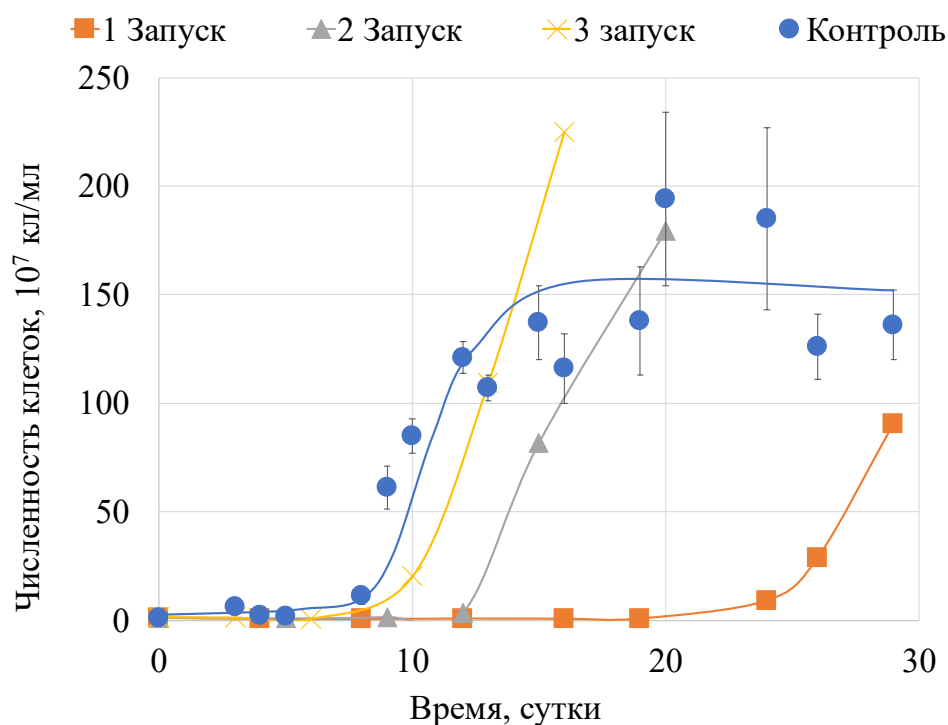


Рисунок 83 — Динамика численности клеток микроорганизмов в периодическом режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

Анализ посевного материала показал, что в сообществе преобладали ацидофильные археи *Ferroplasma* и мезофильные бактерии родов *Leptospirillum* и *Acidithiobacillus*, а бактерии рода *Sulfobacillus* присутствовали в качестве второстепенной группы. Добавление отхода измельчения печатных плат (PCB) привело к образованию различных по составу микробных сообществ из одного и того же инокулята. В экспериментальном реакторе сообщество, сформировавшееся во время первого запуска, оставалось стабильным во время второго и третьего циклов. Мезофильные бактерии родов *Leptospirillum* и *Acidithiobacillus* были доминирующими микроорганизмами в конце всех трех запусков. Популяции, сформировавшиеся во втором и третьем запусках, содержали археи рода *Ferroplasma*, хотя и в относительно небольшом количестве (0,35% и 0,62% соответственно). Изменение численности популяции в контрольном реакторе показало увеличение численности *Leptospirillum* и *Acidithiobacillus*, сопровождающееся уменьшением *Ferroplasma* от первого к третьему циклу, а также увеличением количества бактерий рода *Sulfobacillus*.

Обобщенные результаты эксперимента в периодическом режиме представлены в Таблице 29. В таблице отображено время, за которое значения pH опускались ниже 1,20,

а E_h преодолевал значение 800 мВ. Эти значения были приняты как референтные на основе множества экспериментов по окислению пирита и пирит-содержащего сырья и свидетельствующие о наличии стабильного процесса биоокисления. Также указан период окисления двухвалентного железа и продолжительность лаг-фазы роста микроорганизмов, что также свидетельствует о данном процессе.

Таблица 29 — Обобщенные результаты эксперимента в периодическом режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

Запуск	Период достижения pH (1,20), суток	Период достижения E_h (800 мВ), суток	Окисление Fe^{2+} , суток	Лаг-фаза, суток
1	29	24	24	24
2	20	15	12	12
3	13	10	10	10
Контроль (ср.)	11,3±1,15	10±1,52	9±3,0	7±1,0

3.5.2 Результаты эксперимента в непрерывном режиме

После третьего цикла периодического выщелачивания эксперимент продолжили в непрерывном режиме. Концентрацию измельченных печатных плат в среде для выщелачивания повышали, чтобы показать эффект плотности пульпы РСВ как на эффективность биологического выщелачивания, так и на структуру микробного сообщества. Во время эксперимента в непрерывном режиме жидкая фаза контрольного реактора поступала в экспериментальный, осуществляя ре-инокуляцию биореактора. Таким образом, пара реакторов работала в каскадном режиме. Скорость протока в каждом из реакторов составляла 0,2 сут⁻¹.

3.5.2.1 Динамика параметров жидкой фазы

Изменение параметров жидкой фазы в ходе эксперимента в непрерывном режиме относительно плотности пульпы печатных плат представлено на Рисунках 84 – 86.

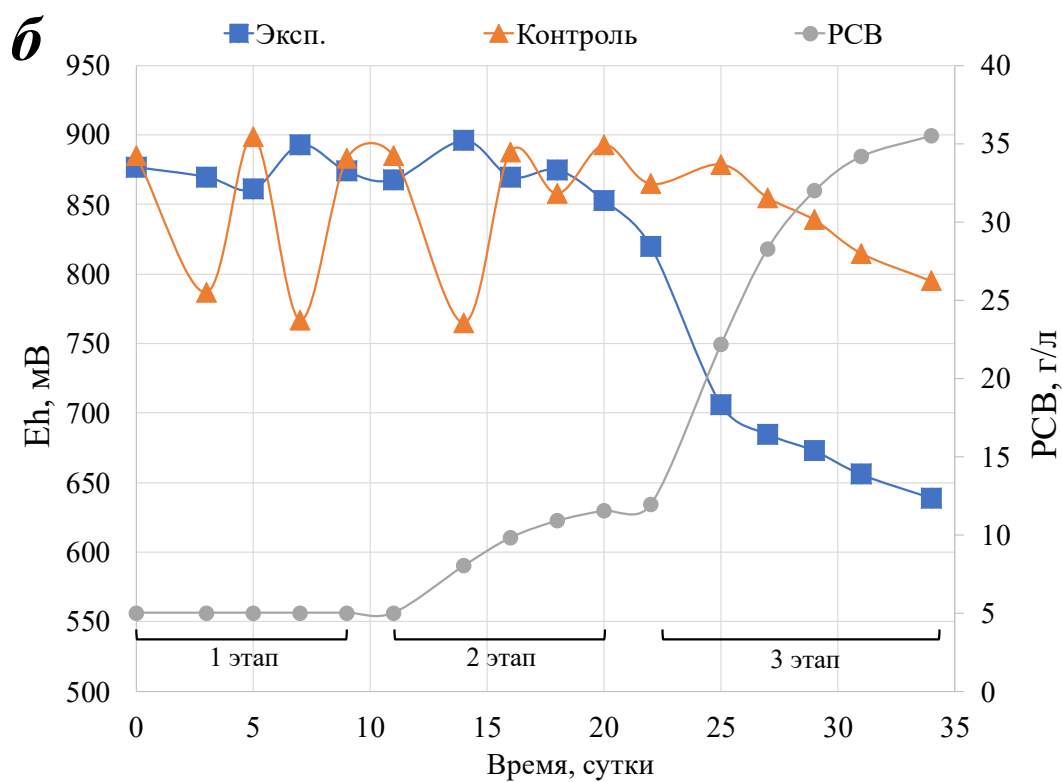
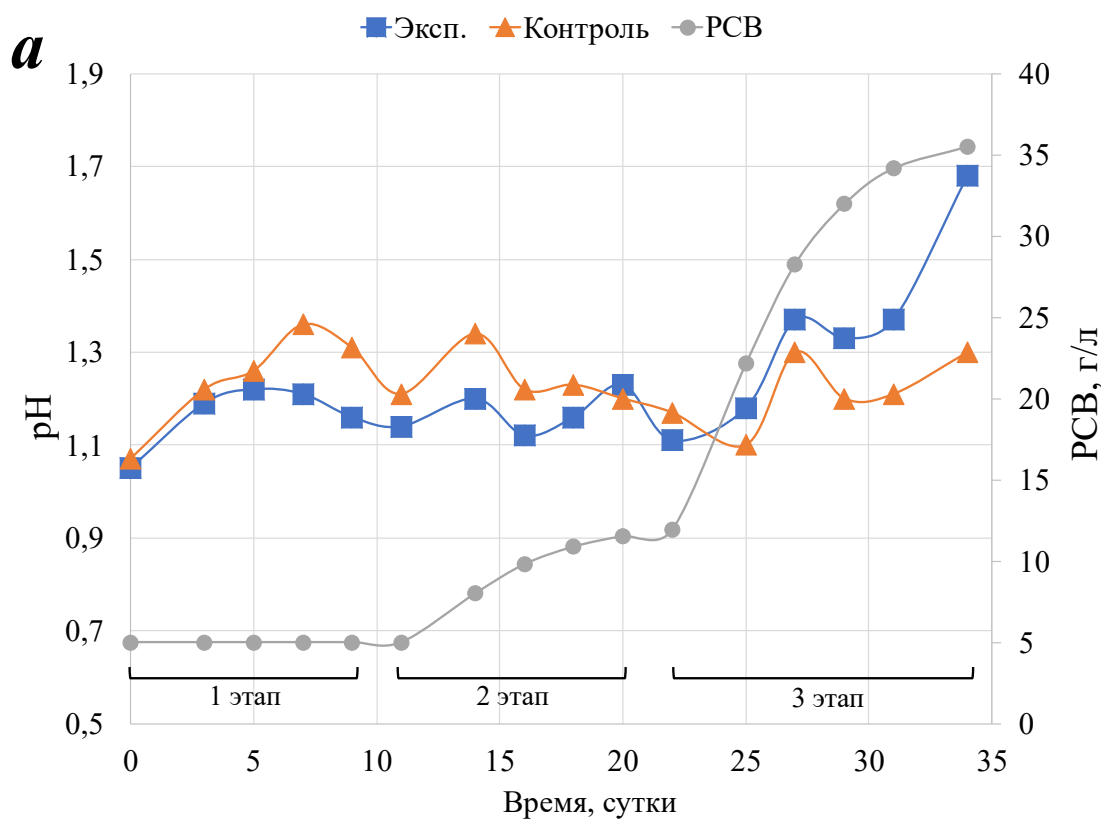


Рисунок 84 — Изменение pH (*a*), Eh (*б*) в течение эксперимента в непрерывном режиме.
Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

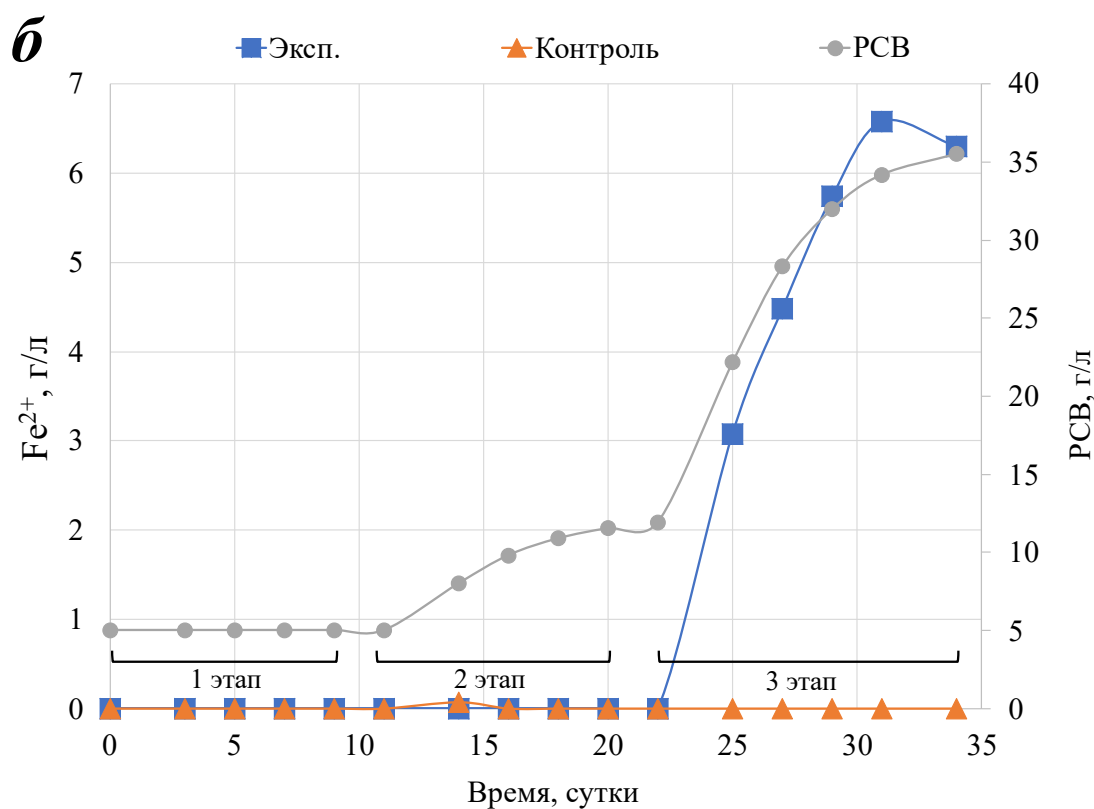
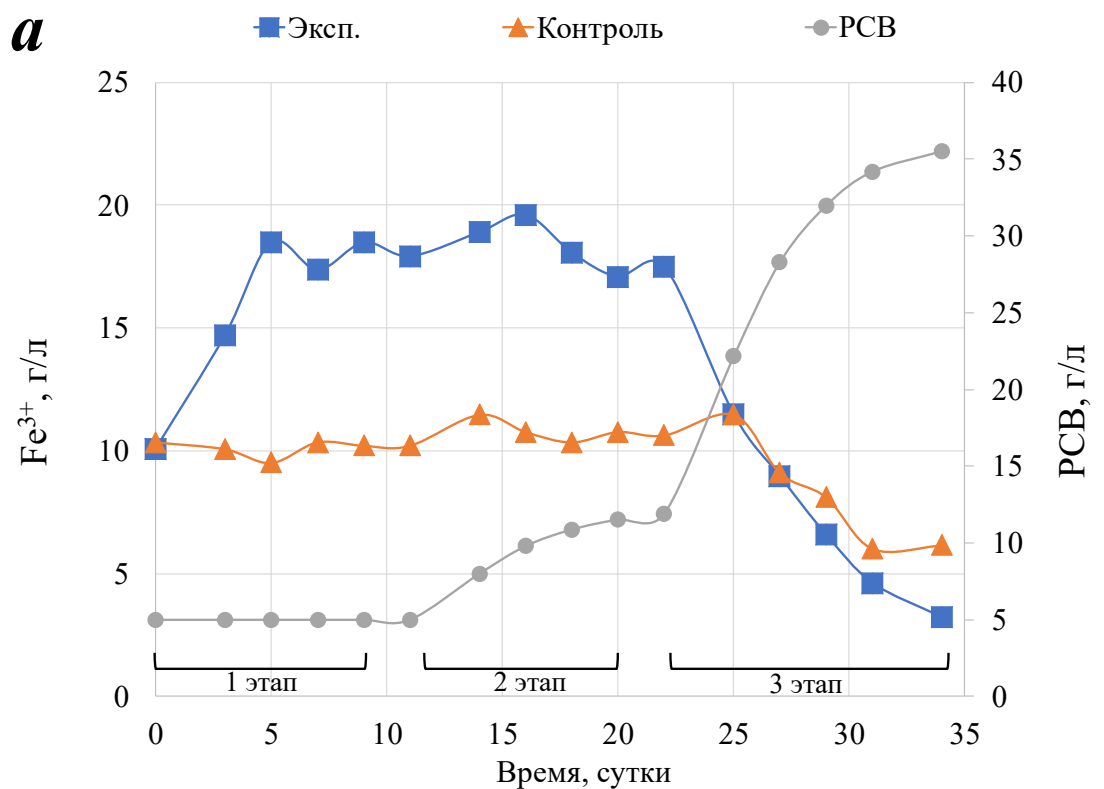


Рисунок 85 — Изменение титров трехвалентного (а) и двухвалентного (б) железа в течение эксперимента в непрерывном режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

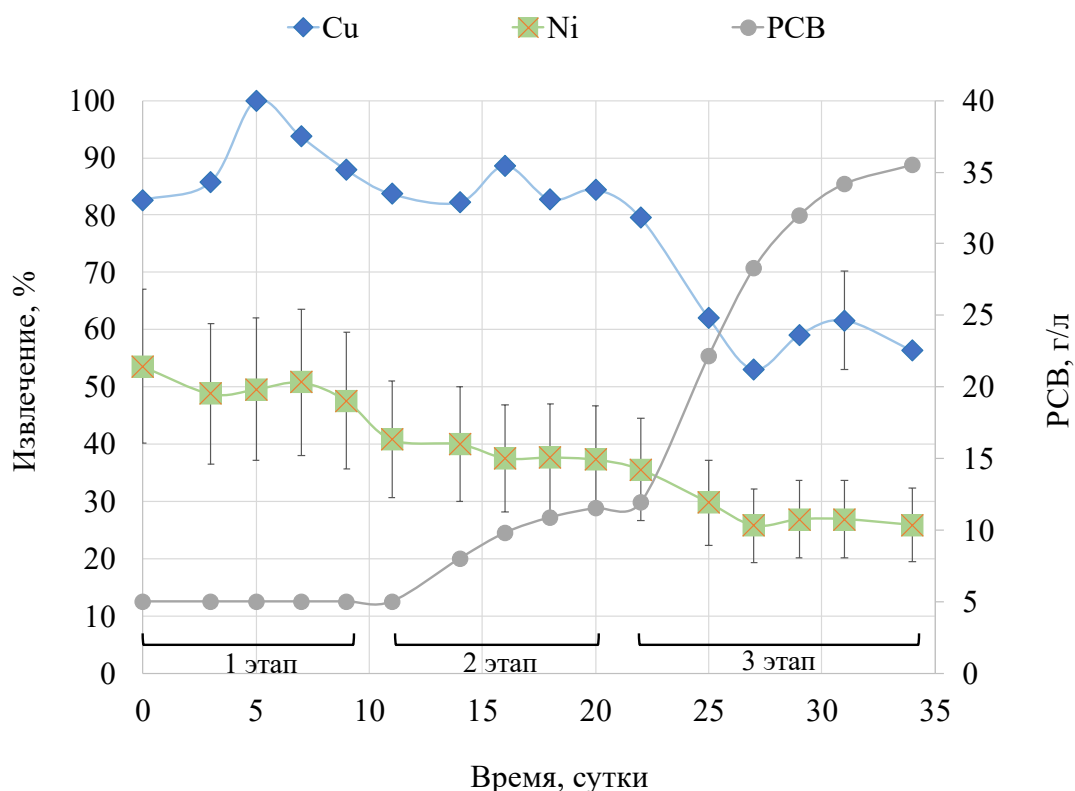


Рисунок 86 — Извлечение меди и никеля в течение эксперимента в непрерывном режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

Параметры жидкой фазы свидетельствуют о наличии стабильного процесса биоокисления двухвалентного железа и сульфидной серы на первом и втором этапах эксперимента при содержании отходов измельчения печатных плат в пульпе от 5 до 12 г/л. На третьем этапе эксперимента интенсивность биоокисления пирита снизилась, что привело к повышению pH, а также снизилась скорость окисления двухвалентного железа, что привело к росту его концентрации в жидкой фазе экспериментального реактора.

Увеличение концентрации измельченных плат отрицательно сказалось на скорости выщелачивания меди и никеля. Извлечение меди оставалось относительно высоким, превышая 80% до 22 дня эксперимента, что соответствовало наблюдаемым значениям Eh, pH и концентрации трехвалентного железа. Дальнейшее повышение концентрации плат привело к снижению извлечения меди. При концентрации плат в диапазоне 28,0 – 35,5 г/л извлечение меди составляло 55 – 60%. Выход никеля также ступенчато снижался с увеличением плотности пульпы печатных плат. Среднее извлечение никеля на первом этапе составило 48,53%, на втором этапе снизилось до 37,62% и, наконец, снизилось до 27,06% на третьем этапе.

3.5.2.2 Изменение состава сообщества микроорганизмов

Изменение сообщества микроорганизмов в контрольном и экспериментальном реакторах в ходе эксперимента в непрерывном режиме представлено на Рисунках 87 и 88.

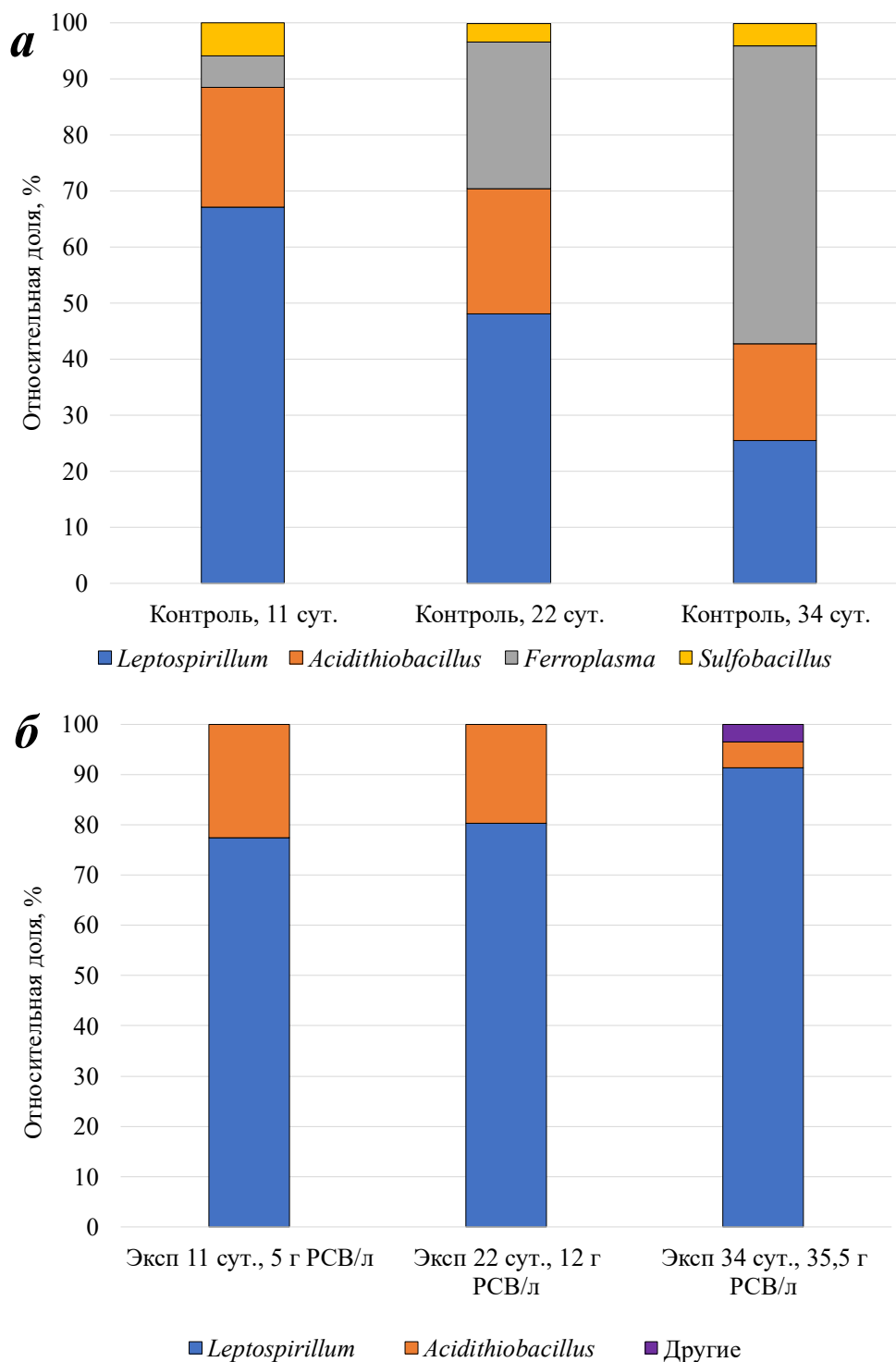


Рисунок 87 — Изменение состава сообщества по окончании 3 этапов в непрерывном режиме в контрольном (a) и экспериментальном (б) реакторах. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

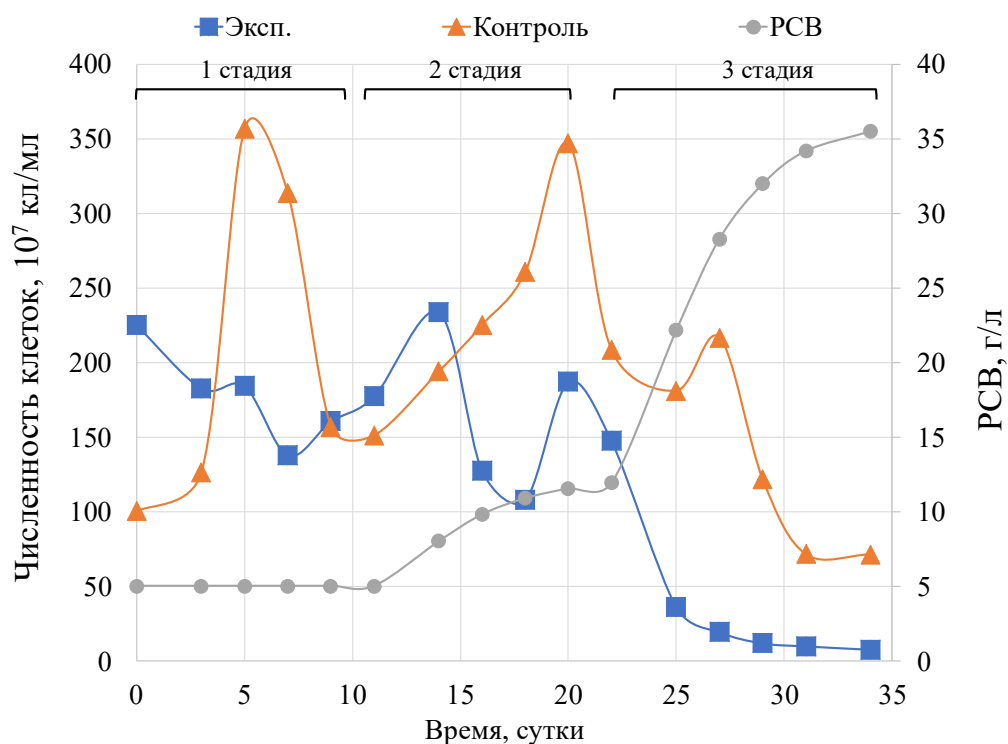


Рисунок 88 — Динамика изменения численности клеток микроорганизмов при повышении содержания отхода измельчения печатных плат в пульпе в непрерывном режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

Динамика общего количества микробных клеток в экспериментальном реакторе соответствовала динамике основных параметров процесса биоокисления. Во время первой и второй стадий общее количество клеток было сопоставимо с таковым в контрольном реакторе, изменяясь в диапазоне $150 - 250 \cdot 10^7$ клеток/л на первой стадии и $100 - 200 \cdot 10^7$ клеток/л на второй стадии. Последующее увеличение концентрации измельченных печатных плат на третьем этапе соответствовало резкому снижению численности клеток микроорганизмов, которая составила $7,37 \cdot 10^7$ кл/мл в конце эксперимента. Наблюдаемый состав сообщества в периодическом режиме в экспериментальном реакторе не претерпел значительных изменений. Преобладание мезофильных бактерий родов *Leptospirillum* и *Acidithiobacillus* сохранялось на всех этапах, с небольшими количественными различиями. Анализ микробного сообщества, сопровождающий резкое снижение количества клеток, показал присутствие смешанной небольшой группы различных почвенных бактерий, включая такие роды, как *Escherichia-Shigella* (относительная численность 2,55%), *Ralstonia* (0,12%), *Methylobacterium-Methylorubrum* (0,09%), *Caldalkalibacillus* (0,06%), *Pseudomonas* (0,06%), *Bradyrhizobium* (0,21%), *Mesorhizobium* (0,3%) и *Nesterenkonia* (0,12%).

Представители родов *Sulfobacillus* и *Ferroplasma*, которые в значительной степени присутствовали в жидкой фазе контрольного реактора, не были обнаружены в экспериментальном реакторе на первой и второй стадиях. Однако к концу третьего этапа *Sulfobacillus* и *Ferroplasma* обнаруживались в популяции микроорганизмов экспериментального реактора, их относительная численность составила ~ 0,03%.

Анализ состава микробного сообщества в контрольном реакторе в непрерывном режиме выявил динамические изменения численности. Вопреки тенденции к снижению, наблюдаемой в периодическом режиме, относительная численность рода *Ferroplasma* увеличивалась на протяжении всего непрерывного процесса, увеличившись с 5,6% на 11-й день до 26,2% на 22-й день и достигнув 53,2% к концу эксперимента. Это увеличение сопровождалось пропорциональным уменьшением численности бактерий рода *Leptospirillum*. Бактерии родов *Sulfobacillus* и *Acidithiobacillus* выявлялись в сообществе на протяжении всего непрерывного эксперимента, при этом относительная численность *Sulfobacillus* поддерживалась в диапазоне 3,3–5,8%, а *Acidithiobacillus* — 17,2 – 22,4%.

Прямой подсчет клеток в жидкой фазе контрольного реактора показал колебания микробного количества с относительно высокой амплитудой, в пределах от 100 до $350 \cdot 10^7$ кл/мл, без четкой закономерности. Через 25 дней численность микроорганизмов снизилась до значений $71 - 72 \cdot 10^7$ кл/мл, что сопровождалось снижением концентрации трехвалентного железа в жидкой фазе.

3.5.3 Обсуждение полученных результатов

Данные двух этапов эксперимента показывают, что совместное биологическое выщелачивание пирита и РСВ без предварительной адаптации микроорганизмов была осложнено низкой скоростью роста микроорганизмов, сопровождаемой продолжительной лаг-фазой, и относительно низкой скоростью окисления пирита и двухвалентного железа. Тем не менее, извлечение меди и никеля в периодическом режиме было относительно высоким и не зависело от параметров биологического выщелачивания. Результаты серии запусков в периодическом режиме демонстрируют четкую тенденцию к адаптации микроорганизмов к присутствию плат. Об этом свидетельствует постепенное приближение параметров выщелачивания (рН, концентрации двухвалентного железа и количества клеток) в экспериментальном реакторе к контрольным значениям от первого к третьему запуску. При этом пирит может

выполнять двойную функцию. Во-первых, его непрерывное окисление обеспечивает постоянное поступление двухвалентного железа, выступая в качестве источника энергии для микроорганизмов, окисляющих железо, даже в неблагоприятных условиях. Во-вторых, поверхность пирита служит основой для образования биопленок организмами в качестве механизма защиты на стрессовое воздействие. Этот механизм позволяет снизить токсичность среды за счет уменьшения прямого контакта с веществами, выделяющимися при обработке РСВ, способствуя не только выживанию, но и постепенной перестройке микробного сообщества. Химически измельченные печатные платы служат дополнительным источником железа. Об этом свидетельствует характерная динамика параметров биоокисления в его присутствии. В частности, в течение начальной фазы в растворе постоянно присутствовало двухвалентное железо в концентрациях 0,7 г/л в первом цикле, 0,28 г/л во втором цикле и 0,14 г/л в третьем цикле. Такая картина может возникать в результате быстрого кислотного выщелачивания железа, содержащегося в образце РСВ, а также выщелачивания цветных металлов ионами трехвалентного железа с последующим его восстановлением.

Присутствие образца печатных плат в растворе оказало значимый эффект на состав сообщества микроорганизмов, что объясняет длительную лаг-фазу и более низкие начальные скорости окисления. В нескольких исследованиях сообщалось о негативном воздействии плат на ацидофильное микробное сообщество (Aachhera et al., 2025; Anaya-Garzon et al., 2021; Morell et al., 2025). Исследователи подтверждают, что платы содержат высокие концентрации тяжелых металлов, таких как медь, которые могут значительно подавлять процессы окисления железа. Кроме того, РСВ содержат токсичные органические соединения, в том числе антипирены, которые, как было показано, также подавляют рост бактерий (Broniatowski & Wydro, 2024). Однако специфическая токсичность антипиренов по отношению к ацидофильным микроорганизмам требует дальнейшего изучения.

Одной из причин низкой эффективности окисления пирита при элиминировании гетеротрофных архей *Ferroplasma* в сообществе может быть нарушение синергетического взаимодействия, при котором *Ferroplasma* выступает в качестве микроорганизма-инициатора образования связи с поверхностью минерала, а бактерии *Leptospirillum* активно окисляют высвобожденное двухвалентное железо (Maulani et al., 2016). Увеличение продолжительности лаг-фазы, вероятно, объясняется ингибирующим

действием продуктов выщелачивания печатных плат на *Ferroplasma*. Из-за нарушения процесса инициации окисления пирита сообществу, в котором преобладают *Leptospirillum*, потребовалось время для функциональной адаптации. Этот сценарий мог усугубляться ингибированием роста облигатно автотрофных бактерий *Leptospirillum* вторичными метаболитами, такими как органические кислоты (Vardanyan & Vyrides 2019). Подобные органические соединения обычно метаболизируются миксотрофами и гетеротрофами, такими как *Ferroplasma* и *Sulfobacillus*, тем самым предотвращая ингибирование (Bulaev et al., 2023; Nancucchio & Johnson, 2010). Подавление *Ferroplasma* лишило сообщество этой функции. Следовательно, бактерии *Leptospirillum* ингибировались как материалами печатных плат, так и метаболитами. Последующее обнаружение устойчивой популяции *Ferroplasma* (0,35% во втором запуске; 0,62% в третьем запуске) коррелирует с наблюдаемым улучшением динамики параметров окисления. Это позволяет предположить, что частичное восстановление популяции гетеротрофов может играть ключевую роль в адаптации сообщества в данной системе.

Снижение относительной доли *Ferroplasma* наблюдалось и в контрольном реакторе, хотя в данном случае оно было количественное. В экспериментальном реакторе *Ferroplasma* могла быть подавлена токсичностью материалов измельченных плат, и этот эффект, вероятно, распространялся на других миксотрофов и гетеротрофов. Постепенное уменьшение относительной доли *Ferroplasma* в контрольном реакторе сопровождалось повышением доли бактерий рода *Sulfobacillus*, которые могли конкурировать с *Ferroplasma* за органический субстрат.

На первом и втором этапах эксперимента в непрерывном режиме ключевые параметры выщелачивания оставались сопоставимыми в обоих реакторах, несмотря на постепенное увеличение плотности пульпы печатных плат с 0,5% до 1,2%. Однако, динамика изменения численности микроорганизмов в реакторах различалась. Примерно с 10 по 14 день численность клеток микроорганизмов в экспериментальном реакторе была выше, чем в контрольном реакторе. Однако после дальнейшего увеличения плотности пульпы печатных плат количество клеток начало снижаться и впоследствии оставалось стабильно ниже, чем в контрольном реакторе. Это указывает на то, что более высокая концентрация РСВ могла вызвать стресс, в результате которого скорость роста клеток стала ниже скорости отмирания, несмотря на непрерывную подачу клеток из контрольного реактора. Для качественной проверки этого предположения была

рассчитана скорость роста микробных клеток как в контрольном, так и в экспериментальном реакторах. Динамика изменения скорости роста на трех этапах эксперимента показана на Рисунке 89.

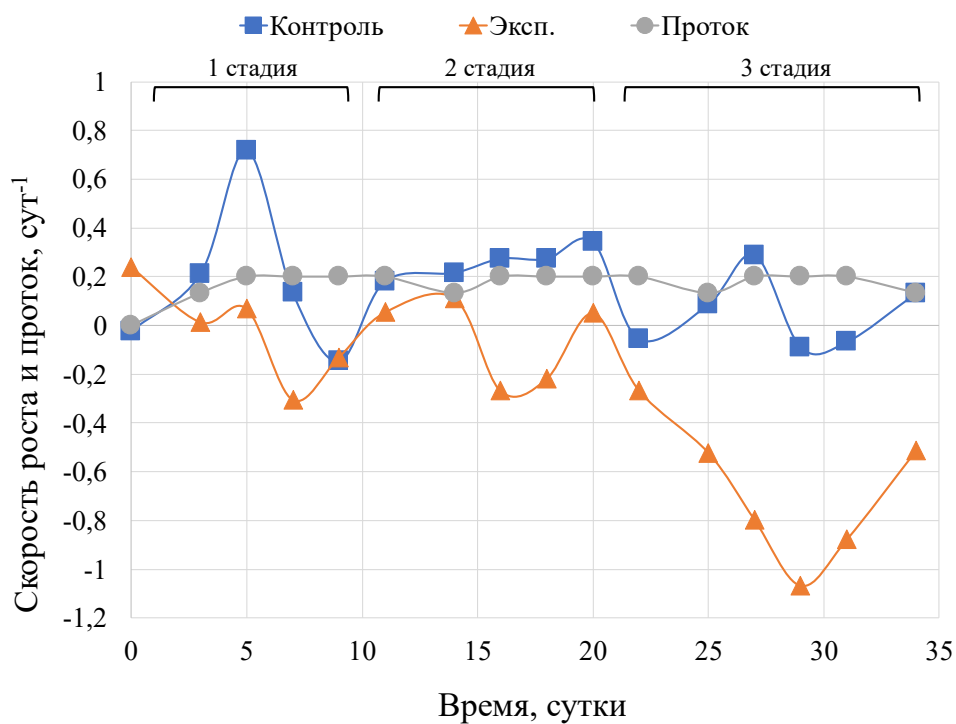


Рисунок 89 — Изменение скорости роста в течение эксперимента в непрерывном режиме. Цитировано с изменениями по Kolosoff et al., 2026.

Данные, представленные на диаграмме, показывают, что скорость роста экспериментального реактора в течение первых 20 дней эксперимента (этапы 1 и 2) колебалась около нуля. По мере увеличения концентрации плат скорость роста значительно снижалась, достигая $-1,07 \text{ сут}^{-1}$, что подтверждает предположение о гибели клеток. Скорость роста в контрольном реакторе оставалась стабильной на уровне, заданном протоком, что соответствует хемостатной модели культивирования. Несмотря на то, что в экспериментальном реакторе не наблюдалось специфического роста количества микробных клеток, окисление двухвалентного железа было стабильным на первом и втором этапах эксперимента.

Анализ микробной популяции также показал, что на скорость роста во экспериментальном реакторе влияла относительная доля различных микроорганизмов в сообществе контрольного реактора. На 11 сутки эксперимента микробное сообщество в контрольном реакторе состояло из доминирующих мезофильных бактерий родов

Leptospirillum и *Acidithiobacillus* (67,2% и 21,4%). Те же самые виды были доминирующими в экспериментальном реакторе, тогда как *Ferroplasma* и *Sulfobacillus*, которые постоянно подавались в экспериментальный реактор вместе с жидкой фазой контрольного реактора, не были обнаружены в сообществе экспериментального реактора. Тенденция стала еще более очевидной из результатов анализа микробной популяции по завершении этапов 2 и 3. В то время как археи рода *Ferroplasma* являлись доминирующей группой в сообществе контрольного реактора (26,2% в конце второго этапа и 53,2% в конце третьего), разрыв между количеством клеток в контрольном реакторе и в экспериментальном реакторе увеличивался. Также показано, что *Sulfobacillus* и *Ferroplasma* не составляли значительную часть микробного сообщества экспериментального реактора на второй и третьей стадиях. Это наблюдение может быть объяснено только быстрой гибелью клеток *Ferroplasma* и *Sulfobacillus* в присутствии образца печатных плат в среде выщелачивания, что также согласуется с расчетом скорости роста.

Анализ микробного сообщества в экспериментальном реакторе по завершении третьего этапа выявил присутствие различных гетеротрофных бактерий, характерных для микробных сообществ почв. Это, вероятно, произошло из-за частиц почвы, которые содержались в образце измельченных плат, поскольку он не был стерилизован перед экспериментом. Относительная доля данных бактерий в микробном сообществе могла быть высокой из-за снижения численности ацидофильных микроорганизмов. Таким образом, присутствие данных бактерий не связано напрямую с процессами биовыщелачивания, которые они осуществлять неспособны.

В ходе эксперимента в непрерывном режиме было установлено, что извлечение меди и никеля зависят от концентрации печатных плат в пульпе. Выщелачивание меди, превышающее 80% на первом и втором этапах эксперимента, поддерживалось биогенными ионами трехвалентного железа. Снижение выхода меди может быть вызвано снижением скорости окисления двухвалентного железа микроорганизмами при повышении плотности пульпы печатных плат.

Извлечение никеля снижалось пропорционально увеличению концентрации печатных плат. Кислотное выщелачивание никеля происходит в восстановительных условиях при ОВП $> -0,25$ В и не требует дополнительных окислителей. Это означает, что выщелачивание никеля не обязательно связано с концентрацией трехвалентного

железа, а скорее контролируется диффузией H^+ , которая также может быть описана моделью уменьшающегося ядра (Shrinking core) (Hosseini et al., 2017; Martinez-Ballesteros et al., 2023). Поэтому было выдвинуто предположение, что окисление никеля не будет напрямую коррелировать с процессом биоокисления, а будет зависеть только от времени пребывания в среде серной кислоты. Однако эксперимент выявил снижение эффективности выщелачивания, так как при более высоких концентрациях пульпы кислота, образующаяся при окислении пирита, взаимодействовала с железом, присутствующим в платах. Также важную роль в этом процессе могло сыграть снижение площади поверхности за счет образования агрегатов частиц, как было показано в предварительных экспериментах по удельному расходу серной кислоты.

Это исследование демонстрирует успешную адаптацию ацидофильного микробного сообщества к материалам печатных плат (PCB) совместно с биовыщелачиванием хвостов флотации. В периодическом режиме адаптация сообщества была очевидна благодаря сокращению лаг-фазы с 24 до 7 дней. Переход на непрерывный режим совместного выщелачивания в каскадном режиме позволил обеспечить стабильное выщелачивание при плотности пульпы PCB в 1,2% и устойчивое извлечение меди, превышающее 80%, и никеля на уровне 35 – 38%. Однако увеличение концентрации PCB до 35,5 г/л отрицательно сказалось на эффективности выщелачивания. В обоих режимах работы наблюдались значительные изменения в составе микробного сообщества, что свидетельствует о реакции на присутствие материалов печатных плат. Было показано, что относительная численность архей рода *Ferroplasma* имеет отрицательную корреляцию, равную $-0,77$, в периодическом режиме и $-0,72$ в непрерывном режиме, несмотря на то что в экспериментальный реактор постоянно поступал инокулят с данными микроорганизмами вместе с жидкой фазой из контрольного реактора. Относительная численность рода *Sulfobacillus* также показала отрицательную корреляцию с присутствием печатных плат, причем корреляции составили $-0,30$ и $-0,95$ для периодического и непрерывного режимов соответственно. Эти результаты указывают на возможную причину проблем, связанных с биологическим выщелачиванием печатных плат, включая снижение активности микроорганизмов в одностадийных процессах. Предыдущие исследования были в основном сосредоточены на самом процессе выщелачивания, а не на изменениях в микробном сообществе, вызванных присутствием печатных плат. Полученные результаты позволят по-новому взглянуть на создание

искусственных микробных сообществ со специфическими ацидофилами-миксотрофами, адаптированными к материалам плат, которые могут быть использованы в процессах биологического выщелачивания.

Подводя итог, важно отметить, что окисление пирита в процессе совместного выщелачивания с печатными платами имеет решающее значение из-за потенциальной возможности использования этого метода в рамках процесса окисления сульфидов, который широко применяется в промышленности.

3.6 Двухстадийное биовыщелачивание хвостов флотации и образца измельченных печатных плат

В ходе эксперимента по исследованию двухстадийного процесса выщелачивания меди, никеля и цинка из печатных плат определяли эффект использования биокека, полученного в ходе окисления пиритных хвостов флотации. Теоретическая роль биокека состояла в повышении площади поверхности, доступной для колонизации и последующего образования биопленок ацидофильными микроорганизмами. Также исследовали эффективность химического выщелачивания растворами серной кислоты, содержащими катионы трехвалентного железа, которые были получены путем внесения готового сульфата железа III (химического происхождения) и посредством биоокисления двухвалентного железа раствора выщелачивания прошлых циклов (биогенного происхождения).

3.6.1 Результаты химического выщелачивания

Иницирующей стадией процесса двухстадийного выщелачивания было химическое выщелачивание цветных металлов из измельченных печатных плат. Методика данного процесса была разработана на основании результатов предварительных экспериментов по химическому выщелачиванию измельченных плат (Раздел 3.4). Химическое выщелачивание проводили при плотности пульпы измельченных плат 5%, времени выщелачивания 72 часа, температуре 50 °C и поддержанием pH в диапазоне значений от 1,3 до 1,7 с помощью добавления серной кислоты. При этом наблюдаемые параметры в реакторе химического выщелачивания изменялись (Рисунок 90).

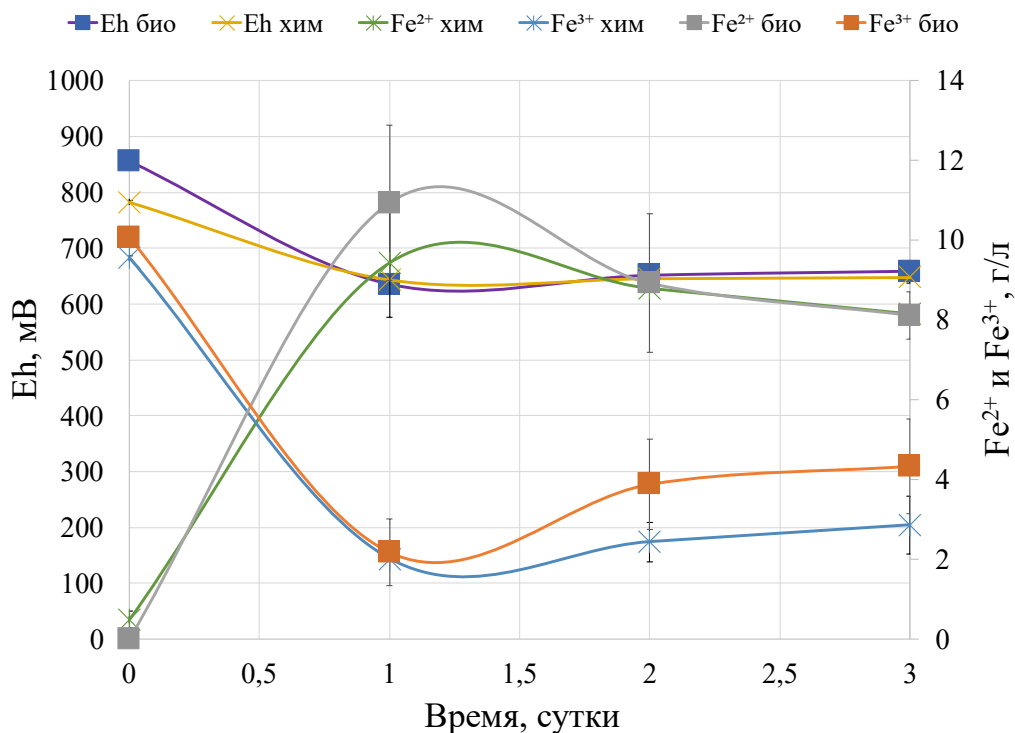


Рисунок 90 — Изменение параметров в ходе химического выщелачивания

На диаграмме показано, что динамика параметров выщелачивания при использовании приготовленного раствора сульфата железа и при использовании раствора, полученного с помощью биоокисления уже использованного ранее раствора выщелачивания («био» на диаграмме), имеет схожую тенденцию. Это обусловлено схожей природой реагирующих веществ, в качестве которых выступают катионы трехвалентного железа и серная кислота. При этом в ходе эксперимента с раствором, полученным с помощью биоокисления, расход серной кислоты для подтитровки был выше, что может стать косвенным свидетельством более полного выщелачивания металлов из плат.

Сводная таблица процессов химического выщелачивания (Таблица 30) отражает массовые потоки в ходе выщелачивания, а также демонстрирует данные, полученные в результате усреднения 3 повторностей для каждого типа раствора. В растворе, полученном с помощью биоокисления, начальный Eh был более высоким, что связано с примесями двухвалентного железа в сульфате железа III. Изменение общего содержания железа в растворе $\Delta Fe_{\text{сумм}}$ отражает эффективность выщелачивания железа из плат. В связи с этим величина $\Delta Fe_{\text{сумм}}$ и изменение массы образцов (массовый выход) были выбраны в качестве основных критериев оценки эффективности исследуемого процесса.

Таблица 30 — Обобщенные изменения в ходе химического выщелачивания.

Тип раствора	pH	Eh	Fe ³⁺	Fe ²⁺	г H ₂ SO ₄ /г PCB	ΔFe _{сумм} , г/л	Массовый выход, %
Раствор сульфата железа (нач.)	1,29±0,07	783±3	9,56±0,07	0,49±0,21	0,094	0,96	9,9±2,12
Раствор сульфата железа (кон.)	1,87±0,10	648±10	2,86±0,42	8,15±0,16			
Раствор биоокисл. (нач.)	1,52±0,22	855±15	10,07±0,15	0±0	0,146	2,34	5,55±0,78
Раствор биоокисл. (кон.)	1,55±0,14	658±8	4,34±1,19	8,07±0,42			

Эффективность выщелачивания меди и никеля немного отличалась при использовании растворов трехвалентного железа химического и биогенного происхождения (Таблица 31).

Таблица 31 — Сравнение извлечения меди, цинка и никеля растворами, содержащими Fe³⁺ химического и биогенного происхождения.

Раствор Fe ³⁺	Извлечение		
	Cu, %	Zn, %	Ni, %
Химический	77,67±5,14	49,84±3,23	29,28±4,28
Биогенный	89,23±5,14	53,99±3,52	35,73±3,92

Эффективность процесса была сравнима с данными, полученными в ходе экспериментов по химическому выщелачиванию ранее. Выщелачивание меди зависело от концентрации трехвалентного железа и Eh, которые были более высокими в биогенном (ре-окисленном) растворе. Эффективность выщелачивания цинка и никеля была относительно низкой, но стабильно более высокой примерно на 4 – 6,5% извлечения при использовании раствора биогенного трехвалентного железа.

3.6.2 Результаты биологического окисления

Растворы после химического выщелачивания измельченных печатных плат перемещали в реакторы биологического окисления: в одном реакторе (реактор 1) биоек после адаптации культуры микроорганизмов удаляли посредством вакуумной фильтрации, а во втором — биоек возвращали обратно в реактор (реактор 2) с примерной плотностью пульпы биокека около 6%, согласно схеме в пункте 2.3.1.6 (Рисунок 20).

В ходе эксперимента сравнивалась динамика параметров жидкой фазы при биоокислении двухвалентного железа в растворе выщелачивания, полученного после однократного проведения химического выщелачивания печатных плат (1 стадия эксперимента) и с рециклом раствора выщелачивания после биовыщелачивания (2 стадия эксперимента). Сравнение наблюдаемых параметров в реакторах с вымыванием (реактор 1) и возвратом (реактор 2) твердой фазы на первой стадии эксперимента показало очень близкую динамику изменения pH, Eh и концентрации железа в обоих реакторах (Рисунок 91). Сравнение наблюдаемых параметров в реакторах с вымыванием (реактор 1) и возвратом (реактор 2) твердой фазы на второй стадии эксперимента так же показало близкую динамику окисления в обоих реакторах. Однако, в реакторе с возвратом твердой фазы окисление происходило быстрее (Рисунок 92).

Скорость биологического окисления ионов Fe^{2+} в растворах выщелачивания в рецикле снизилась по сравнению с однократно использованным в ходе химического выщелачивания раствором сульфата трехвалентного железа. Это явление может быть обусловлено накоплением продуктов взаимодействия печатных плат с кислой средой при повышенной температуре, что могло послужить причиной снижения скорости роста микроорганизмов и, как следствие, динамики окисления двухвалентного железа. Однако, стоит отметить, что биологическое окисление растворов выщелачивания в ходе циклического процесса двухстадийного выщелачивания происходило и показывало сопоставимую динамику с окислением двухвалентного железа в однократно использованных растворах выщелачивания.

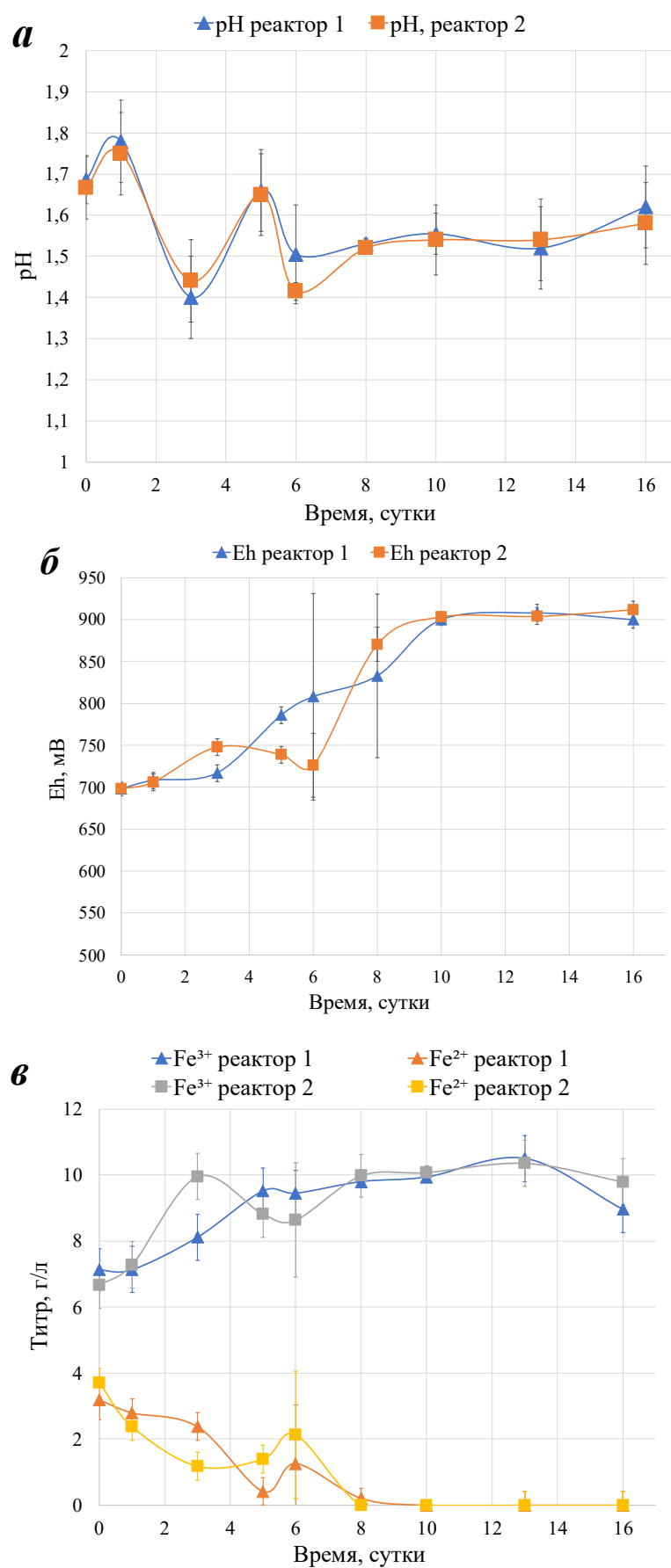


Рисунок 91 — Динамика параметров жидкой фазы в ходе окисления однократно использованных растворов выщелачивания: рН (А), Eh (Б), Fe²⁺ и Fe³⁺ (В).

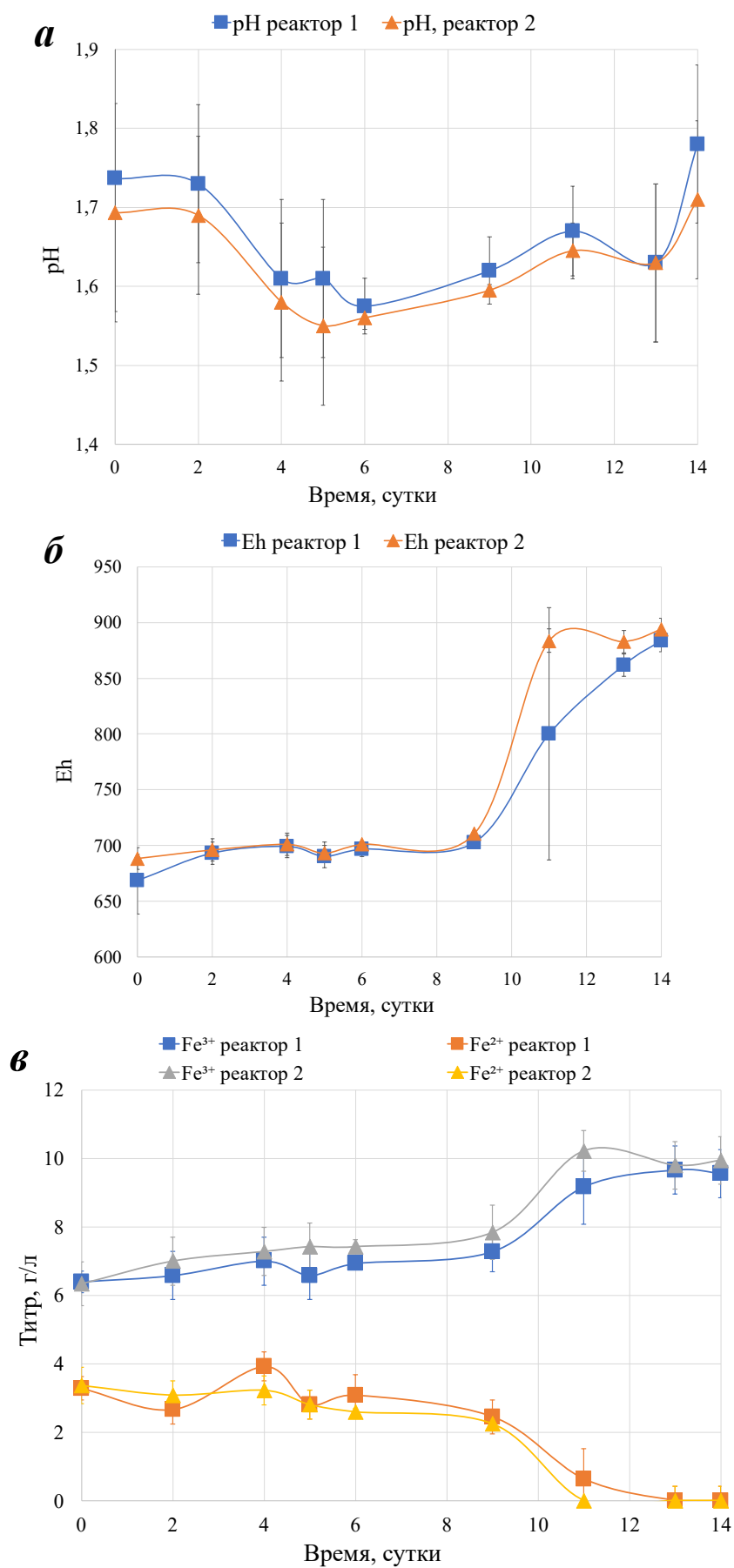


Рисунок 92 — Динамика параметров жидкой фазы в ходе окисления растворов выщелачивания с рециклом: pH (А), Eh (Б), Fe^{2+} и Fe^{3+} (В).

В процессе биоокисления растворов выщелачивания кинетика процесса существенно определялась как режимом удержания твердой фазы, так и наличием рецикла. В реакторе с вымыванием твердой фазы (реактор 1) в условиях без рецикла продолжительность лаг-фазы составляла $5,7 \pm 0,5$ сут., а время полного окисления двухвалентного железа достигало $9,3 \pm 0,9$ сут. Переход к работе с рециклом в данном типе реактора приводил к закономерному увеличению периода адаптации культуры до $10,0 \pm 1,0$ сут., при этом общее время окисления также увеличивалось — до $12,0 \pm 1,0$ сут. Примечательно, что, несмотря на удлинение начальной задержки, в ходе окисления растворов в рецикле не наблюдалось снижения удельной скорости окисления при увеличении количества циклов использования оборотной фазы. В реакторе с возвратом твердой фазы (реактор 2) динамика pH, Eh и концентраций двух- и трехвалентного железа изменялась по схожему сценарию. В режиме без рецикла длительность лаг-фазы была идентична первому реактору и составляла $5,7 \pm 0,5$ сут., однако время полного окисления железа сокращалось до $8,7 \pm 0,9$ сут. При введении рецикла период адаптации микроорганизмов возрастал до $8,0 \pm 1,0$ сут., а завершение процесса окисления фиксировалось через $11,0 \pm 0,0$ сут. Обобщенные результаты эксперимента представлены в таблице 32.

Таблица 32 — Сравнение результатов двухстадийного выщелачивания.

Кинетические параметры	С вымыванием тв. фазы (реактор 1)		С возвратом тв. фазы (реактор 2)	
	без рецикла	с рециклом	без рецикла	с рециклом
Лагфаза, сут.	$5,7 \pm 0,5$	$10,0 \pm 1,0$	$5,7 \pm 0,5$	$8,0 \pm 1,0$
Окисление железа, сут.	$9,3 \pm 0,9$	$12,0 \pm 1,0$	$8,7 \pm 0,9$	$11,0 \pm 0,0$

3.6.3 Результаты исследования микробных популяций реакторов

Динамика изменения численности клеток в реакторах, наблюдаемая в ходе первой и второй стадий эксперимента, представлена на Рисунке 93.

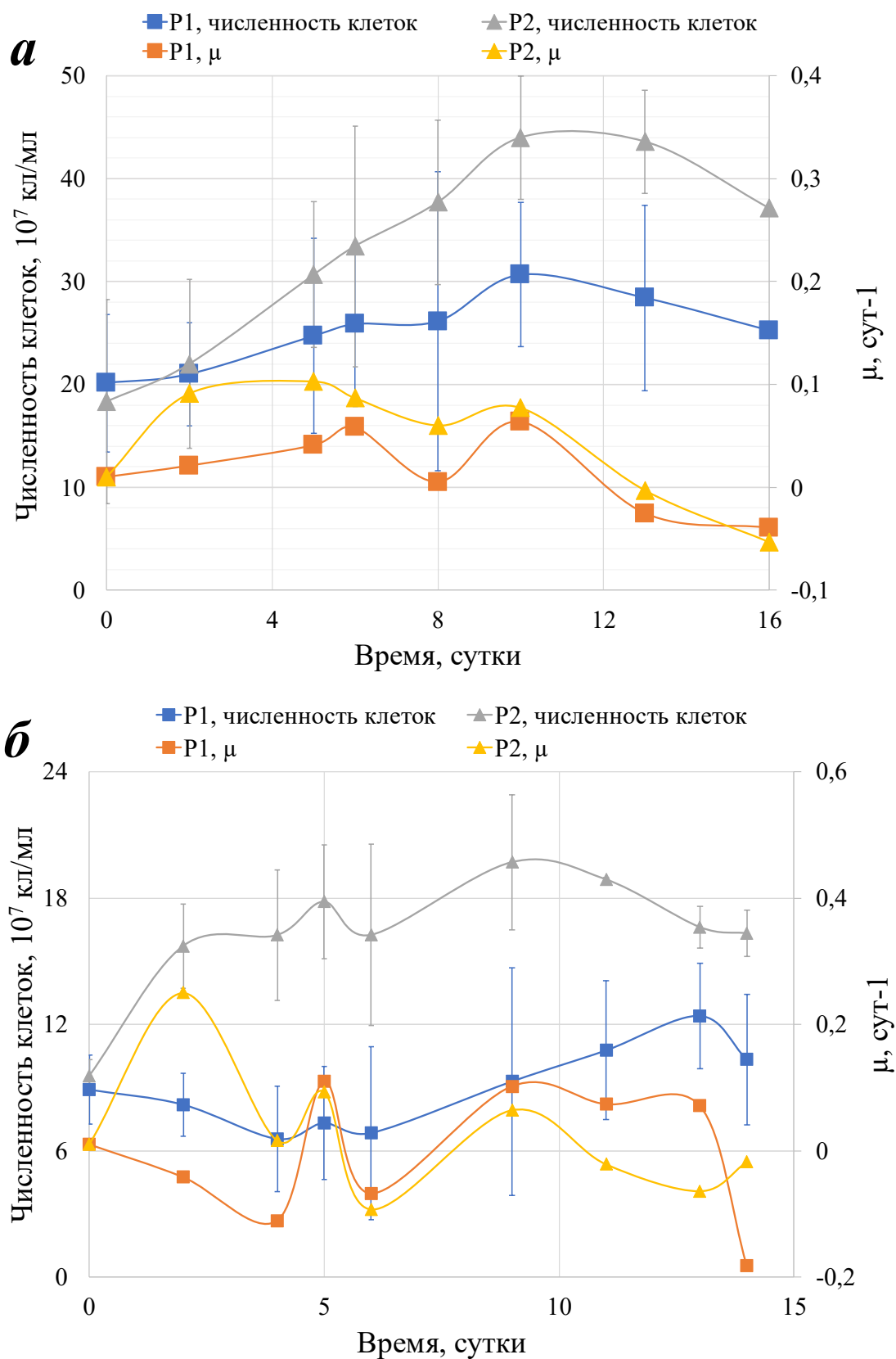


Рисунок 93 — Динамика изменения численности клеток микроорганизмов и скорости роста (μ) в ходе окисления двухвалентного железа в растворах выщелачивания, использованных однократно (**а**) и в рецикле (средние значения за 3 цикла) (**б**).

В ходе эксперимента было проведено исследование влияния наличия твердой фазы в среде биоокисления. Ранее проведенные эксперименты (Kolossoff et al., 2026) показали значимую роль пиритсодержащих хвостов флотации в среде, которая позволила увеличить скорость выщелачивания печатных плат и перевести процесс выщелачивания в непрерывный режим. Поэтому в ходе адаптации культуры в качестве субстрата и в этом эксперименте были использованы пиритные хвосты флотации. Твердая фаза, которая постоянно присутствовала в среде второго реактора с плотностью пульпы около 6%, была представлена остатками частей печатных плат и хвостов флотации.

В ходе предварительной адаптации посевной культуры пирит активно окислялся, в связи с чем доступность железа и сульфидной серы в среде снижалась, а в составе твердой фазы преимущественно оставались минералы, которые не подвергаются окислению: гипс, полевой шпат и кварц. В ходе предварительной адаптации культур к материалам плат в среде с хвостами флотации (5%) и измельченных плат (2%) была получена накопительная культура ацидофильных микроорганизмов.

Наблюдения показывают, что по мере уменьшения доли твердой фазы в первом реакторе возрастает разница как в численности клеток микроорганизмов между реакторами, так и в скорости их роста. Таким образом, можно заключить, что наличие твердой минеральной фазы в реакторе биологического окисления растворов выщелачивания улучшает динамику процесса как с точки зрения рецикла раствора выщелачивания, так и с точки зрения стабильности биологического процесса.

В течение всего эксперимента исследовали изменения состава сообщества микроорганизмов в реакторах. Как и в предыдущих экспериментах с данным образцом плат в составе сообщества доминировали железooksисляющие бактерии рода *Leptospirillum* во всех популяциях, поэтому составы популяций представлены в усредненном виде (Рисунок 94).

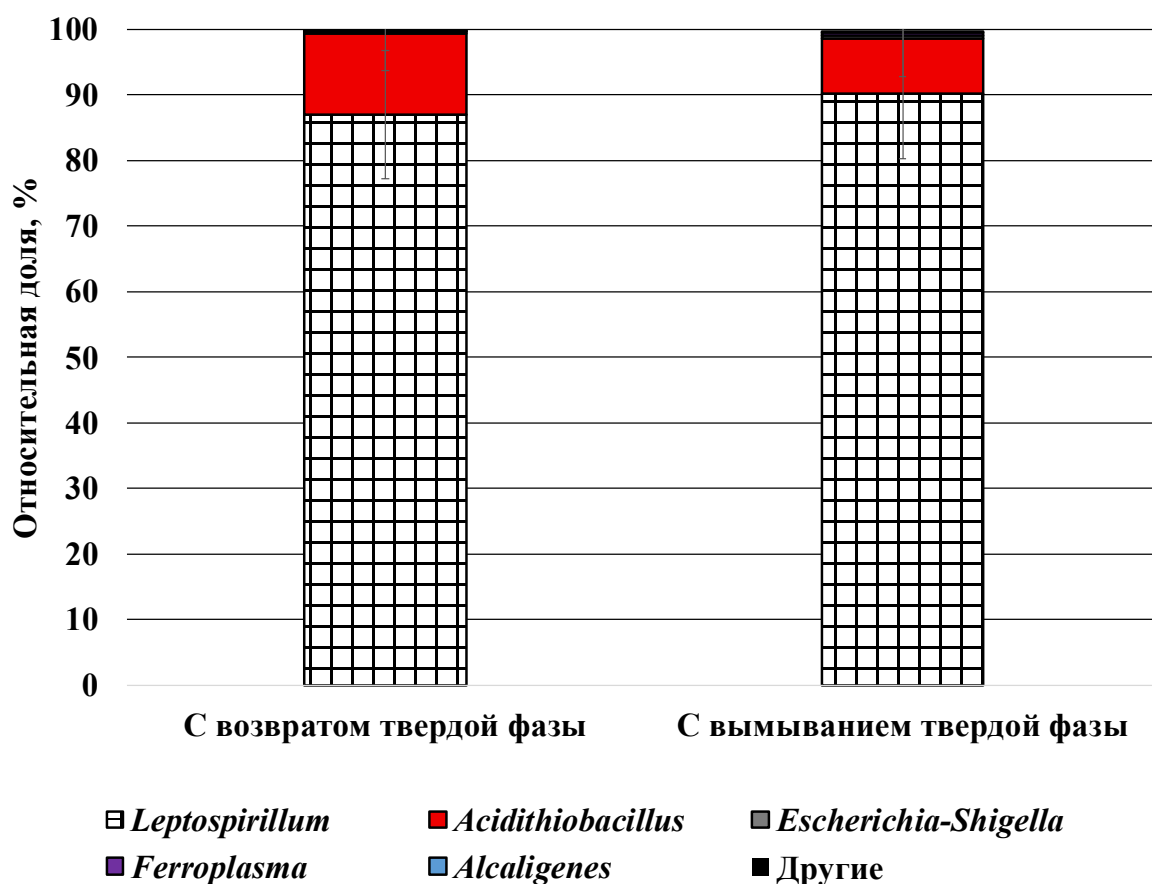


Рисунок 94 — Изменение относительного состава сообщества микроорганизмов в реакторах с вымыванием и с возвратом твердой фазы (усредненные результаты за 3 цикла с однократно использованным раствором и за 3 цикла с повторным)

Благодаря многочисленным исследованиям (Bellenberg et al., 2014; Ghauri et al., 2007; Maulani et al., 2016; Shen et al., 2023), известна значимая роль образования биопленок на поверхности пирита ацидофильными микроорганизмами. Однако, поведение бактерий после истощения железа и серы в составе минерала остается не до конца изученным. Для ацидофильных микроорганизмов, окисляющих железо и серу, основными энергетическими субстратами являются ионы Fe^{2+} и восстановленные соединения серы. Когда концентрация этих субстратов в окружающей среде снижается, клетки в биопленке испытывают энергетический стресс. Это служит сигналом для активного открепления и перехода в планктонную форму, чтобы мигрировать и колонизировать новые поверхности, богатые питательными веществами. Такой механизм наблюдается у бактерий рода *Leptospirillum*, которые доминируют в процессах окисления пирита (Goltsman et al., 2013; Vardanyan et al., 2013).

На основе данных фактов была сформирована гипотеза о позитивном влиянии твердой фазы в среде выщелачивания минеральной природы, которая теоретически могла

выступать в роли биоагрузки в реакторах и способствовать активизации культуры микроорганизмов в условиях токсичной среды. Косвенно можно оценить влияние наличия доступного для биоокисления пирита в среде, так как по мере продолжения эксперимента содержание неокисленного пирита снижалось. В первом реакторе — за счет и окисления, и вымывания, во втором — за счет окисления.

Сравнение эффективности двухстадийного процесса выщелачивания с проведенным ранее (Kolossoff et al., 2026) одностадийным процессом показало, что несмотря на предварительную адаптацию и применение каскада реакторов, одностадийный процесс значительно уступает в производительности. В ходе экспериментов было показано, что извлечение металлов из образца плат в одностадийном процессе снижалось при повышении доли отходов измельчения печатных плат в пульпе более 1,2%, в то время как разделение химического процесса выщелачивания и биоокисления железа позволило перерабатывать образец печатных плат с плотностью пульпы 5%. Для дальнейшей оптимизации технологической схемы двухстадийной переработки необходимо провести ряд дальнейших исследований по созданию непрерывного процесса химического выщелачивания и биологического окисления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования биоокисления двух образцов сульфидных концентратов было определено влияние источников углерода, таких как CO_2 и меласса, на эффективность технологического процесса. В ходе биовыщелачивания мышьяк-содержащего полиметаллического медно-цинкового концентрата, содержащего халькопирит, теннантит и сфалерит, было показано, что применение разных источников углерода и повышение температуры позволяет интенсифицировать процесс биовыщелачивания меди и цинка. При этом сопоставление полученных результатов с результатами предыдущих работ показывает, что такие эффекты могут определяться различной долей сульфидных минералов в концентрате. Наблюдаемый эффект исследованных факторов во многом определяется их воздействием на микробную популяцию, которая осуществляет процесс биовыщелачивания, так как при изменении условий процесса наблюдались изменения в составе сообщества микроорганизмов биореакторов.

В ходе биоокисления золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата подача CO_2 может снизить негативное влияние повышения плотности пульпы и снижения времени пребывания пульпы на биоокисление сульфидного концентрата, сохраняя близкую к референтным эффективность биоокисления арсенопирита. При повышении температуры с 40 до 50 °C подача диоксида углерода также позволила добиться более высоких показателей, чем в контроле, однако, недостаточных для стабильного поддержания процесса биоокисления. Анализ микробных популяций, сформировавшихся после изменения условий биоокисления, выявил закономерности, которые соответствуют известным представлениям о свойствах микроорганизмов. В частности, показано, что в популяциях реакторов, в которых биоокисление арсенопирита происходит интенсивно (степень окисления арсенопирита составляет 89,78–97,14%), преобладают железоокисляющие археи р. *Ferroplasma*, а также железо- и сероокисляющие бактерии р. *Sulfobacillus* и р. *Acidithiobacillus*, и, в целом, сохраняется состав сообщества относительно референтных условий. В реакторах, в которых интенсивность биоокисления значительно снижалась (степень окисления арсенопирита снижалась до 58,63–71,77%), относительные доли микроорганизмов в сообществе значительно изменялись.

Эксперименты, направленные на разработку биогидрометаллургических подходов для биовыщелачивания отхода измельчения печатных плат, показали необходимость предварительной адаптации сообщества микроорганизмов к материалам плат. Предложен технологический подход с использованием хвостов флотации, содержащих пирит, для повышения эффективности биовыщелачивания. Показано, что сообщество ацидофильных микроорганизмов претерпевает значительные изменения в присутствии измельченных печатных плат, которые угнетали рост архей *Ferroplasma*, что сказалось на общей эффективности процесса.

Исследован процесс двухстадийного выщелачивания печатных плат, предполагающий разделение химического процесса выщелачивания и биологического окисления двухвалентного железа в растворе выщелачивания. Данный подход позволил добиться большей продуктивности процесса в периодическом режиме, чем при одностадийном биовыщелачивании, и позволил эффективно извлекать медь при содержании в пульпе 50 г/л отходов измельчения печатных плат, в то время как при одностадийном процессе наблюдалось снижение эффективности извлечения при 12 г/л.

Таким образом, в ходе работы были оценены биогидрометаллургические подходы переработки природного сырья (мышьяксодержащего полиметаллического медно-цинкового концентрата и упорного золотосодержащего пирит-арсенопиритного концентрата) с применением углекислого газа в качестве дополнительного источника углерода. Также были разработаны подходы переработки антропогенного сырья (хвостов флотации и измельченных печатных плат), которые позволяют интегрировать данный процесс в существующие технологические схемы переработки сульфидных минералов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что подача диоксида углерода снижает негативное влияние отклонений технологических параметров на биоокисление пирит-арсенопиритного концентрата. При увеличении плотности пульпы до 1 : 5 подача CO_2 приводит к увеличению биоокисления пирита в 2 раза, арсенопирита — в 1,3 раза; при увеличении температуры до 50 °C — в 1,1 раза. Впервые было показано, что барботаж CO_2 также позволяет сократить время пребывания концентрата с 5 до 3 суток и обеспечивает более высокие показатели биоокисления относительно контроля по пириту в 5,2 раза, по арсенопириту — в 1,3 раза.

2. Применение дополнительных источников углерода (CO_2 и мелассы) обеспечивает стабильное биовыщелачивание медно-цинкового концентрата при повышенной температуре (55 °C). При повышении температуры до 55 °C подача диоксида углерода позволяет повысить извлечение цинка в 1,6 раза, а использование мелассы увеличивает извлечение меди в 1,2 раза относительно контроля. В условиях двухстадийного выщелачивания дополнительный барботаж диоксидом углерода обеспечивает повышение извлечения меди и цинка в 1,2 и 1,1 раза по сравнению с контрольным процессом без подачи CO_2 .

3. Изменение температуры и содержания пульпы в реакторах и применение дополнительных источников углерода приводит к качественным и количественным изменениям микробных популяций, а также к изменению общей численности микроорганизмов в реакторах биоокисления пирит-арсенопиритного и медно-цинкового концентратов.

4. Впервые количественно охарактеризовано негативное влияние отходов печатных плат на ростовые и окислительные характеристики железоокисляющих ацидофильных микроорганизмов. Установлено, что внесение в пульпу пылевой фракции измельчения плат в концентрации всего 2 г/л приводит к ингибированию роста и метаболической активности ацидофилов.

5. Впервые показана возможность адаптации ацидофильного консорциума в условиях совместного одностадийного выщелачивания пиритсодержащих хвостов флотации и отходов печатных плат ацидофильным консорциумом. Разработанный подход позволил адаптировать ацидофильные микроорганизмы к присутствию до 12 г/л пылевой фракции плат в среде, обеспечив извлечение 80% меди и 38% никеля.

6. Установлено, что двухстадийная схема (разделение биологического окисления железа и химического выщелачивания) наиболее перспективна для масштабирования переработки печатных плат. Она позволяет интенсифицировать извлечение металлов при плотности пульпы 50 г/л. Схема обеспечивает извлечение 89% меди, 54% цинка и 36% никеля и создание замкнутого оборотного цикла технологических растворов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АХМ — ацидофильные хемолитотрофные микроорганизмы

ДЭ — дрожжевой экстракт

п/п — плотность пульпы

Т : Ж — соотношение твердой и жидкой фаз в пульпе концентрата

AMD — acid mine drainage, сильноокислые, богатые металлами сточные воды, которые образуются при контакте сульфидсодержащих минералов с воздухом и водой

PCB — printed circuit boards (печатные платы)

RT — retention time, время пребывания среды в реакторе

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванов М.В., Каравайко Г.И. Геологическая микробиология // Микробиология. – 2004. – Т. 73, № 5. – С. 581–597.
2. Каравайко Г.И., Дубинина Г.А., Кондратьева Т.Ф. Литотрофные микроорганизмы окислительных циклов серы и железа // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 5. – С. 593–629.
3. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. – М.: Наука, 1972. – 248 с.
4. Каравайко Г.И., Росси Дж., Агате А., Грудев С., Авакян З.А. Биоготехнология металлов. Практическое руководство. – М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1989. – 375 с.
5. Кондратьева Т.Ф., Булаев А.Г., Муравьев М.И. Микроорганизмы в биоготехнологиях переработки сульфидных руд. – М.: Наука, 2015. – 212 с.
6. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод. М.: Недра, 1970. 140 с.
7. Совмен В.К., Гуськов В.Н., Белый А.В., Кузина З.П., Дроздов С.В., Савушкина С.И., Майоров А.М., Закревский М.П. Переработка золотоносных руд с применением бактериального окисления в условиях Крайнего Севера. – Новосибирск: Наука, 2007. – 144 с.
8. Aachhera S., Tiwari S., Verma P., Gahan C. S. E-waste recycling: a comprehensive review on metal recovery and the factors affecting bioleaching // Biotechnology for Environmental Sustainability. – 2025. – P. 209-243.
9. Abashina T., Vainshtein M. Current trends in metal biomining with a focus on genomics aspects and attention to arsenopyrite leaching—A review // Microorganisms. – 2023. – V. 11. – №. 1. – art. 186.
10. Abdollahi H., Mirmohammadi M., Ghassa S., Jozanikohan G., Boroumand Z., Tuovinen O.H. Acid bioleaching of select sphalerite samples of variable Zn-and Fe-contents // Hydrometallurgy. – 2022. – V. 212. – art. 105897.
11. Acevedo F. Present and future of bioleaching in developing countries // Electronic journal of Biotechnology. – 2002. – V. 5. – №. 2. – P. 18-19.
12. Adetunji A.I., Oberholster P.J., Erasmus M. Bioleaching of metals from e-waste using microorganisms: a review // Minerals. – 2023. – V. 13. – №. 6. – art. 828.

13. Alexander B., Leach S., Ingledew W.J. The relationship between chemiosmotic parameters and sensitivity to anions and organic acids in the acidophile *Thiobacillus ferrooxidans* // Microbiology. – 1987. – V. 133. – №. 5. – P. 1171-1179.
14. Alpay S., Yavuz M. Underground mining method selection by decision making tools // Tunnelling and underground space technology. – 2009. – V. 24. – №. 2. – P. 173-184.
15. Amiri F., Mousavi S. M., Yaghmaei S., Barati M. Bioleaching kinetics of a spent refinery catalyst using *Aspergillus niger* at optimal conditions // Biochemical engineering journal. – 2012. – V. 67. – P. 208-217.
16. Anaya-Garzon J., Hubau A., Joulian C., Guezennec A.G. Bioleaching of E-waste: influence of printed circuit boards on the activity of acidophilic iron-oxidizing bacteria // Frontiers in Microbiology. – 2021. – V. 12. – art. 669738.
17. Ankireddy P.R., Sudikondala P., Mangadoddy N., Tripathy S.K., Yanamandra R.M. Comparative studies of experimental and numerical investigations of fluid flow and particle separation of high-gravity spiral concentrators // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2024. – V. 63. – №. 27. – P. 12177-12198.
18. Arpalahti A., Lundström M. The leaching behavior of minerals from a pyrrhotite-rich pentlandite ore during heap leaching // Minerals Engineering. – 2018. – V. 119. – P. 116-125.
19. Arrascue M.E.L., van Niekerk J. Biooxidation of arsenopyrite concentrate using BIOX® process: Industrial experience in Tamboraque, Peru // Hydrometallurgy. – 2006. – V. 83. – №. 1-4. – P. 90-96.
20. Arroyave G.D.M., Gallego S.D., Márquez G.M.A. Evaluation of residence time distribution and mineralogical characterization of the biooxidation of sulfide minerals in a continuous stirred tank reactor // Minerals Engineering. – 2013. – V. 46. – P. 128-135.
21. Arya S., Kumar S. Bioleaching: urban mining option to curb the menace of E-waste challenge // Bioengineered. – 2020. – V. 11. – №. 1. – P. 640-660.
22. Aylmore M.G., Muir D.M. Thiosulfate leaching of gold—A review // Minerals engineering. – 2001. – V. 14. – №. 2. – P. 135-174.
23. Azizitorghabeh A., Mahandra H., Ramsay J., Ghahreman A. A sustainable approach for gold recovery from refractory source using novel BIOX-TC system // Journal of Industrial and Engineering Chemistry. – 2022. – V. 115. – P. 209-218.
24. Baltosser R.W., Lawrence H.W. Application of well logging techniques in metallic mineral mining // Geophysics. – 1970. – V. 35. – №. 1. – P. 143-152.

25. Baral S.S. Bioleaching of rare earth elements from spent fluid catalytic cracking catalyst using *Acidithiobacillus ferrooxidans* // Journal of Environmental Chemical Engineering. – 2021. – V. 9. – №. 1. – art. 104848.
26. Barnett M.J., Palumbo-Roe B., Deady E.A., Gregory S.P. Comparison of three approaches for bioleaching of rare earth elements from bauxite // Minerals. – 2020. – V. 10. – №. 8. – art. 649.
27. Bellenberg S., Díaz M., Noël N., Sand W., Poetsch A., Guiliani N., Vera M. Biofilm formation, communication and interactions of leaching bacteria during colonization of pyrite and sulfur surfaces // Research in microbiology. – 2014. – V. 165. – №. 9. – P. 773-781.
28. Belyi A., Chernov D., Solopova N. Production development of Olimpiadinskoe gold processing plant through BIONORD® technology processing // Solid State Phenomena. – 2017. – V. 262. – P. 12-15.
29. Ben-Awuah E., Richter O., Elkington T., Pourrahimian Y. Strategic mining options optimization: Open pit mining, underground mining or both // International Journal of Mining Science and Technology. – 2016. – V. 26. – №. 6. – P. 1065-1071.
30. Bertoldo C., Dock C., Antranikian G. Thermoacidophilic microorganisms and their novel biocatalysts // Engineering in life sciences. – 2004. – V. 4. – №. 6. – P. 521-532.
31. Blank P.N., Barnett A.A., Ronnebaum T.A., Alderfer K.E., Gillott B.N., Christianson D.W., Himmelberger J.A. Structural studies of geranylgeranylglyceryl phosphate synthase, a prenyltransferase found in thermophilic *Euryarchaeota* // Biological Crystallography. – 2020. – V. 76. – №. 6. – P. 542-557.
32. BLAST : [электронный ресурс]. — URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 21.01.2026).
33. Blight K., Ralph D.E., Thurgate S. Pyrite surfaces after bio-leaching: a mechanism for bio-oxidation // Hydrometallurgy. – 2000. – V. 58. – №. 3. – P. 227-237.
34. Blumer C., Haas D. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis // Archives of microbiology. – 2000. – V. 173. – №. 3. – P. 170-177.
35. Boboev I.R., Selnitsin R.S., Kholikov T.A., Sharipov B.K. Technology of gold extraction from mature dumps by thiourea leaching // Russian Journal of Non-Ferrous Metals. – 2020. – V. 61. – №. 3. – P. 257-264.

36. Bogdanova T.I., Tsaplina I.A., Kondrat'eva T.F., Duda V.I., Suzina N.E., Melamud V.S., Tourova T.P., Karavaiko G.I. *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov., a thermotolerant, chemolithotrophic bacterium // Int J Syst Evol Microbiol. – 2006. – V. 56. – P. 1039-1042.
37. Bonnefoy V., Holmes D.S. Genomic insights into microbial iron oxidation and iron uptake strategies in extremely acidic environments // Environmental Microbiology. – 2012. – V. 14. – No. 7. – P. 1597-1611.
38. Borja D., Nguyen K. A., Silva R. A., Ngoma E., Petersen J., Harrison S.T.L., Park J.H., Kim H. Continuous bioleaching of arsenopyrite from mine tailings using an adapted mesophilic microbial culture // Hydrometallurgy. – 2019. – V. 187. – P. 187-194.
39. Borkar P.K., Eisele T. A review of in situ manganese bioleaching and recovery techniques // Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review. – 2025. – P. 1-22.
40. Bosecker K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms // FEMS Microbiology reviews. – 1997. – V. 20. – №. 3-4. – P. 591-604.
41. Boxall, N.J., Cheng, K.Y., Bruckard, W. and Kaksonen, A.H. Application of indirect non-contact bioleaching for extracting metals from waste lithium-ion batteries // Journal of hazardous materials – 2018 – V. 360 - P.504-511.
42. Brierley C.L. Biohydrometallurgical prospects // Hydrometallurgy. – 2010. – V. 104. – №. 3-4. – P. 324-328.
43. Brierley C.L. How will biomining be applied in future? // Transactions of nonferrous metals society of China. – 2008. – V. 18. – №. 6. – P. 1302-1310.
44. Brierley C.L., Brierley J.A. Progress in bioleaching: part B: applications of microbial processes by the minerals industries // Applied microbiology and biotechnology. – 2013. – V. 97. – №. 17. – P. 7543-7552.
45. Brierley J.A., Brierley C.L. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy // Hydrometallurgy. – 2001. – V. 59. – №. 2-3. – P. 233-239.
46. Brombacher C., Bachofen R., Brandl H. Biohydrometallurgical processing of solids: a patent review // Applied microbiology and biotechnology. – 1997. – V. 48. – №. 5. – P. 577-587.
47. Broniatowski M., Wydro P. Interactions of brominated flame retardants with membrane models of dehalogenating bacteria: Langmuir monolayer and grazing incidence X-ray diffraction studies // Langmuir. – 2024. – V. 40. – №. 20. – P. 10600-10614.

48. Brune K.D., Bayer T.S. Engineering microbial consortia to enhance biomining and bioremediation // *Frontiers in microbiology*. – 2012. – V. 3. – art. 203.
49. Bryan C.G., Harrison S.T.L. Microbial ecology of bioheaps, stirred tanks, and mine wastes // *Biomining Technologies: Extracting and Recovering Metals from Ores and Wastes*. – 2022. – P. 133-149.
50. Bulaev A.G., Artykova A.V., Elkina Y.A., Kolosov A.V., Nechaeva A.V., Beletski A.V., Kadnikov V.V., Melamud V.S., Mardanov A.V. Bioleaching of copper-zinc concentrate at different temperatures // *Microbiology*. – 2024. – V. 93. – №. 6. – P. 826-836.
51. Bulaev A.G., Erofeeva T.V., Vorobeva K.S., Chelidze G.G., Ramonova A.A. Effect of organic nutrients on the activity of *Archaea* of the *Ferroplasmaceae* family // *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. – 2018. – V. 73. – №. 3. – P. 146-152.
52. Bulaev A.G., Kanygina A.V., Manolov A.I. Genome analysis of *Acidiplasma* sp. MBA-1, a polyextremophilic archaeon predominant in the microbial community of a bioleaching reactor // *Microbiology*. – 2017. – V. 86. – №. 1. – P. 89-95.
53. Bulaev A. Pyrrhotite biooxidation by moderately thermophilic acidophilic microorganisms // *Microbiology*. – 2020. – V. 89. – №. 5. – P. 510-519.
54. Bulaev A., Artykova A., Diubar A., Kolosoff A., Melamud V., Kolganova T., Beletsky A., Mardanov A. Biooxidation of a pyrite-arsenopyrite concentrate under stressful conditions // *Microorganisms*. – 2024. – V. 12. – №. 12. – art. 2463.
55. Bulaev A., Boduen A. Carbon sources as a factor determining the activity of microbial oxidation of sulfide concentrate at elevated temperature // *Minerals*. – 2022. – V. 12. – №. 2. – art. 110.
56. Bulaev A., Kadnikov V., Elkina Y., Beletsky A., Artykova A., Kolosoff A., Ravin N., Mardanov A. Transcriptomic analysis of the strain *Acidiplasma* sp. YE-1 during the oxidation of sulfide minerals pyrite and arsenopyrite // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2025. – V. 26. – №. 19. – art. 9287.
57. Bulaev A., Kadnikov V., Elkina Y., Beletsky A., Melamud V., Ravin N., Mardanov A. Shifts in the microbial populations of bioleach reactors are determined by carbon sources and temperature // *Biology*. – 2023. – V. 12. – №. 11. – art. 1411.
58. Bulaev A., Nechaeva A., Elkina Y., Melamud V. Effect of carbon sources on pyrite-arsenopyrite concentrate bio-oxidation and growth of microbial population in stirred tank reactors // *Microorganisms*. – 2021. – V. 9. – №. 11. – art. 2350

59. Castro M., Ruíz L.M., Barriga A., Jerez C.A., Holmes D.S., Guiliani N. C-di-GMP pathway in biomining bacteria // *Advanced Materials Research*. – 2009. – V. 71. – P. 223-226.
60. Chalaris M., Gkika D.A., Tolkou A.K., Kyzas G.Z. Advancements and sustainable strategies for the treatment and management of wastewaters from metallurgical industries: an overview // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2023. – V. 30. – №. 57. – P. 119627-119653.
61. Chen S., Yang Y., Liu C., Dong F., Liu B. Column bioleaching copper and its kinetics of waste printed circuit boards (WPCBs) by *Acidithiobacillus ferrooxidans* // *Chemosphere*. – 2015. – V. 141. – P. 162-168.
62. Chen W., Yin S., Zhou G., Li Z., Song Q. Copper recovery from tailings through bioleaching and further application of bioleached tailings residue: comprehensive utilization of tailings // *Journal of Cleaner Production*. – 2022. – V. 332. – art. 130129.
63. Cozma P., Bețianu C., Hlihor R. M., Simion I. M., Gavrilescu M. Bio-recovery of metals through biomining within circularity-based solutions // *Processes*. – 2024. – V. 12. – №. 9. – art. 1793.
64. Darvanjooghi M.H.K., Magdouli S., Brar S.K., Abdollahi H., Zolfaghari M. Bio-oxidation of gold from refractory sulfide ores: a journey ahead // *Geomicrobiology Journal*. – 2022. – V. 39. – №. 3-5. – P. 399-415.
65. Dave S. R., Shah M. B., Tipre D. R. E-waste: metal pollution threat or metal resource // *J Adv Res Biotechnol*. – 2016. – V. 1. – №. 2. – P. 1-14.
66. Davis K., Demopoulos G.P. Hydrometallurgical recycling technologies for NMC Li-ion battery cathodes: current industrial practice and new R&D trends // *RSC Sustainability*. – 2023. – V. 1. – №. 8. – P. 1932-1951.
67. Deblonde G.J.P., Chagnes A., Cote G. Recent advances in the chemistry of hydrometallurgical methods // *Separation & Purification Reviews*. – 2023. – V. 52. – №. 3. – P. 221-241.
68. Debnath B., Chowdhury R., Ghosh S.K. Sustainability of metal recovery from E-waste // *Frontiers of environmental science & engineering*. – 2018. – V. 12. – №. 6. – art. 2.
69. Deveci H. Effect of particle size and shape of solids on the viability of acidophilic bacteria during mixing in stirred tank reactors // *Hydrometallurgy*. – 2004. – V. 71. – №. 3-4. – P. 385-396.

70. Dew D.W., Lawson E.N., Broadhurst, J.L. The BIOX® process for biooxidation of goldbearing ores or concentrates // *Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes* / Ed. Rawlings D.E. Georgetown: Springer-Verlag / Landes Bioscience, 1997. P. 45–80.
71. Diab M. Mineralogical insights and upgrading of rare-metal, rare-earth, and radioactive minerals in Abu Zawal pegmatite, Egypt // *Canadian Metallurgical Quarterly*. – 2025. – P. 1-16.
72. Diaz M., Guiliani N. Molecular regulatory network involved in biofilm structure development by *Acidithiobacillus thiooxidans* includes Pel exopolysaccharide machinery // *Solid State Phenomena*. – 2017. – V. 262. – P. 330-333.
73. Diubar A.M., Artykova A.V., Kolosov A.V., Beletski A.V., Kadnikov V.V., Melamud V.S., Mardanov A.V., Bulaev A.G. Biooxidation of a refractory gold-bearing concentrate at decreased retention time // *Microbiology*. – 2024. – V. 93. – № S1. – P. S121-S125.
74. Dixon D.G. Heap leach modeling—the current state of the art // *Hydrometallurgy*. – 2003. – V. 1. – P. 289-314.
75. Dopson M., Lindström B.E., Hallberg K.B. ATP generation during reduced inorganic sulfur compound oxidation by *Acidithiobacillus caldus* is exclusively due to electron transport phosphorylation // *Extremophiles*. – 2002. – V. 6. – №. 2. – P. 123-129.
76. Druschel G.K., Baker B.J., Gihring T.M., Banfield J.F. Acid mine drainage biogeochemistry at Iron Mountain, California // *Geochemical transactions*. – 2004. – V. 5. – №. 2. – art. 13.
77. Elkina Y.A., Melnikova E.A., Melamud V.S., Bulaev A.G. Bioleaching of enargite and tennantite by moderately thermophilic acidophilic microorganisms // *Microbiology*. – 2020. – V. 89. – №. 4. – P. 413-424.
78. Elkina Y., Nechaeva A., Artykova A., Kolosoff A., Bugubaeva A., Melamud V., Mardanov A., Bulaev A. Continuous bioleaching of arsenic-containing copper-zinc concentrate and shift of microbial population under various conditions // *Minerals*. – 2022. – V. 12. – №. 5. – art. 592.
79. Ferreira-Filipe D.A., Duarte A.C., Hursthouse A.S., Rocha-Santos T., Silva A.L.P. Biobased strategies for E-waste metal recovery: a critical overview of recent advances // *Environments*. – 2025. – V. 12. – №. 1. – art. 26.
80. Fomchenko N.V., Muravyov M.I. Thermodynamic and XRD analysis of arsenopyrite biooxidation and enhancement of oxidation efficiency of gold-bearing concentrates // *International Journal of Mineral Processing*. – 2014. – V. 133. – P. 112-118.

81. Fomchenko N., Muravyov M. Sequential bioleaching of pyritic tailings and ferric leaching of nonferrous slags as a method for metal recovery from mining and metallurgical wastes // *Minerals*. – 2020. – V. 10. – №. 12. – art. 1097.
82. Friedrich C.G., Rother D., Bardischewsky F., Quentmeier A., Fischer J. Oxidation of reduced inorganic sulfur compounds by bacteria: emergence of a common mechanism? // *Applied Environmental Microbiology*. – 2001 – V. 67 – P. 2873–2882.
83. Funari V., Mäkinen J., Salminen J., Braga R., Dinelli E., Revitzer H. Metal removal from municipal solid waste incineration fly ash: a comparison between chemical leaching and bioleaching // *Waste Management*. – 2017. – V. 60. – P. 397-406.
84. Gahan C.S., Srichandan H., Kim D.J., Akcil A. Biohydrometallurgy and biomineral processing technology: a review on its past, present and future // *Research Journal of Recent Sciences* – 2012. – V. 2277. – art. 2502.
85. Gahan C.S., Sundkvist J.E., Sandström Å. A study on the toxic effects of chloride on the biooxidation efficiency of pyrite // *Journal of hazardous materials*. – 2009. – V. 172. – №. 2-3. – P. 1273-1281.
86. Gericke M., Govender Y. Bioleaching strategies for the treatment of nickel–copper sulphide concentrates // *Minerals Engineering*. – 2011. – V. 24. – №. 11. – P. 1106-1112.
87. Ghauri M.A., Okibe N., Johnson D.B. Attachment of acidophilic bacteria to solid surfaces: The significance of species and strain variations // *Hydrometallurgy*. – 2007. – V. 85. – №. 2-4. – P. 72-80.
88. Ghorbani Y., Franzidis J.P., Petersen J. Heap leaching technology—current state, innovations, and future directions: a review // *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*. – 2016. – V. 37. – №. 2. – P. 73-119.
89. Golyshina O.V., Lünsdorf H., Golyshin P.N. *Acidiplasma* // *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. – 2015. – P. 1-7.
90. González E., Vera F., Scott F., Guerrero C., Bolívar J. M., Aroca G., Muñoz J.Á., Ladero M., Santos V.E. Acidophilic heterotrophs: basic aspects and technological applications // *Frontiers in Microbiology*. – 2024. – V. 15. – art. 1374800.
91. González-Toril E., Llobet-Brossa E., Casamayor E. O., Amann R., Amils R. Microbial ecology of an extreme acidic environment, the Tinto River // *Applied and environmental microbiology*. – 2003. – V. 69. – №. 8. – P. 4853-4865.

92. Gu X., Wong J.W.C. Identification of inhibitory substances affecting bioleaching of heavy metals from anaerobically digested sewage sludge // Environmental science & technology. – 2004. – V. 38. – №. 10. – P. 2934-2939.
93. Guezennec A.G., Jouliau C., Delort C., Bodéan F., Hedrich S., D'hugues P. CO₂ mass transfer in bioleaching reactors: CO₂ enrichment applied to a complex copper concentrate // Hydrometallurgy. – 2018. – V. 180. – P. 277-286.
94. Gunarathne V., Rajapaksha A. U., Vithanage M., Alessi D. S., Selvasembian R., Naushad M., You S., Oleszczuk P., Ok Y. S. Hydrometallurgical processes for heavy metals recovery from industrial sludges // Critical Reviews in Environmental Science and Technology. – 2022. – V. 52. – №. 6. – P. 1022-1062.
95. Guo S., Wang H., Liu X., Zhang Z., Liu Y. Approaches for the treatment and resource utilization of electroplating sludge // Materials. – 2024. – V. 17. – №. 7. – art. 1707.
96. Hallberg K.B., Johnson D.B. Biodiversity of acidophilic prokaryotes // Adv Appl Microbiol. – 2001. – №. 49. – P. 37-84.
97. Hallberg K.B., Lindström E.B. Characterization of *Thiobacillus caldus* sp. nov., a moderately thermophilic acidophile // Microbiology-SGM. – 1994. – V. 140. – №. 12. – P. 3451-3456.
98. Hawkes R., O'Hara G., Franzmann P.D., Plumb J.J. Geographical distribution and diversity of moderately thermophilic members of the *Thermoplasmatales* // Advanced Materials Research. – 2007. – V. 20. – P. 405-408.
99. Hedderich R., Forzi L. Energy-converting (NiFe) hydrogenases: more than just H₂ activation // Microbial Physiology. – 2005. – V. 10. – No. 2-4. – P. 92-104.
100. Hedrich S., Johnson D.B. Aerobic and anaerobic oxidation of hydrogen by acidophilic bacteria // FEMS microbiology letters. – 2013. – V. 349. – №. 1. – P. 40-45.
101. Hedrich S., Jouliau C., Graupner T., Schippers A., Guézennec A.G. Enhanced chalcopryrite dissolution in stirred tank reactors by temperature increase during bioleaching // Hydrometallurgy. – 2018. – V. 179. – P. 125-131.
102. Herrera M.N., Escobar B., Parra N., González C., Vargas T. Bioleaching of refractory gold concentrates at high pulp densities in a nonconventional rotating-drum reactor // Mining, Metallurgy & Exploration. – 1998. – V. 15. – №. 2. – P. 15-19.

103. Herrera N., Sinche Gonzalez M., Okkonen J., Mollehuara Canales R. Predicting flowability at disposal of spent heap leach by applying artificial neural networks based on operational variables // *Minerals*. – 2023. – V. 14. – №. 1. – art. 40.
104. Holmes D.S., Bonnefoy V. Genetic and bioinformatic insights into iron and sulfur oxidation mechanisms of bioleaching organisms // *Biomining*. – 2007. – P. 281-307.
105. Hsu E., Barmak K., West A.C., Park A.H.A. Advancements in the treatment and processing of electronic waste with sustainability: a review of metal extraction and recovery technologies // *Green chemistry*. – 2019. – V. 21. – №. 5. – P. 919-936.
106. Hu J., Huang H., Xie H., Gan L., Liu J., Long M. A scaled-up continuous process for biooxidation as pre-treatment of refractory pyrite-arsenopyrite gold-bearing concentrates // *Biochemical Engineering Journal*. – 2017. – V. 128. – P. 228-234.
107. Işıldar A., van de Vossenberg J., Rene E.R., van Hullebusch E.D., Lens P.N.L. Two-step bioleaching of copper and gold from discarded printed circuit boards (PCB) // *Waste Management*. – 2016. – V. 57. – P. 149-157.
108. Jeon S., Ito M., Tabelin C.B., Pongsumrankul R., Kitajima N., Park I., Hiroyoshi N. Gold recovery from shredder light fraction of E-waste recycling plant by flotation-ammonium thiosulfate leaching // *Waste management*. – 2018. – V. 77. – P. 195-202.
109. Jia Y., Ruan R., Qu J., Tan Q., Sun H., Niu X. Multi-scale and trans-disciplinary research and technology developments of heap bioleaching // *Minerals*. – 2024. – V. 14. – №. 8. – art. 808.
110. Jing-ying L., Xiu-Li X., Wen-quan L. Thiourea leaching gold and silver from the printed circuit boards of waste mobile phones // *Waste management*. – 2012. – V. 32. – №. 6. – P. 1209-1212.
111. John L.W. The art of heap leaching—the fundamentals // *Percolation Leaching: The status globally and in Southern Africa*. Misty Hills: The Southern African Institute of Mining and Metallurgy (SAIMM). – 2011. – P. 17-42.
112. Johnson D.B. Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms // *FEMS microbiology ecology*. – 1998. – V. 27. – №. 4. – P. 307-317.
113. Johnson D.B. Biomining—biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials // *Current opinion in biotechnology*. – 2014. – V. 30. – P. 24-31.
114. Johnson D.B., du Plessis C.A. Biomining in reverse gear: Using bacteria to extract metals from oxidised ores // *Minerals Engineering*. – 2015. – V. 75. – P. 2-5.

115. Johnson D.B., Kanao T., Hedrich S. Redox transformations of iron at extremely low pH: fundamental and applied aspects // *Frontiers in microbiology*. – 2012. – V. 3. – art. 96.
116. Johnson D. B., McGinness S. Ferric iron reduction by acidophilic heterotrophic bacteria // *Applied and environmental microbiology*. – 1991. – V. 57. – №. 1. – P. 207-211.
117. Justice N.B., Norman A., Brown C.T., Singh A., Thomas B.C., Banfield J.F. Comparison of environmental and isolate *Sulfobacillus* genomes reveals diverse carbon, sulfur, nitrogen, and hydrogen metabolisms // *BMC Genomics*. – 2014. – V. 15. – №. 1. – P. 1-17.
118. Kanao T., Kamimura K., Sugio T. Identification of a gene encoding a tetrathionate hydrolase in *Acidithiobacillus ferrooxidans* // *Journal of biotechnology*. – 2007. – V. 132 - № 1 - P. 16-22.
119. Karavaiko G.I., Krasil'Nikova E.N., Tsaplina I.A., Bogdanova T.I. and Zakharchuk L.M. Growth and carbohydrate metabolism of sulfobacilli // *Microbiology* – 2001. – V. 70. – № 3. – P. 245-250.
120. Karimi Darvanjooghi M.H., Magdoulis S., Brar S.K. Recent challenges in biological cyanidation and oxidation of sulfide-based refractory gold ore // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2024. – V. 40. – №. 2. – art. 67.
121. Kaushik S., Alatawi A., Djiwanti S. R., Pande A., Skotti E., Soni V. Potential of extremophiles for bioremediation // *Microbial rejuvenation of polluted environment: volume 1*. – Singapore : Springer Singapore, 2021. – P. 293-328.
122. Kim B.J., Koh Y.K., Kwon J.S. Bioleaching of pyrrhotite with bacterial adaptation and biological oxidation for iron recovery // *Metals*. – 2021. – V. 11. – №. 2. – art. 295.
123. Kim J., Kim R., Han K.N. Advances in hydrometallurgical gold recovery through cementation, adsorption, ion exchange and solvent extraction // *Minerals*. – 2024. – V. 14. – №. 6. – art. 607.
124. Kim K., Candeago R., Rim G., Raymond D., Park A.H.A., Su X. Electrochemical approaches for selective recovery of critical elements in hydrometallurgical processes of complex feedstocks // *Iscience*. – 2021. – V. 24. – №. 5.
125. Kolosoff A., Melamud V., Bulaev A. Co-bioleaching of pyrite flotation tailings and crushed printed circuit boards // *Molecules*. – 2026. – V. 31. – №. 6. – art. 985.
126. Konishi Y., Yoshida S., Asai S. Effect of yeast extract supplementation in leach solution on bioleaching rate of pyrite by acidophilic thermophile *Acidianus brierleyi* // *Biotechnology and bioengineering*. – 1998. – V. 58. – №. 6. – P. 663-667.

127. Krasil'nikova E.N., Zakharchuk L.M., Egorova M.A., Bogdanova T.I., Zhuravleva A.E., Tsaplina I.A. Regulation of metabolic pathways in sulfobacilli under different aeration regimes // Microbiology – 2010. – V. 79. – № 2. – P. 147-152.
128. Kržanović D., Conić V., Bugarin D., Jovanović I., Božić D. Maximizing economic performance in the mining industry by applying bioleaching technology for extraction of polymetallic mineral deposits // Minerals. – 2019. – V. 9. – №. 7. – art. 400.
129. Kumar A., Saini H.S., Kumar S. Bioleaching of gold and silver from waste printed circuit boards by *Pseudomonas balearica* SAE1 isolated from an e-waste recycling facility // Current microbiology. – 2018. – V. 75. – №. 2. – P. 194-201.
130. Kuzin E.N., Krutchinina N.E. Purification of circulating and waste water in metallurgical industry using complex coagulants // CIS Iron and Steel Review. – 2019. – V. 18. – №. 2. – P. 72.
131. Lalropuia L., Kucera J., Rassy W.Y., Pakostova E., Schild D., Mandl M., Kremser K., Guebitz G.M. Metal recovery from spent lithium-ion batteries via two-step bioleaching using adapted chemolithotrophs from an acidic mine pit lake // Frontiers in microbiology. – 2024. – V. 15. – art. 1347072.
132. Le M.N., Lee M.S. A review on hydrometallurgical processes for the recovery of valuable metals from spent catalysts and life cycle analysis perspective // Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review. – 2021. – V. 42. – №. 5. – P. 335-354.
133. Lee J., Pandey B. D. Bio-processing of solid wastes and secondary resources for metal extraction—a review // Waste management. – 2012. – V. 32. – №. 1. – P. 3-18.
134. Lei T., Shu J., Deng Y., Hu L., Chen S., Chen M., Huang W. Enhanced recovery of copper from reclaimed copper smelting fly ash via leaching and electrowinning processes // Separation and Purification Technology. – 2021. – V. 273. – art. 118943.
135. Letowski F., Kolodziej B., Czernecki M., Jedrczak A., Adamski Z. A new hydrometallurgical method for the processing of copper concentrates using ferric sulphate // Hydrometallurgy. – 1979. – V. 4. – №. 2. – P. 169-184.
136. Li G., Yao J. A review of in situ leaching (ISL) for uranium mining // Mining. – 2024. – V. 4. – №. 1. – P. 120-148.
137. Li H., Li C., Zhang Z. Decomposition mechanism of pentlandite during electrochemical bio-oxidation process // Transactions of nonferrous Metals Society of China. – 2012. – V. 22. – №. 3. – P. 731-739.

138. Li H., Oraby E., Eksteen J. An alternative amino acid leaching of base metals from waste printed circuit boards using alkaline glutamate solutions: A comparative study with glycine // Separation and Purification Technology. – 2025. – V. 356. – art. 129953.
139. Li J., Miller J. D. A review of gold leaching in acid thiourea solutions // Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review. – 2006. – V. 27. – №. 3. – P. 177-214.
140. Li J., Sun C., Kou J., Wang P., Jiang Y. Gold leaching performance of amino acids under alkaline conditions // Separation Science and Technology. – 2025. – V. 60. – №. 3-5. – P. 549-560.
141. Li K., Li Q., Zhang Y., Liu X., Yang Y., Jiang T. Improved thiourea leaching of gold from a gold ore using additives // Hydrometallurgy. – 2023. – V. 222. – art. 106204.
142. Li Q., Sand W., Zhang R. Enhancement of biofilm formation on pyrite by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* // Minerals. – 2016. – V. 6. – №. 3. – art. 71.
143. Liang Z., Cai C., Peng G., Hu J., Hou H., Liu B., Liang S., Xiao K., Yuan S., Yang J. Hydrometallurgical recovery of spent lithium ion batteries: environmental strategies and sustainability evaluation // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. – 2021. – V. 9. – №. 17. – P. 5750-5767.
144. Liddell K., Newton T., Adams M., Muller B. Energy consumption for Kell hydrometallurgical refining versus conventional pyrometallurgical smelting and refining of PGM concentrates // Journal of the South African Institute of Mining and Metallurgy. – 2011. – V. 111. – №. 2. – art. 127.
145. Liu C., Li X. T., Han Y., Li W., Gao Y., Jiang C., Liu Y., Zheng Y. Consortium of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* and *Alicyclobacillus ferrooxydans* facilitate pyrite bioleaching // Extremophiles. – 2026. – V. 30. – №. 1. – art. 19.
146. Liu H., Yin H., Dai Y., Dai Z., Liu Y., Li Q., Jiang H., Liu X. The co-culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidiphilium acidophilum* enhances the growth, iron oxidation, and CO₂ fixation // Archives of microbiology. – 2011. – V. 193. – №. 12. – P. 857-866.
147. Liu K., Tan Q., Yu J., Wang M. A global perspective on e-waste recycling // Circular Economy. – 2023. – V. 2. – №. 1. – art. 100028.
148. Liu R., Chen J., Zhou W., Cheng H., Zhou H. Insight to the early-stage adsorption mechanism of moderately thermophilic consortia and intensified bioleaching of chalcopyrite // Biochemical Engineering Journal. – 2019. – V. 144. – P. 40-47.

149. Lizama H.M. How copper dump leaching works // *Minerals Engineering*. – 2021. – V. 171. – P. 107075.
150. Logan T.C., Seal T., Brierley J.A. Whole-ore heap biooxidation of sulfidic gold-bearing ores // *Biomining*. – Berlin-Heidelberg: Springer, 2007. – p. 115–141
151. Lorenzo-Tallafigo J., Iglesias-González N., Romero-García A., Mazuelos A., Ramírez del Amo P., Romero R., Carranza F. The reprocessing of hydrometallurgical sulphidic tailings by bioleaching: The extraction of metals and the use of biogenic liquors // *Minerals Engineering*. – 2022. – V. 176. – art. 107343.
152. Lovley D.R. Potential role of dissimilatory iron reduction in the early evolution of microbial respiration // *Origins: Genesis, Evolution and Diversity of Life*. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2004. – P. 299-313.
153. Luo W., Li Y., Chen S., Liang Y., Liu X. Roles and regulation of quorum sensing of acidophiles in bioleaching: a review // *Microorganisms*. – 2024. – V. 12. – №. 3. – art. 422.
154. MacCarthy J., Nosrati A., Skinner W., Addai-Mensah J. Acid leaching and rheological behaviour of a siliceous goethitic nickel laterite ore: Influence of particle size and temperature // *Minerals Engineering*. – 2015. – V. 77. – P. 52-63.
155. MacLean M.R., Clark D.A., Laigle L., Norris P.R. Carbon dioxide uptake and fixation by ferrous iron-oxidizing acidophilic bacteria // *Minerals Engineering*. – 2024. – V. 206. – art. 108532.
156. Magoč T., Salzberg S.L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies // *Bioinformatics*. – 2011. – V. 27. – №. 21. – P. 2957-2963.
157. Mahajan S., Gupta A., Sharma R. Bioleaching and biomining // *Principles and applications of environmental biotechnology for a sustainable future*. – 2016. – P. 393-423.
158. Mahmoud A., Cézac P., Hoadley A.F.A., Contamine F., d'Hugues P. A review of sulfide minerals microbially assisted leaching in stirred tank reactors // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2017. – V. 119. – P. 118-146.
159. Majima H., Awakura Y., Hirato T., Tanaka T. The leaching of chalcopyrite in ferric chloride and ferric sulfate solutions // *Canadian Metallurgical Quarterly*. – 1985. – V. 24. – №. 4. – P. 283-291.
160. Malik L., Hedrich S. Ferric iron reduction in extreme acidophiles // *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – V. 12. – art. 818414.

161. Maluleke M.D., Kotsiopoulos A., Govender-Opitz E., Harrison S.T.L. Exploring microbial adaptation of immobilised acidophilic cultures to improve microbial oxidation rates and copper tolerance in e-waste bioleaching // *Minerals Engineering*. – 2024. – V. 207. – art. 108560.
162. Manesh M.J.H., Willard D.J., John K.M., Kelly R.M. Chalcopyrite bioleaching efficacy by extremely thermoacidophilic archaea leverages balanced iron and sulfur biooxidation // *Bioresource technology*. – 2024. – V. 408. – art. 131198.
163. Mangold S., Valdés J., Holmes D.S., Dopson M. Sulfur metabolism in the extreme acidophile *Acidithiobacillus caldus* // *Frontiers in microbiology*. – 2011. – V. 2. – art. 17.
164. Marafi M., Stanislaus A. Spent catalyst waste management: A review: Part I—Developments in hydroprocessing catalyst waste reduction and use // *Resources, Conservation and Recycling*. – 2008. – V. 52. – №. 6. – P. 859-873.
165. Martinez-Ballesteros G., Valenzuela-Garcia J.L., Gomez-Alvarez A., Encinas-Romero M.A., Mejia-Zamudio F.A., Rosas-Durazo A.D. Base metals extraction from printed circuit boards by pressure acid leaching // *Minerals*. – 2023. – V. 13. – №. 1. – art. 98.
166. Masaki Y., Hirajima T., Sasaki K., Miki H., Okibe N. Microbiological redox potential control to improve the efficiency of chalcopyrite bioleaching // *Geomicrobiology Journal*. – 2018. – V. 35. – №. 8. – P. 648-656.
167. Maulani N., Li Q., Sand W., Vera M., Zhang R. Interactions of the extremely acidophilic archaeon *Ferroplasma acidiphilum* with acidophilic bacteria during pyrite bioleaching // *Applied Environmental Biotechnology*. – 2016. – V. 2. – №. 1. – P. 43-55.
168. Meagher C., Dimitrakopoulos R., Avis D. Optimized open pit mine design, pushbacks and the gap problem—a review // *Journal of Mining Science*. – 2014. – V. 50. – №. 3. – P. 508-526.
169. Melamud V.S., Pivovarova T.A., Tourova T.P., Kolganova T.V., Osipov G.A., Lysenko A.M., Kondrat'eva T.F., Karavaiko G.I. *Sulfobacillus sibiricus* sp. nov., a new moderately thermophilic bacterium // *Microbiology*. – 2003. – V. 72. – P. 605-612.
170. Merli G., Becci A., Amato A. Recovery of precious metals from printed circuit boards by cyanogenic bacteria: optimization of cyanide production by statistical analysis // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. – 2022. – V. 10. – №. 3. – art. 107495.

171. Mirete S., Morgante V., González-Pastor J.E. Acidophiles: diversity and mechanisms of adaptation to acidic environments // *Adaption of microbial life to environmental extremes: novel research results and application*. – Cham : Springer International Publishing, 2017. – P. 227-251.
172. Molina C.S., Marquardt C.J., Jara J.J., Faúndez P.I. Insights on prioritization methods for mining exploration areas: a case study of the Tiltit Mining District, Chile // *Mining*. – 2024. – V. 4. – №. 3. – P. 687-718.
173. Morell J., Lao-Luque C., Sole-Sardans M., Ribas D., Guimera X., Dorado A.D. Closed-loop bioleaching for mobile phones from the bioregeneration of the leaching agent to the recovery of metal: A review // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. – 2025. – V. 151. – P. 90-111.
174. Muravyov M.I., Bulaev A.G. Two-step oxidation of a refractory gold-bearing sulfidic concentrate and the effect of organic nutrients on its biooxidation // *Minerals Engineering*. – 2013. – V. 45. – P. 108-114.
175. Muravyov M.I., Pivovarova T.A., Tourova T.P., Bulaev A.G., Fomchenko N.V., Kondrat'eva T.F. Identification of the dominant bacterium of two-stage biooxidation of gold-arsenic concentrate // *Microbiology*. – 2010. – V. 79. – №. 3. – P. 342-348.
176. Muravyov M. Two-step processing of refractory gold-containing sulfidic concentrate via biooxidation at two temperatures // *Chemical Papers*. – 2019. – V. 73. – №. 1. – P. 173-183.
177. Nagar N., Garg H., Sharma N., Awe S.A., Gahan C.S. Effect of pulp density on the bioleaching of metals from petroleum refinery spent catalyst // *3 Biotech*. – 2021. – V. 11. – №. 3. – art. 143.
178. Nancucheo I., Johnson D.B. Production of glycolic acid by chemolithotrophic iron-and sulfur-oxidizing bacteria and its role in delineating and sustaining acidophilic sulfide mineral-oxidizing consortia // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2010. – V. 76. – №. 2. – P. 461-467.
179. Natarajan G., Ting Y.P. Gold biorecovery from e-waste: an improved strategy through spent medium leaching with pH modification // *Chemosphere*. – 2015. – V. 136. – P. 232-238.
180. Nixon S. L., Bonsall E., Cockell C.S. Limitations of microbial iron reduction under extreme conditions // *FEMS microbiology reviews*. – 2022. – V. 46. – №. 6. – art. fuac033.
181. Noguchi H., Okibe N. The role of bioleaching microorganisms in saline water leaching of chalcopyrite concentrate // *Hydrometallurgy*. – 2020. – V. 195. – art. 105397.

182. Norris P.R. *Acidimicrobiales* //Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. – 2015. – P. 1-2.
183. Norris P.R. *Ferrimicrobium* // Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. – 2015. – P. 1-3.
184. Norris P.R., Davis-Belmar C.S., Brown C.F., Calvo-Bado L.A. Autotrophic, sulfur-oxidizing actinobacteria in acidic environments // Extremophiles. – 2011. – V. 15. – №. 2. – P. 155-163.
185. Norris P.R., Clark D.A., Owen J.P., Waterhouse S. Characteristics of *Sulfobacillus acidophilus* sp. nov. and other moderately thermophilic mineral-sulphide-oxidizing bacteria // Microbiology. – 1996. – V. 142. – №. 4. – P. 775-783.
186. Okibe N., Johnson D.B. Biooxidation of pyrite by defined mixed cultures of moderately thermophilic acidophiles in pH-controlled bioreactors: significance of microbial interactions // Biotechnology and bioengineering. – 2004. – V. 87. – №. 5. – P. 574-583.
187. Oraby E.A., Eksteen J.J., O'Connor G.M. Gold leaching from oxide ores in alkaline glycine solutions in the presence of permanganate // Hydrometallurgy. – 2020. – V. 198. – art. 105527.
188. Paiva A.P., Piedras F.V., Rodrigues P.G., Nogueira C.A. Hydrometallurgical recovery of platinum-group metals from spent auto-catalysts–focus on leaching and solvent extraction // Separation and purification technology. – 2022. – V. 286. – art. 120474.
189. Pant D., Joshi D., Upreti M.K., Kotnala R.K. Chemical and biological extraction of metals present in E waste: a hybrid technology // Waste management. – 2012. – V. 32. – №. 5. – P. 979-990.
190. Panyushkina A.E., Tsaplina I.A., Kondrat'Eva T.F., Belyi A.V., Bulaev A.G. Physiological and morphological characteristics of acidophilic bacteria *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus thiooxidans*, members of a chemolithotrophic microbial consortium // Microbiology. – 2018. – V. 87. – №. 3. – P. 326-338.
191. Panyushkina A., Bulaev A., Belyi A.V. Unraveling the central role of sulfur-oxidizing *Acidiphilium multivorum* LMS in industrial bioprocessing of gold-bearing sulfide concentrates // Microorganisms. – 2021. – V. 9. – №. 5. – art. 984.
192. Panyushkina A., Muravyov M. Biomining nickel for a greener low-carbon future: progress in bioleaching technologies and acidophilic microbiology // Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. – 2025. – V. 24. – P. 753-803.

193. Pashkevich M., Alekseenko A., Nureev R. Environmental damage from the storage of sulfide ore tailings // Journal of Mining Institute. – 2023. – V. 260. – P. 155-167.
194. Peng T., Chen L., Wang J., Miao J., Shen L., Yu R., Gu G., Qiu G., Zeng W. Dissolution and passivation of chalcopyrite during bioleaching by *Acidithiobacillus ferrivorans* at low temperature // Minerals. – 2019. – V. 9. – №. 6. – art. 332.
195. Petersen J. From understanding the rate limitations of bioleaching mechanisms to improved bioleach process design // Hydrometallurgy. – 2023. – V. 221. – art. 106148.
196. Petersen J. Heap leaching as a key technology for recovery of values from low-grade ores—A brief overview // Hydrometallurgy. – 2016. – V. 165. – P. 206-212.
197. Phiri T.C., Singh P., Nikoloski A.N. The potential for copper slag waste as a resource for a circular economy: A review—Part I // Minerals Engineering. – 2022. – V. 180. – art. 107474.
198. Pourhossein F., Mousavi S.M., Beolchini F., Martire M.L. Novel green hybrid acidic-cyanide bioleaching applied for high recovery of precious and critical metals from spent light emitting diode lamps // Journal of Cleaner Production. – 2021. – V. 298. – art. 126714.
199. Priya A., Hait S. Feasibility of bioleaching of selected metals from electronic waste by *Acidiphilium acidophilum* // Waste and Biomass Valorization. – 2018. – V. 9. – №. 5. – P. 871-877.
200. Quatrini R., Johnson D.B. *Acidithiobacillus ferrooxidans* // Trends in Microbiology. – 2019. – V. 27. – №. 3. – P. 282-283.
201. Quehenberger J., Shen L., Albers S.V., Siebers B., Spadiut O. Sulfolobus—a potential key organism in future biotechnology // Frontiers in microbiology. – 2017. – V. 8. – art. 2474.
202. Ramírez-Aldaba H., Ruiz-Baca E., Escobedo-Bretado M. Á., García-Montiel E., Adame-Soto P.J., Lara R.H. Synergistic mechanisms in the *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *thiooxidans* consortium: a comprehensive review // Environments. – 2026. – V. 13. – №. 4. – art. 216.
203. Rasoulnia P., Mousavi S.M. Maximization of organic acids production by *Aspergillus niger* in a bubble column bioreactor for V and Ni recovery enhancement from power plant residual ash in spent-medium bioleaching experiments // Bioresource technology. – 2016. – V. 216. – P. 729-736.
204. Rawlings D.E. High level arsenic resistance in bacteria present in biooxidation tanks used to treat gold-bearing arsenopyrite concentrates: A review // Transactions of Nonferrous Metals Society of China. – 2008. – V. 18. – №. 6. – P. 1311-1318.

205. Rawlings D.E., Johnson D.B. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia // *Microbiology*. – 2007. – V. 153. – №. 2. – P. 315-324.
206. Rawlings D.E. The molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* and other mesophilic, acidophilic, chemolithotrophic, iron-or sulfur-oxidizing bacteria // *Hydrometallurgy* – 2001. – V. 59. – №. 2-3. – P. 187-201.
207. Ray D.A., Baniasadi M., Graves J.E., Greenwood A., Farnaud S. Thiourea leaching: an update on a sustainable approach for gold recovery from E-waste // *Journal of Sustainable Metallurgy*. – 2022. – V. 8. – №. 2. – P. 597-612.
208. Ren W.X., Li P.J., Zheng L., Fan S.X., Verhozina V.A. Effects of dissolved low molecular weight organic acids on oxidation of ferrous iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* // *Journal of Hazardous Materials*. – 2009. – V. 162. – №. 1. – P. 17-22.
209. Roberto F.F., Schippers A. Progress in bioleaching: part B, applications of microbial processes by the minerals industries // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2022. – V. 106. – №. 18. – P. 5913-5928.
210. Rodríguez Y., Ballester A., Blázquez M. L., González F., Muñoz J.A. New information on the chalcopyrite bioleaching mechanism at low and high temperature // *Hydrometallurgy*. – 2003. – V. 71. – №. 1-2. – P. 47-56.
211. Rodríguez Y., Ballester A., Blázquez M.L., González F., Muñoz J.A. New information on the pyrite bioleaching mechanism at low and high temperature // *Hydrometallurgy*. – 2003. – V. 71. – №. 1-2. – P. 37-46.
212. Rodríguez Y., Ballester A., Blázquez M. L., Gonzalez F., Munoz J.A. New information on the sphalerite bioleaching mechanism at low and high temperature // *Hydrometallurgy*. – 2003. – V. 71. – №. 1-2. – P. 57-66.
213. Rognes T., Flouri T., Nichols B., Quince C., Mahé F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics // *PeerJ*. – 2016. – V. 4. – art. e2584.
214. Rohwerder T., Sand W. The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphilium* spp. // *Microbiology-SGM*. – 2003. – V. 149. – №. 7. – P. 1699-1710.
215. Rossi G. The design of bioreactors // *Hydrometallurgy*. – 2001. – V. 59. – №. 2-3. – P. 217-231.

216. Salas B., Bellenberg S., Nilsson E., López-Tomasovic L., Dopson M., Vera M. QS molecules change the planktonic/mineral subpopulations distribution of moderately thermophilic leaching bacteria in pyrite and decrease leaching in chalcopyrite // *Frontiers in Microbiology*. – 2025. – V. 16. – art. 1592588.
217. Santhiya D., Ting Y. P. Use of adapted *Aspergillus niger* in the bioleaching of spent refinery processing catalyst // *Journal of biotechnology*. – 2006. – V. 121. – №. 1. – P. 62-74.
218. Shen L., Cheng J., Wang J., Zhang Y., Zhou H., Wu X., Li J., Zeng W. Biofilm formation and development during the pyrite bioleaching of moderately thermophilic microorganisms // *Hydrometallurgy*. – 2023. – V. 222. – art. 106183.
219. Shim Y.S., Rhee S.W., Lee W.K. Comparison of leaching characteristics of heavy metals from bottom and fly ashes in Korea and Japan // *Waste Management*. – 2005. – V. 25. – №. 5. – P. 473-480.
220. Silva G.G., Vincenzi R.A., de Araujo G.G., Venceslau S.J.S., Rodrigues F. Siderite and vivianite as energy sources for the extreme acidophilic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the context of mars habitability // *Scientific Reports*. – 2024. – V. 14. – №. 1. – art. 14885.
221. Sovmen V.K., Belyi A.V., Danneker M.Y., Gish A.A., Teleutov A.N. Biooxidation of refractory gold sulfide concentrate of Olympiada deposit // *Advanced Materials Research*. – 2009. – V. 71. – P. 477-480.
222. Sun J., Wen J., Wu B., Chen B. Mechanism for the bio-oxidation and decomposition of pentlandite: implication for nickel bioleaching at elevated pH // *Minerals*. – 2020. – V. 10. – №. 3. – art. 289.
223. Sun J., Zhou W., Zhang L., Cheng H., Wang Y., Tang R., Zhou H. Bioleaching of copper-containing electroplating sludge // *Journal of environmental management*. – 2021. – V. 285. – art. 112133.
224. Sutcu M., Erdogmus E., Gencel O., Gholampour A., Atan E., Ozbakkaloglu T. Recycling of bottom ash and fly ash wastes in eco-friendly clay brick production // *Journal of Cleaner Production*. – 2019. – V. 233. – P. 753-764.
225. Tezyapar Kara I., Kremser K., Wagland S.T., Coulon F. Bioleaching metal-bearing wastes and by-products for resource recovery: a review // *Environmental Chemistry Letters*. – 2023. – V. 21. – №. 6. – P. 3329-3350.

226. Thakur P., Kumar S. Metallurgical processes unveil the unexplored “sleeping mines” e-waste: a review // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2020. – V. 27. – №. 26. – P. 32359-32370.
227. Toledo A.G.R., Costa R.B., Delforno T.P., Arena F.A., Bevilaqua D. Exploring chalcopyrite (bio) leaching mechanisms under thermophilic conditions // *Minerals Engineering*. – 2023. – V. 204. – art. 108417.
228. Touati D. Iron and oxidative stress in bacteria // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 2000. – V. 373. – №. 1. – P. 1-6.
229. Tran T.T., Lee M.S. Use of ferric salt solutions as leaching agents of Co, Ni, Cu, Fe, and Mn from metallic alloys of spent lithium-ion batteries and separation of iron from the leaching solution // *Journal of Mining and Metallurgy, Section B: Metallurgy*. – 2022. – V. 58. – №. 3. – P. 405-415.
230. Trivedi A., Hait S. Bioleaching of selected metals from e-waste using pure and mixed cultures of *Aspergillus* species // *Measurement, Analysis and Remediation of Environmental Pollutants*. – Singapore : Springer Singapore, 2019. – P. 271-280.
231. Valdés J., Pedroso I., Quatrini R., Holmes D. S. Comparative genome analysis of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *At. thiooxidans* and *At. caldus*: insights into their metabolism and ecophysiology // *Hydrometallurgy*. – 2008. – V. 94. – No. 1-4. – P. 180-184.
232. Valiyev K., Bugubaeva A., Nechaeva A., Artykova A., Melamud V., Stom D., Boduen A., Bulaev A. The development of innovated complex process for treatment of old flotation tailings of copper-zinc sulfide ore // *Molecules*. – 2024. – V. 29. – №. 7. – art. 1550.
233. Valiyev K., Yskak A., Latyuk E., Artykova A., Berik R., Chashkov V., Bulaev A. Enrichment cultures of extreme acidophiles with biotechnological potential // *Mining*. – 2025. – V. 5. – №. 3. – art. 49.
234. Van Aswegen P.C., Van Niekerk J., Olivier W. The BIOX™ process for the treatment of refractory gold concentrates // *Biomining*. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2007. – P. 1-33.
235. van Hille R.P., Van Wyk N., Froneman T., Harrison S.T.L. Dynamic evolution of the microbial community in BIOX leaching tanks // *Advanced Materials Research*. – 2013. – V. 825. – P. 331-334.
236. Van Niekerk J.A., van Buuren C.B., Olivier J.W. Bioprocessing of refractory gold ores: the BIOX, MesoTHERM, and ASTER processes // *Biomining Technologies: Extracting and*

Recovering Metals from Ores and Wastes. – Cham : Springer International Publishing, 2022. – P. 67-88.

237. Vardanyan A., Achilleos P., Kafa N., Papadopoulou M., Vardanyan N., Vyrides I. Effect of cell lysis (CLs) products on acidophilic chemolithotrophic microorganisms and the role of *Acidocella* species // Geomicrobiology Journal. – 2017. – V. 34. – №. 10. – P. 916-922.

238. Vardanyan A., Vyrides I. Acidophilic bioleaching at high dissolved organic compounds: Inhibition and strategies to counteract this // Minerals Engineering. – 2019. – V. 143. – art. 105943.

239. Vera M., Schippers A., Hedrich S., Sand W. Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of microbial metal sulfide oxidation–part A // Applied microbiology and biotechnology. – 2022. – V. 106. – №. 21. – P. 6933-6952.

240. Villares M., Işıldar A., van der Giesen C., Guinée J. Does ex ante application enhance the usefulness of LCA? A case study on an emerging technology for metal recovery from e-waste // The International Journal of Life Cycle Assessment. – 2017. – V. 22. – №. 10. – P. 1618-1633.

241. Wang L., Su Q., Tian H., Du Y., Zhang T. C., Chen R. Leaching behavior and occurrence of metal elements in copper slag: The key to recycling metals in copper slag // Journal of Hazardous Materials Advances. – 2023. – V. 12. – art. 100374.

242. Wang Y., Su L., Zhang L., Zeng W., Wu J., Wan L., Qiu G., Chen X., Zhou H. Bioleaching of chalcopyrite by defined mixed moderately thermophilic consortium including a marine acidophilic halotolerant bacterium // Bioresource technology. – 2012. – V. 121. – P. 348-354.

243. Wang L., Yin S., Wu A., Chen W. Synergetic bioleaching of copper sulfides using mixed microorganisms and its community structure succession // Journal of Cleaner Production. – 2020. – V. 245. – art. 118689.

244. Watling H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides — a review // Hydrometallurgy. – 2006. – V. 84. – №. 1-2. – P. 81-108.

245. Weber K.A., Achenbach L.A., Coates J.D. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction // Nature Reviews Microbiology. – 2006. – V. 4. – №. 10. – P. 752-764.

246. Wei D., Chai L., Ichino R., Okido M. Gold leaching in an alkaline thiourea solution // Journal of the Electrochemical Society. – 1999. – V. 146. – №. 2. – art. 559.

247. Wu X., Liu L., Zhang Z., Deng F., Liu X. Phylogenetic and genetic characterization of *Acidithiobacillus* strains isolated from different environments // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2014. – V. 30. – No. 12. – P. 3197-3209.
248. Xavier L.H., Ottoni M., Abreu L.P.P. A comprehensive review of urban mining and the value recovery from e-waste materials // Resources, conservation and recycling. – 2023. – V. 190. – art. 106840.
249. Yadollahi A., Abdollahi H., Ardejani F. D., Mirmohammadi M., Magdouli S. Bio-oxidation behavior of pyrite, marcasite, pyrrhotite, and arsenopyrite by sulfur-and iron-oxidizing acidophiles // Bioresource Technology Reports. – 2021. – V. 15. – art. 100699.
250. Yang Y., Tan S. N., Glenn A.M., Harmer S., Bhargava S., Chen M. A direct observation of bacterial coverage and biofilm formation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* on chalcopyrite and pyrite surfaces // Biofouling. – 2015. – V. 31. – №. 7. – P. 575-586.
251. Yazici E.Y., Deveci H. Ferric sulphate leaching of metals from waste printed circuit boards // International Journal of Mineral Processing. – 2014. – V. 133. – P. 39-45.
252. Yuan Z., Yuan Y., Liu W., Ruan J., Li Y., Fan Y., Qiu R. Heat evolution and energy analysis of cyanide bioproduction by a cyanogenic microorganism with the potential for bioleaching of precious metals // Journal Of Hazardous Materials. – 2019. – V. 377. – P. 284-289.
253. Zeng L., Cheng C.Y. A literature review of the recovery of molybdenum and vanadium from spent hydrodesulphurisation catalysts: Part I: Metallurgical processes // Hydrometallurgy. – 2009. – V. 98. – №. 1-2. – P. 1-9.
254. Zhang D.R., Zhang R.Y., Zhu X.T., Kong W.B., Cao C., Zheng L., Pakostova E. Novel insights into the kinetics and mechanism of arsenopyrite bio-dissolution enhanced by pyrite // Journal of Hazardous Materials. – 2024. – V. 470. – art. 134193.
255. Zhang J., Zhang Y., Long Y., Du P., Tian T., Ren Q. Multi-source ferrous metallurgical dust and sludge recycling: Present situation and future prospects // Crystals. – 2024. – V. 14. – №. 3. – art. 273.
256. Zhang L., Zhao H., Hou H., Zou G., Gu G., Qiu G. Galvanic biomining: a low-carbon hydrometallurgical process for efficient resource recovery and power generation // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. – 2023. – V. 11. – №. 10. – P. 4040-4048.
257. Zhang L., Zhou W., Li K., Mao F., Wan L., Chen X., Zhou H., Qiu G. Synergetic effects of *Ferroplasma thermophilum* in enhancement of copper concentrate bioleaching by

- Acidithiobacillus caldus* and *Leptospirillum ferriphilum* // Biochemical engineering journal. – 2015. – V. 93. – P. 142-150.
258. Zhang R., Bellenberg S., Castro L., Neu T. R., Sand W., Vera M. Colonization and biofilm formation of the extremely acidophilic archaeon *Ferroplasma acidiphilum* // Hydrometallurgy. – 2014. – V. 150. – P. 245-252.
259. Zhang R., Neu T. R., Blanchard V., Vera M., Sand W. Biofilm dynamics and EPS production of a thermoacidophilic bioleaching archaeon // New biotechnology. – 2019. – V. 51. – P. 21-30.
260. Zhou H.B., Zeng W.M., Yang Z.F., Xie Y.J., Qiu G.Z. Bioleaching of chalcopyrite concentrate by a moderately thermophilic culture in a stirred tank reactor // Bioresource Technology. – 2009. – V. 100. – №. 2. – P. 515-520.
261. Zhou H., Zhang R., Hu P., Zeng W., Xie Y., Wu C., Qiu G. Isolation and characterization of *Ferroplasma thermophilum* sp. nov., a novel extremely acidophilic, moderately thermophilic archaeon and its role in bioleaching of chalcopyrite // Journal of applied microbiology. – 2008. – V. 105. – №. 2. – P. 591-601.
262. Zhu W., Xia J.L., Yang Y., Nie Z.Y., Zheng L., Ma C.Y., Zhang R.Y., Peng A.A., Tang L., Qiu G.Z. Sulfur oxidation activities of pure and mixed thermophiles and sulfur speciation in bioleaching of chalcopyrite // Bioresource Technology. – 2011. – V. 102. – №. 4. – P. 3877-3882.