



INDUKOVANÉ VYMÝVANIE POTENCIÁLNE TOXICKÝCH PRVKOV ARZÉN A ANTIMÓN (As, Sb) Z KONTAMINOVANÝCH GEOMATERIÁLOV

Hana Horváthová^{1,2}, Michaela Marníková¹, Ľubomír Jurkovič¹

¹Katedra geochémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, e-mail: hana.horvathova@uniba.sk

²Centrum environmentálnych služieb, s.r.o., Kutlíkova 17, 852 50 Bratislava

Banský priemysel generuje veľké množstvo odpadu, najmä vo forme hlušiny, ktorá obsahuje vysoké koncentrácie nebezpečných (polo)kovov. Väčšina banských odpadov sa kvôli ich nízkej ekonomickej hodnote jednoducho vyváža do okolitého prostredia bez akejkoľvek úpravy. Mobilizácia a migrácia (polo)kovov z tuhých substrátov do vôd prirodzeným procesom zvetrávania je rizikom pre ekosystémy aj ľudské zdravie [1]. Jednou z metód na zníženie koncentrácie (polo)kovov zo substrátov je biolúhovanie, ktoré bolo v laboratórnych podmienkach aplikované na znečistené substráty z lokalít **Medzibrod** a **Poproč**.

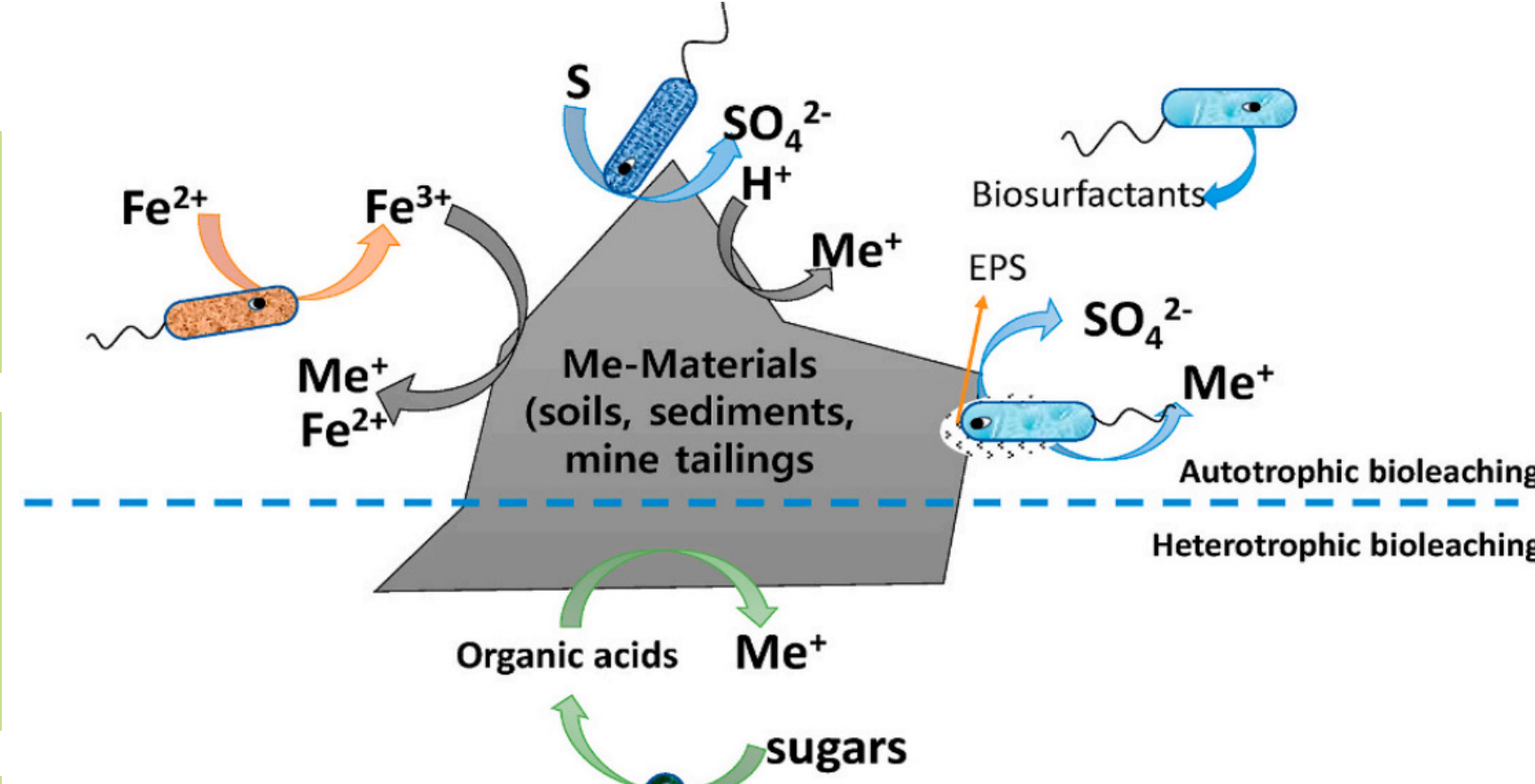
BIOLÚHOVANIE

Hydrometalurgický prístup využívajúci **mikroorganizmy (MO)** na podporu extrakcie (polo)kovov z pevných materiálov.

Čo je pri biolúhovaní nevyhnutné:

- prítomnosť špecializovaných MO
- dostupnosť živín
- optimálne pH, teplota, konc. CO₂ a O₂

Lacnejšia a environmentálne prijateľnejšia metóda, avšak pomalšia, s nižšou reakčnou rýchlosťou.



Obr. 1 Schematické znázornenie autotrofného a heterotrofného biolúhovania [1].

Biolúhovanie môže byť realizované týmito prístupmi:

- **BIOSTIMULÁCIA (BA)**- prídavok nutrientov k autochtónnym MO
- **BIOAUGMENTÁCIA (BS)**- prídavok pomnožených špecializovaných MO (autochtónnych/alochtónnych)
- a ich **KOMBINÁCIA (BS+BA)**

Typy biolúhovania:

- **AUTOTROFNÉ** - MO oxidujú Fe a S, čo vedie k solubilizácii (polo)kovov, zníženiu pH a podpore solubilizácie ďalších (polo)kovových zlúčenín
- **HETEROTROFNÉ** - MO produkujú kyseliny, biosurfaktanty a iné metabolity, ktoré solubilizujú ióny (polo)kovov

METODIKA

MEDZIBROD

Objem: 100 ml v 250 ml Erlenmeyerovej banke, 20 g substrátu M4A a M4B, 10 ml bakteriálneho inokula
Experimentálne prístupy (EP):
EP1 - BS: nesterilný substrát + tryptón-sójový bujón (TSB)
EP2 - BS+BA: sterilný substrát + TSB + inokulum kmeňa *Cupriavidus oxalaticus* [2]
EP3 - BS+BA: nesterilný substrát + TSB + inokulum kmeňa *Cupriavidus oxalaticus*
ABK - abiotická kontrola: sterilný substrát + voda
BK - biotická kontrola: nesterilný substrát + voda
Ďalšie stanovenia: množstvo biomasy počas lúhovania, krátkodobý test klíčivosti, izolácia autochtónnych kmeňov

POPROČ

Objem: 100 ml v 250 ml Erlenmeyerovej banke, 1 g nesterilného substrátu POP1-POP4, 10 ml bakteriálneho inokula
Experimentálne prístupy (EP):
BS: substrát + SAB alebo SAB + glukóza (20 g.l⁻¹)
BA+BS: substrát + Sabouraudov bujón (SAB), inokulum kmeňa *Cupriavidus oxalaticus* alebo *Cupriavidus metallidurans* [2]
Ďalšie stanovenia: mikrobiologické parametre (mikrobiálny uhlík, respirácia, zloženie mikroorganizmov), mineralógia

Podmienky kultivácie:

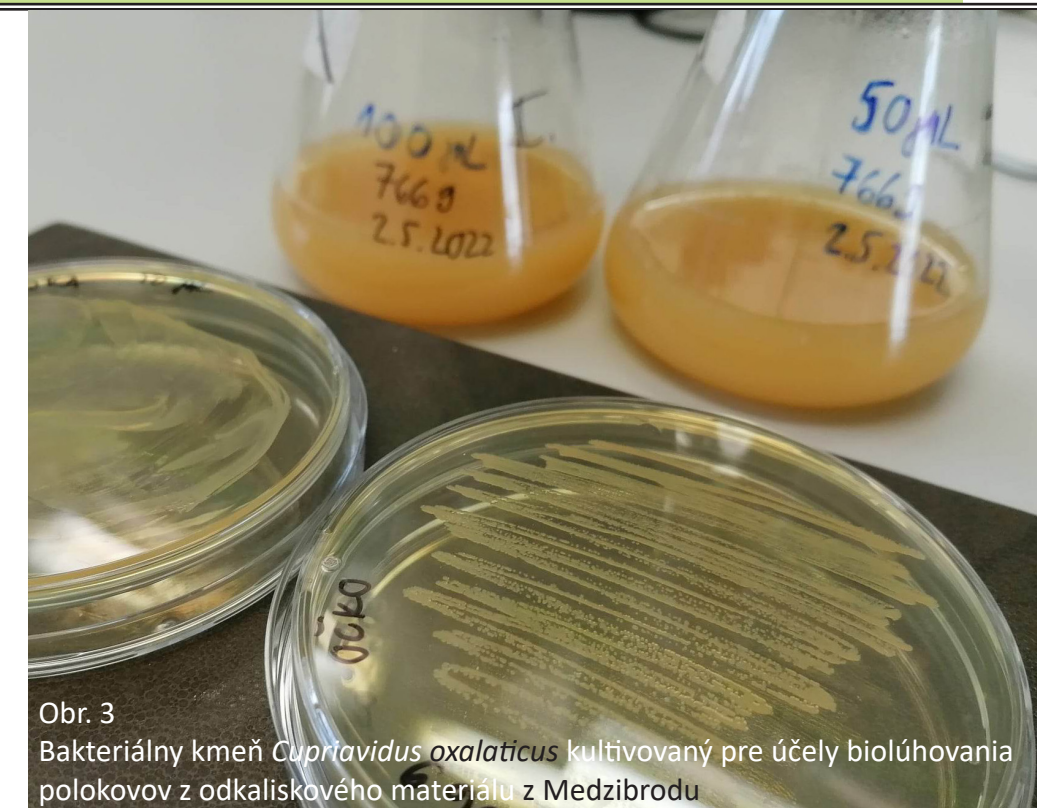
- stacionárne s občasým premiešaním
- 28 dní, 25°C, v tme
- meranie pH, E_h

Analýza polokovov (laboratóriá EL spol. s.r.o., Spišská Nová Ves, SR):

- zo substrátov: ICP-OES
- z výluhu: AAS



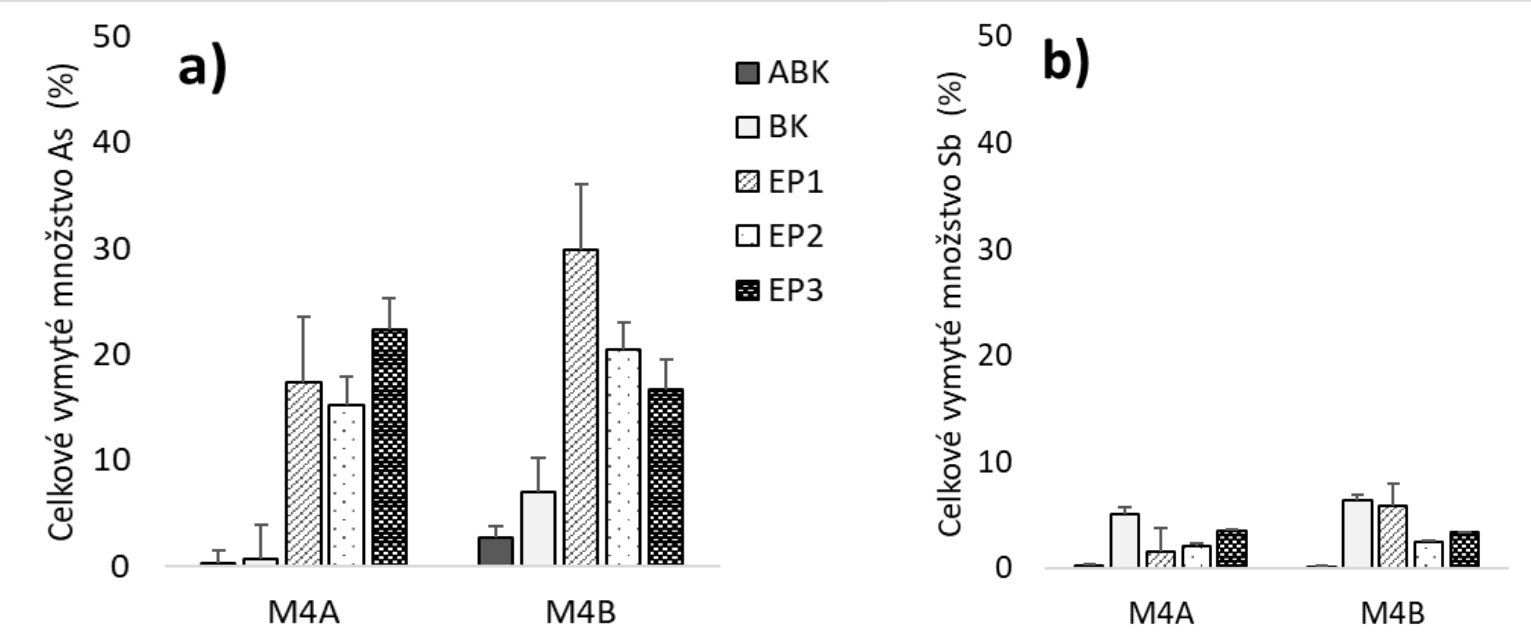
Obr. 2 Priebeh biolúhovania odkaliskového materiálu z Medzibrodu v popredí experimentálne prístupy, v pozadí kontroly.



Obr. 3 Bakteriálny kmeň *Cupriavidus oxalaticus* kultivovaný pre účely biolúhovania polokovov z odkaliskového materiálu z Medzibrodu

MEDZIBROD

Ložisko rúd antimónu a zlata. Ťažba Au prebiehala v 16. - 17. storočí, ťažba Sb v rokoch 1938-1944. V rokoch 1935 - 1950 bola v oblasti prevádzkovaná flotačná úpravňa. Environmentálnou záťažou je najmä bývalé odkalisko v telese, staré haldy a štôlne s výtokom banských vôd.



Obr. 4 Efektívnosť vymývania As (a) a Sb (b) z odkaliskového materiálu z lokalít Medzibrod

Tab. 2 Hodnoty pH, koncentrácia mikroorganizmov a výsledky krátkodobého testu klíčivosti *S. alba* - substráty z lokalít Medzibrod

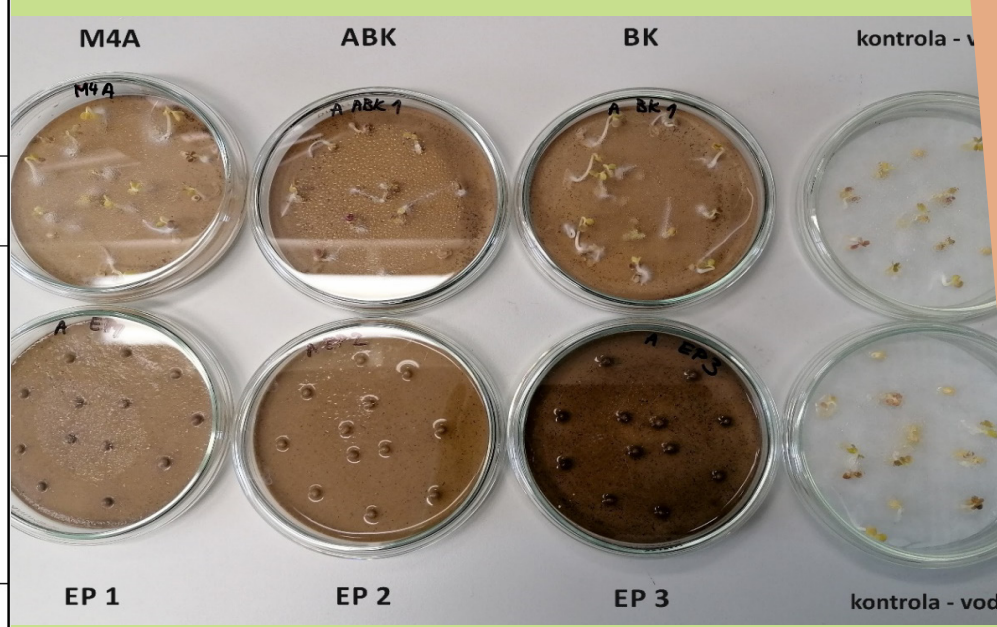
	pH		Koncentrácia mikroorganizmov (·10 ⁴ KTJ.ml ⁻¹)		Inhibícia klíčenia <i>S. alba</i> (%)
	1. deň	28. deň	1. deň	28. deň	
AK	6,51	5,75	1	15	-23,26
BK	6,28	6,3	10	120	-68,42
EP1	7,15	8,76	100 000	12 435 000	100
EP2	7,11	8,79	103 000 000	22 150	100
EP3	7,17	8,86	734 724 675	378 000	100

Izolované bakteriálne kmene: *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Arthrobacter histidinovorans*, *Pseudomonas* sp. (*chlororaphis*)

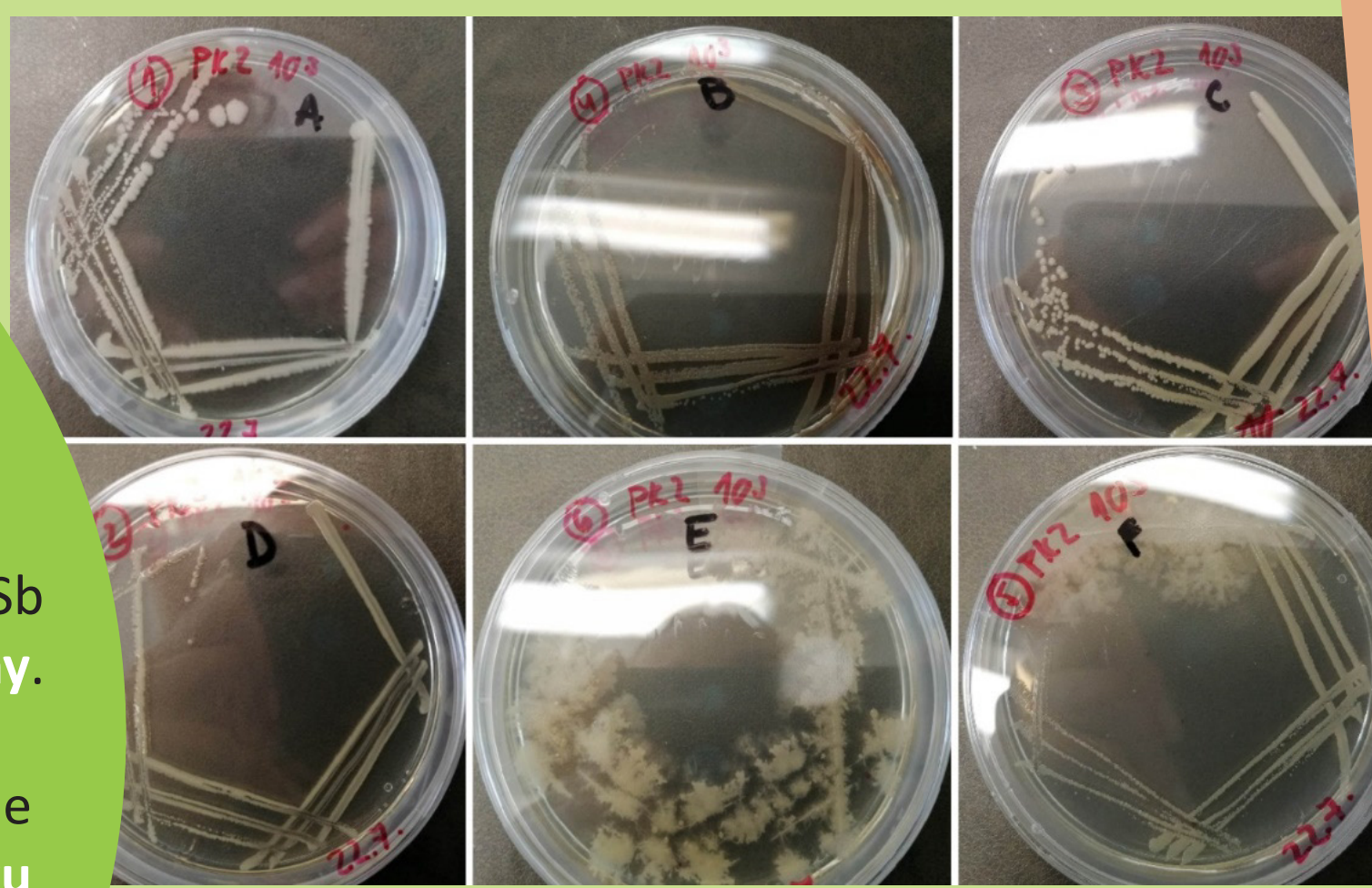
Tab. 1 Počiatočná koncentrácia kontaminantov v substrátoch.

	MEDZIBROD		POPROČ			
	M4A	M4B	POP1	POP2	POP3	POP4
pH	5,53	6,2	4,52	7,45	3,85	6,05
As mg.kg ⁻¹	212,0	375,5	15,3	740	1 463	804
Sb mg.kg ⁻¹	18 649	24 151	1 022	2 200	5 825	2 099

Indikačné (ID) a intervenčné (IT) kritériá v horninovom prostredí v priemyselnej oblasti podľa Smernice MŽP SR č. 1/2015-7: As: 65 a 140 mg.kg⁻¹; a Sb: 25 a 80 mg.kg⁻¹ [3].



Obr. 5 Krátkodobý test klíčivosti *Sinapis alba* realizovaný na substráte po biolúhovaní



Obr. 6 Baktérie izolované z kontaminovaného substrátu (Medzibrod)

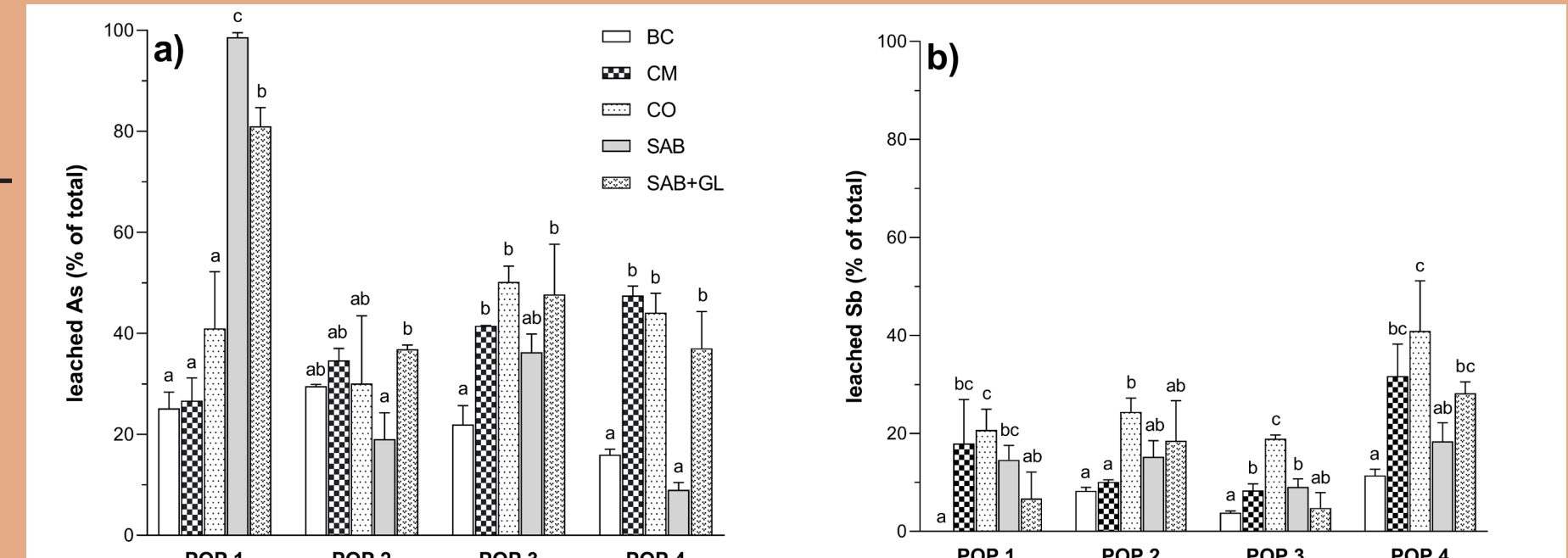
ZÁVER

Napriek nižším účinnostiam lúhovania sa z oboch substrátov podarilo aktiváciou autochtónnych mikroorganizmov a/alebo prídavkom živín a špecializovaných kmeňov vylúhovať značné množstvo As a Sb, čo môže byť okrem dekontaminácie substrátov aj prvým krokom ku znovuzískavaniu kritických surovín. Rozdiel v účinnosti biolúhovania As a Sb indikuje rôzne správanie sa týchto polokovov a ich rozdielnu formu v tuhej fáze, ktorú je potrebné objasniť ďalšími experimentami. Vzhľadom na vysokú efektívnosť biostimulácie autochtónnych mikroorganizmov, izolované baktérie budú využité na optimalizačné experimenty.

- **ARZÉN:** najefektívnejším sa preukázal prístup EP1 (biostimulácia), dosiaha sa v priemere **24% účinnosť lúhovania**.
- **ANTIMÓN:** lúhoval sa v menšej miere, najvyššia dosiahnutá efektívnosť bola **6%**, → vzhľadom na vysoké počiatočné konc. Sb ide o vymytie približne **1 g Sb na kg sušiny**.
- Pri oboch prvkoch sa ako najefektívnejšie preukázali prístupy nevyžadujúce prípravu bakteriálneho inokula, čo je výhodné vzhľadom na potenciálu veľkokapacitnú aplikáciu.
- Biolúhovanie značne zvýšilo toxicitu výluhov, sledovala sa **100% inhibícia klíčenia *S. alba***.

POPROČ

Opustené antimonitové ložisko, na ktorom ťažba začala v 17. storočí a ukončená bola v roku 1965. Súčasťou prevádzky bola flotačná úpravňa rudy. Hlušina, ktorá vznikala počas prevádzky baní sa ukladala do troch odkalísk pozdĺž rieky Olšava. V rokoch 1991 - 1993 bolo z odkalísk nelegálne odťažené množstvo pieskovej hmoty, ktorá sa dostala aj mimo úpravárenský areál. Podrobnejšie výsledky biolúhovania polokovov z banských pôd z lokality Poproč budú súčasťou pripravovanej publikácie [4].

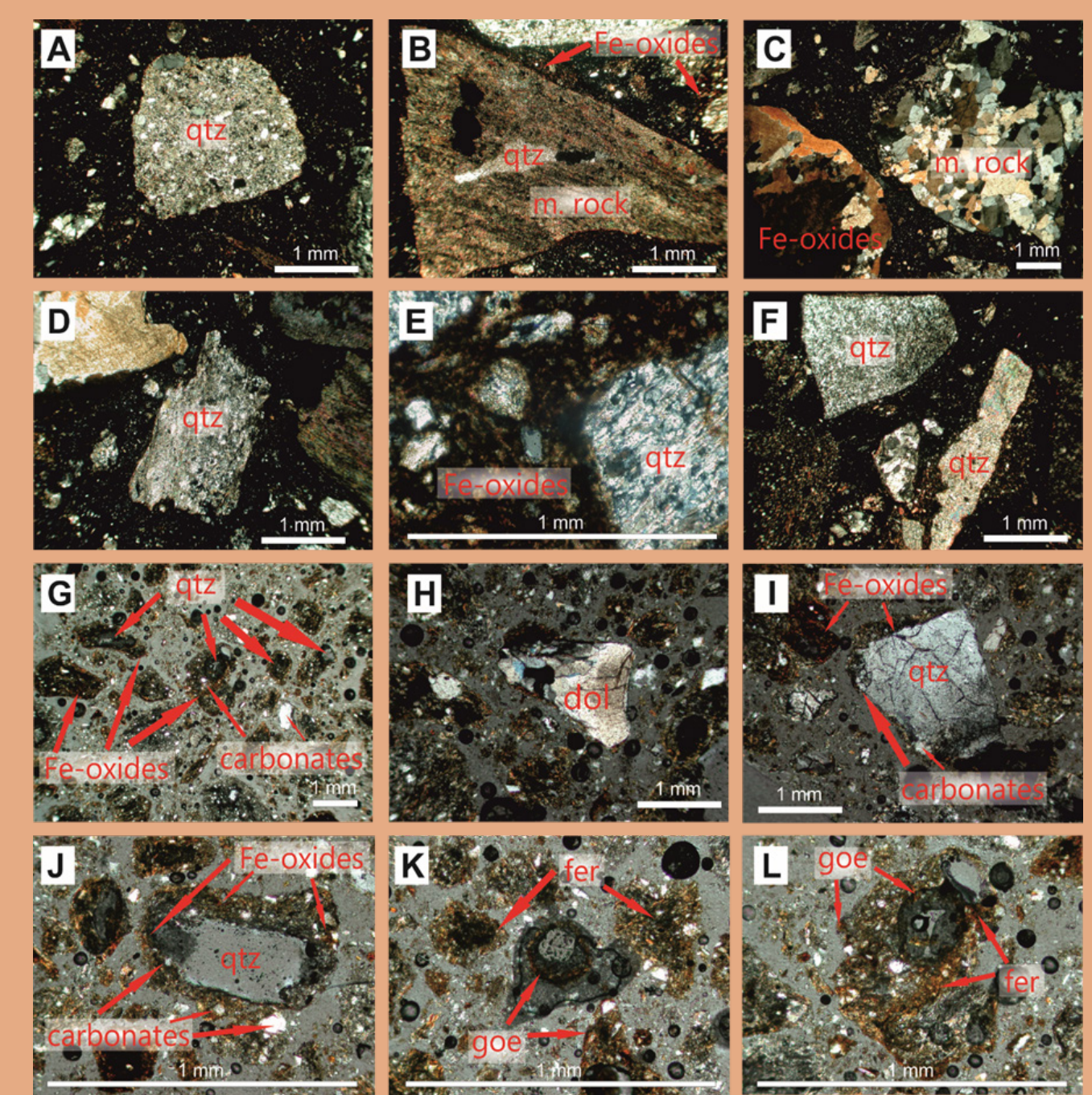


Obr. 7 Efektívnosť vymývania As a Sb z banských pôd z lokality Poproč

Tab. 3 Mikrobiálne parametre banských pôd v Poproči

Parameter	POP1	POP2	POP3
TOC celkový org. uhlík (%)	2,62	0,91	0,10
C _{mic} mikrobiálny uhlík (mg.g ⁻¹)	1,218	1,099	0,654
CO ₂ B bazálna respirácia (mg.g ⁻¹ .h ⁻¹)	0,024	0,020	0,011
CO ₂ P potenciálna (substrátom indukovaná) respirácia (mg.g ⁻¹ .h ⁻¹)	0,094	0,076	0,042
Počet izolovaných baktérií	42	35	31
Počet izolovaných mikroskopických húb	16	9	6

- Spomedzi izolovaných baktérií boli najzastúpenejšie kmene *Firmicutes* (40%), *Actinobacteria* (18,2%), α , β a γ -*Proteobacteria* (38,2%), *Bacteroidetes* (3,64%), v rámci toho rody *Paenibacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Cupriavidus* a *Pseudomonas*.
- Spomedzi mikroskopických húb boli izolované rody týchto kmeňov: *Ascomycota* (68,2%), *Basidiomycota* (9,52%) a *Zygomycota* (23,8%).



Obr. 8 Mikroskopické snímky banských pôd z Poproče

- **ARZÉN:** v priemere najvyššia, **41% efektívnosť lúhovania** sa dosiaha kombináciou biostimulácie a bioaugmentácie kmeňom *Cupriavidus oxalaticus*.
- **ANTIMÓN:** najvyššia dosiahnutá efektívnosť lúhovania bola **26%**, a to kombináciou biostimulácie a bioaugmentácie kmeňom *Cupriavidus oxalaticus*.

- Biologickým prístupom sa z banskej pôdy vymylo priemerne **0,74 g As a 1,10 g Sb na 1 kg sušiny**.

Vysoké konc. As a Sb majú negatívny vplyv na pôdnu mikrobiológiu: čím vyššia koncentrácia As a Sb, tým nižšia mikrobiálna diverzita, nižší podiel mikrobiálneho uhlíka a bazálna respirácia.

[1] NGUYEN T.H., WON S., HA M.-G., NGUYEN D.D., KANG H.Y., 2021. Bioleaching for environmental remediation of toxic metals and metalloids: A review on soils, sediments, and mine tailings. *Chemosphere* 282, 131108. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131108>.

[2] OKUBO T., NAKAJIMA N., YAMAMURA S., HAMAMURA N., 2021. Draft Genome Sequence of *Cupriavidus* sp. Strain IK-TO18, Isolated from Antimony-Contaminated Sediment. *Microbiol Resour Annot* 10(38): e00724-21. <https://doi.org/10.1128/MRA.00724-21>.

[3] Smernica MŽP SR č. 1/2015-7 na vypracovanie analýzy rizika znečisteného územia. <http://www.minzp.sk/files/seksia-geologie-prirodnych-zdrojov>

[4] HORVÁTHOVÁ H., SCHWARZKOPFOVÁ K., VOITKOVÁ H., JURKOVIČ Ľ., FARAGÓ T., BOTUROVÁ K., HILLER E., URÍK M., VÍTKOVÁ M., 2023. Aerobic release of arsenic and antimony from mine soils by biostimulation of indigenous microbial activity and bioaugmentation with *Cupriavidus* genera of bacteria. *Plant & Soil*, under review.