

Bioleaching – metoda extrakce kovů pomocí živých organismů

Petra Doskočilová

Bakalářská práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Petra Doskočilová**
Osobní číslo: **T20510**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Ochrana životního prostředí**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Bioleaching – metoda extrakce kovů pomocí živých organismů**

Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši o možnosti bioleachingu – extrakci kovů pomocí živých organismů.
2. Proveďte kritické srovnání nalezených informací.
3. Formulujte závěry.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

1. RAWLINGS, Douglas E., ed. *Biomining* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1997 [cit. 2021-04-09]. ISBN 978-3-662-06113-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-662-06111-4.
2. BOSECKER, Klaus. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 1997, 20(3-4), 591-604 [cit. 2021-04-09]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.1997.tb00340.x.
3. Vědecké zdroje zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SciFinder Scholar, Medline aj.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Štěpán Vinter, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Oponent bakalářské práce: **doc. RNDr. Jan Růžička, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Jaroslav Filip, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 6. února 2024

Příloha č. 2 – Prohlášení autorky BP

**PROHLÁŠENÍ AUTORKY
BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studentky:

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

Tato práce pojednává o biologické metodě extrakce kovů loužením za pomoci mikroorganismů a shrnuje základní způsoby provedení od minulosti až do dnešní doby se srovnáním laboratorních i provozních výsledků celosvětově. Jsou zde popsány výhody bioloužení oproti konvenční těžbě kovů a chemickému loužení, zejména ve vztahu k životnímu prostředí a udržitelnému hospodaření se zdroji. Část práce se zabývá popisem hojně používaných kovů a jejich získáváním bioloužením z hornin. Velká část obsahu je věnována jednotlivým mikroorganismům, využívaným za tímto účelem, z domén Bakterie, Archaea a Houby. Zde je podrobněji rozebráno využití konkrétních druhů organismů pro loužení vybraných kovů z různých zdrojů. Samostatná kapitola pojednává o *Acidithiobacillus Ferrooxidans*, která je nejvíce a nejdéle využívanou bakterií jak v praxi, tak i ve výzkumu, např. při genovém sekvenování za účelem zvýšení loužících vlastností a také odolnosti bakterií vůči nepříznivému prostředí ve výluhu a tím zvýšení loužitelnosti žádaných kovů. Závěrem jsou zmíněny příklady využití bioloužení v praxi při odstraňování těžkých kovů z vodárenských kalů, elektronického odpadu a použitých baterií. Zajímavá jsou srovnání s bioloužením za použití katalyzátorů, jako jsou Cu^{2+} a Ag^+ , a návrhy řešení problematiky nedostatečné aerace ve vyhnílych kalech za pomoci smíšených kultur.

Klíčová slova: bioloužení, *Acidithiobacillus*, bioloužící mikroorganismy, extrakce kovů, biotěžba.

ABSTRACT

This paper discusses the biological method of metal extraction by leaching with the help of microorganisms and summarizes the basic methods of implementation from the past to the present with a comparison of laboratory and operational results worldwide. The advantages of bioleaching over conventional metal extraction and chemical leaching are described, particularly in relation to the environment and sustainable resource management. Part of the thesis deals with the description of commonly used metals and their extraction by bioleaching from ores. A large part of the content is devoted to individual microorganisms used for this purpose, from the domains Bacteria, Archaea and Fungi. Here, the use of specific species of organisms for leaching selected metals from different sources is discussed in more detail. A separate chapter discusses *Acidithiobacillus ferrooxidans*, which is the most and longest used bacterium in both practice and research, e.g. in gene sequencing to increase

leaching properties and also the bacteria's resistance to adverse environments in leachate, thereby increasing the leachability of the desired metals. Finally, examples of practical applications of bioleaching in the removal of heavy metals from water treatment sludge, electronic waste and used batteries are mentioned. Interesting comparisons with bioleaching using catalysts, such as Cu^{2+} and Ag^+ , and suggestions for solving the problem of insufficient aeration in digested sludge using mixed cultures are presented.

Keywords: bioleaching, *Acidithiobacillus*, bioleaching microorganisms, metal extraction, biomining.

Tímto bych ráda poděkovala *vedoucímu práce Ing. Štěpánovi Vinterovi, PhD.*, za jeho ochotu, čas a přínosné rady poskytované v průběhu vedení této bakalářské práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
I. TEORETICKÁ ČÁST	10
1 BIOLOUŽENÍ – BIOLEACHING	11
1.1 ROZDĚLENÍ.....	11
1.1.1 Autotrofní bioloužení	11
1.1.2 Heterotrofní bioloužení	12
1.1.3 Skládkové bioloužení – dump leaching	13
1.1.4 Haldové bioloužení – heap leaching.....	15
1.1.5 Bioloužení v míchacích nádržích – Stirred tank leaching.....	15
1.2 PARAMETRY	16
1.2.1 pH.....	16
1.2.2 Oxidačně redukční potenciál	17
1.2.3 Velikost částic.....	18
2 BIOLOUŽENÍ KOVŮ Z HORNIN.....	19
2.1 HLINÍK.....	20
2.2 MĚĎ	20
2.3 ZLATO	24
3 MIKROORGANISMY	26
3.1 BAKTERIE	26
3.1.1 Bakterie oxidující železo	26
3.1.2 Bakterie oxidující železo a síru	26
3.1.3 Bakterie oxidující elementární síru a její redukované anorganické sloučeniny	27
3.2 ARCHAEA	27
3.3 HOUBY.....	28
4 ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS.....	30
4.1 ŽIVNÁ MÉDIA	31
4.2 METABOLISMUS AT. FERROOXIDANS	32
4.2.1 Sestupná elektronová dráha	32
4.2.2 Vzestupná elektronová dráha	32
5 VYUŽITÍ BIOLOUŽENÍ V PRAXI.....	34
5.1 BIOLOUŽENÍ ELEKTRONICKÉHO ODPADU	34
5.2 BIOLOUŽENÍ VODÁRENSKÝCH KALŮ	34
5.3 BIOLOUŽENÍ POUŽITÝCH BATERIÍ	36
ZÁVĚR.....	38
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	40
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	48
SEZNAM OBRÁZKŮ	50
SEZNAM TABULEK	51

ÚVOD

Kovy jsou získávány primárně těžbou z hornin. Konvenční způsoby zahrnující louhování chemickými činidly a vyčerpávání přírodních zdrojů nejsou šetrné k životnímu prostředí a neodpovídají udržitelné ekonomice, ke které se lidstvo snaží směřovat. Trendem posledních desítek let je proto hledání a rozšiřování alternativních způsobů jejich získávání a to, jak z primárních zdrojů, tak i z různých odpadních materiálů.

Kromě omezené dostupnosti přírodních zdrojů je významným aspektem také toxicita kovů. Veškeré odpadní materiály s obsahem kovů, například použité baterie nebo vyřazená elektronika, jsou potenciálním zdrojem znečištění životního prostředí s výrazně negativními následky pro zdraví člověka a celkovou kvalitu biosféry. Kovy jsou schopny se kovalentně vázat na organické sloučeniny, tvořit lipofilní ionty a bioakumulací se dostávat až do potravního řetězce člověka. Recyklace kovů umožňuje jejich kontrolovanou cirkulaci opětovným využitím za současného zabránění jejich pronikání do půd a vod, které hrozí při skládkování. Velký potenciál mezi alternativními metodami získávání kovů nabízí biologické loužení, tedy způsob jejich získávání za pomoci činnosti mikroorganismů. Touto cestou lze kovy získávat z hornin i odpadních materiálů. Mnoho studií navíc prokázalo ekonomický i ekologický přínos této metody.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOLOUŽENÍ – BIOLEACHING

Bioloužení je metoda extrakce kovů z hornin, říčních či mořských sedimentů, odpadů a vodárenských kalů za pomoci mikroorganismů. Jde o přirozený proces samovolně probíhající v místech s minerály bohatými na kovy. Na empirické úrovni byl lidmi využíván již od starověku. Nicméně první mikroorganismy zodpovědné za bioloužení byly objeveny až na počátku 20. století. Jedny z nejvýznamnějších bioloužících bakterií – *Acidithiobacillus ferrooxidans* a *At. thiooxidans*, byly izolovány v r. 1947 (Bosecker, 1997). Jejich objev vedl ke vzniku biohydrometalurgie zahrnující mimo jiné bioloužení.

Výzkum na tomto poli pokračuje do dnešního dne, kdy nabývá na významu coby ekologický a zároveň udržitelný proces, který může být za určitých podmínek vhodnější metodou získávání kovů ve srovnání s konvenčními způsoby těžby. Ze stejných důvodů je stále využívanějším způsobem odstraňování těžkých kovů z pevných odpadů anebo vodárenských kalů, které mohou být poté dále využity v zemědělství bez rizika znečištění půdy a spodních vod těžkými kovy.

1.1 Rozdělení

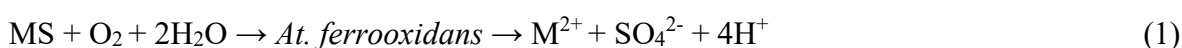
Z hlediska metabolismu loužícího organismu lze bioloužení dělit na autotrofní a heterotrofní (Nguyen et al., 2021).

1.1.1 Autotrofní bioloužení

Při autotrofním bioloužení se uplatňují autotrofní mikroorganismy z domén Bakteria a Archaea. Tyto organismy získávají energii ke svému růstu oxidací železa a/nebo síry. Chemie procesů a příklady jednotlivých mikroorganismů jsou popsány v kapitolách 3.1 a 3.2. Autotrofní bioloužení může probíhat přímo – kontaktní bioloužení, anebo nepřímo – bezkontaktní bioloužení, přičemž oba procesy mohou probíhat současně (Yang et al., 2020).

Kontaktní

Při kontaktním bioloužení jsou mikroorganismy v přímém kontaktu s povrchem sulfidu kovu prostřednictvím extracelulárního polymeru, jež vylučují. Pomocí intracelulárního oxidázového systému oxidují sulfid kovu za vzniku síranu a současného uvolnění kationtu cílového kovu. Při reakcích dochází ke snižování pH výluhu a zvýšení redukčního potenciálu (Yang et al., 2020).

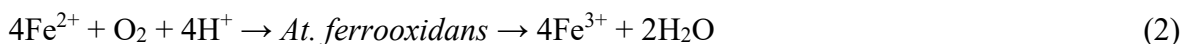


1 – sulfid kovu (MS) oxidovaný bakterií za vzniku kationtu kovu (M^{2+}), kationtu vodíku (H^+) a síranu (SO_4^{2-}) (Gu a Wong, 2007)

Bezkontaktní

Při nepřímém bioloužení dochází k rozpouštění kovových sloučenin pomocí metabolitů produkovaných mikroorganismy (Fe^{3+} , H_2SO_4) dle rovnic 2-5. Ionty železa přítomné ve výluhu jsou oxidovány z Fe^{2+} na Fe^{3+} (2). Tyto ionty dále oxidují kovové sulfidy (4). Dochází k uvolnění kationtu cílového kovu (M^{2+}) a vzniku železnatého iontu a elementární síry, které mohou být znovu metabolizovány dle reakce 2 a 3. Za přítomnosti elementární síry ve výluhu vzniká metabolickou činností mikroorganismů kyselina sírová (3), která z rozpouštěného materiálu uvolňuje kov za vzniku síranu daného kovu (5). Ve výluhu dochází ke snížení pH a zvýšení redukčního potenciálu (Yang et al., 2020).

Vznik metabolitů:



2 – železnatý iont (Fe^{2+}) oxidovaný bakterií za vzniku železnatého iontu (Fe^{3+}) a vody (H_2O)

3 – elementární síra (S^0) oxidovaná bakterií za vzniku kyseliny sírové (H_2SO_4) (Gu a Wong, 2007)

Chemická mobilizace kovů prostřednictvím metabolitů:



4 – sulfid kovu (MS) oxidovaný železnatým iontem (Fe^{3+}) za vzniku železnatého iontu (Fe^{2+}), kationtu kovu (M^{2+}) a elementární síry (S^0)

5 – uvolnění kovu (M) z materiálu při reakci s kyselinou sírovou (H_2SO_4) za vzniku síranu kovu (MSO_4) (Gu a Wong, 2007)

1.1.2 Heterotrofní bioloužení

Heterotrofní bioloužení probíhá díky činnosti heterotrofních bakterií, archaeí, hub a kvasinek. Tyto organismy využívají jako zdroj energie organické látky (sacharidy atd.), které oxidují. Ve své růstové fázi vylučují organické kyseliny, jako např. kyselinu citronovou,

mléčnou, glukonovou, šťavelovou a také siderofory – nízkomolekulární sloučeniny chelatu-
jící železo. Tyto metabolity jsou schopny uvolňovat kovy z pevných matic za vzniku
rozpuštěných kovových komplexů a chelátových iontů a zároveň udržují kyselé prostředí pod-
porující rozpouštění kovů (Dusengemungu et al., 2021). Mezi nejběžněji využívané
heterotrofní organismy patří *Aspergillus niger* a *Penicillium simplicissimum*, které při svém
metabolismu vylučují velké množství organických kyselin a sideroforů (Sarkodie et al.,
2022).

Heterotrofové bývají upřednostňováni při bioloužení kalů a říčních/mořských sedimentů
kontaminovaných těžkými kovy. Organická hmota, tvořící vysoký podíl celkového složení
těchto materiálů, jim slouží jako zdroj energie, narozdíl od autotrofů, jejichž činnost naopak
inhibuje. Toho lze využít při bioloužení smíšenými kulturami, kde heterotrofní mikroorga-
nismy eliminují organickou hmotu svým metabolismem a tím umožňují růst a aktivitu
autotrofním mikroorganismům. Zhu et al. ve své studii použil smíšenou mikrobiální kulturu,
složenou z autotrofních acidofilů *At. ferrooxidans* a *At. thiooxidans* a heterotrofního neutro-
filu *A. niger*, při bioloužení těžkých kovů z kontaminovaného sedimentu řeky Xiangjiang
v Číně. Po 48 dnech bylo vylouženo vysoké množství větší části sledovaných prvků, Zn
95,2 %, Mn 94,2 %, Cu 90,1 % a Cd 84,4 %, s výrazně menší rozpustností pro As 26,0 %, Hg
15,9 % a Pb 19,9 %. Zhu vysvětluje nízkou výtěžnost olova tvorbou $PbSO_4$, sloučeniny
o nízké rozpustnosti ($K_{SP}=1,62 \cdot 10^{-8}$), ze vznikajících rozpustných forem Pb (ZHU et al.,
2014). Heterotrofní bakterie a houby mohou být využity také při odstraňování nečistot, v po-
době oxidů železa, z nerostných surovin jako je křemen nebo kaolín (Bosecker, 1997).

Bioloužení se dále dělí dle způsobu těžby na skládkové, haldové a bioloužení v reaktorech
(Nguyen et al., 2021).

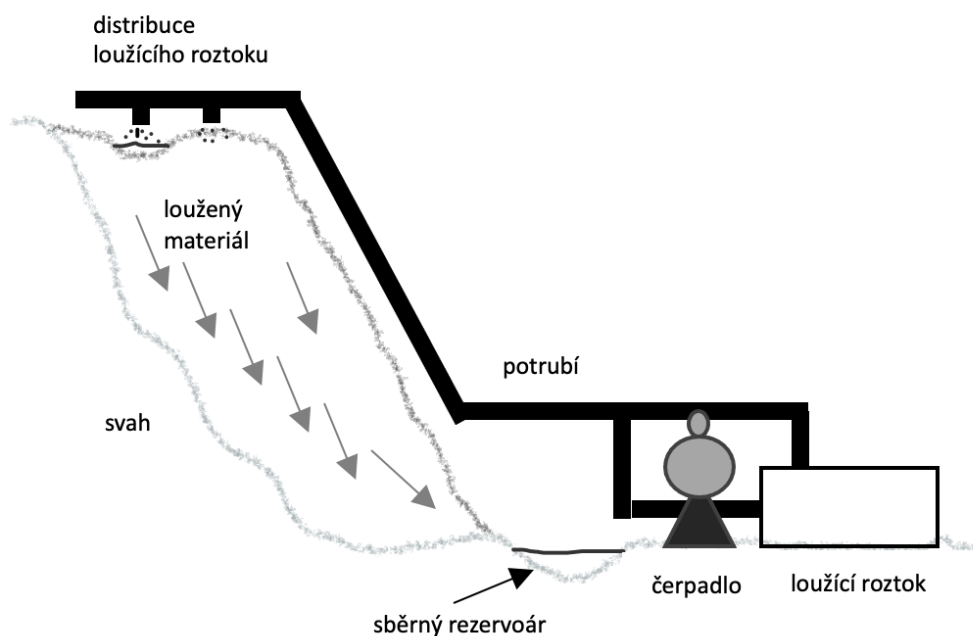
1.1.3 Skládkové bioloužení – dump leaching

Tato metoda je prvním moderním způsobem bioloužení kovů z hornin využívaná např. při
získávání mědi. Z těžebních hornin se vytvoří hromady vysoké až 100 m, které se zavlaží
roztokem kyseliny sírové. Přirozeně se vyskytující acidofilní prokaryota jsou tím stimulo-
vána k degradaci přítomného sulfidu mědi. Vzniklý výluh je směřován do kádí odkud se
měď extrahuje cementací. První takto fungující systém zbudoval v roce 1958 Kennecott
Copper Corpomine v Bingham Canyon dolu (**Obr. 1**) v Utahu, USA (Yin et al., 2018).
Krátce na to vznikl další v Chino dolu v Novém Mexiku, USA.



Obr. 1 Bingham Canyon důl (Doc Searls, 2016)

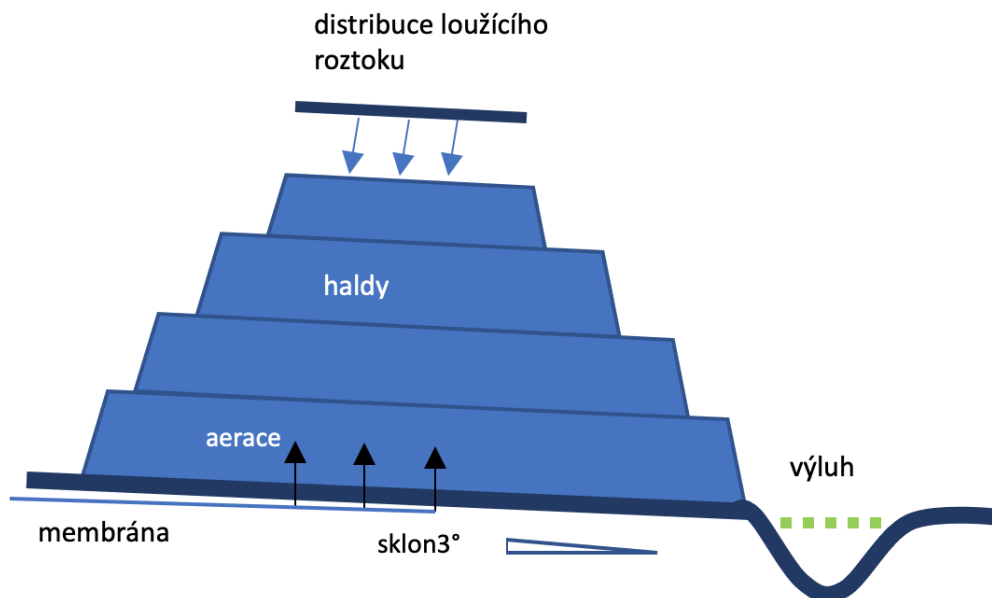
Skládkové loužení (**Obr. 2**) je technologicky poměrně nenáročnou metodou s minimálním zásahem do mikrobiologie procesu. Těžba je relativně pomalá a na jednotlivých skládkách může probíhat až desítky let. Přesto je do dnešního dne převažujícím způsobem těžby mědi (Johnson et al., 2023).



Obr. 2 Skládkové bioloužení (Abhilash a Pandey, B. D., 2013)

1.1.4 Haldové bioloužení – heap leaching

Haldové loužení (**Obr. 3**) vychází z loužení na skládkách, nicméně technologicky je propracovanější a vyžaduje větší investice do založení procesu. Těžební materiál je nejprve upraven drcením a poté navrstven mezi nepropustnými plastovými membránami. Celý systém je vybaven potrubím k odvodu výluhu a také aerací k zajištění dostatečného přísunu kyslíku a oxidu uhličitého a je zavlažován roztokem kyseliny sírové. Přítomná mikroflóra se často obohacuje inokulací vhodných druhů mikroorganismů. Haldové loužení bylo poprvé uplatněno v praxi v Chile a v Austrálii v 70. letech minulého století a je dodnes využíváno při těžbě mědi a zlata. Těžba probíhá po dobu 1 až 2 let. Je tedy časově efektivnější ve srovnání s bioloužením skládkovým (Johnson et al., 2023).

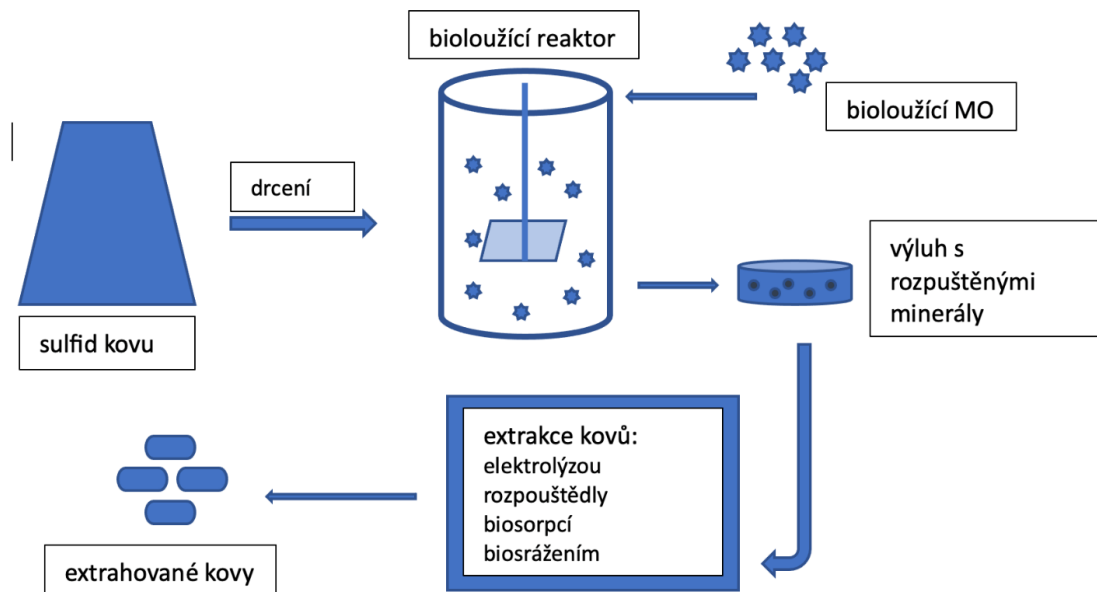


Obr. 3 Haldové bioloužení (Manuel Saldaña et al., 2023)

1.1.5 Bioloužení v míchacích nádržích – Stirred tank leaching

Tato metoda spočívá v bioloužení v objemných nádržích z nerezové oceli vybavených potrubím pro přívod a odvod výluhu a aeraci (**Obr. 4**). Přivedený výluh obsahuje horninu v jemně namleté formě a mikrofloru zodpovědnou za proces extrakce kovů v ní obsažené. Průběžná agitace (~150 ot/min) zajišťuje udržování pevných částí ve vznosu. V zařízení dochází ke zvýšení teploty v důsledku intenzivní oxidace, proto je součástí nádrže také chladicí systém pro udržování optimální teploty (~30 °C). Pomocí čidel lze také sledovat a následně regulovat pH (~2,0) přidáváním činidel. Celý proces je v těchto podmínkách urychlen na 3

až 6 dní. Tato metoda byla poprvé uvedena do provozu v 80. letech minulého století v Jižní Africe. Její výhodou je možnost sledovat a ovlivňovat vlastnosti výluhu během procesu a tím zvyšovat efektivitu loužení (Johnson et al., 2023).



Obr. 4 Bioloužení v reaktoru (Wasim Sajjad et al., 2019)

1.2 Parametry

Podstatou bioloužení je přirozená schopnost některých mikroorganismů přeměňovat nerozpustné sloučeniny kovů do rozpustné, extrahovatelné formy. Kinetiku tohoto procesu lze ovlivnit optimalizací několika klíčových parametrů, které mají zásadní vliv na jeho výslednou efektivitu. Mezi tyto patří pH výluhu, velikost částic louženého materiálu a jeho koncentrace v kapalném médiu (Rouchalova et al., 2020), oxidačně redukční potenciál (ORP) a teplota (Kamizela a Worwag, 2020). Při praktickém využití je třeba zohlednit, že bioloužení je dynamický proces a jednotlivé podmínky mohou mít odlišná optima dle druhu louženého materiálu i použitého mikrobiálního společenstva.

1.2.1 pH

K bioloužení kovů dochází všeobecně v kyselém prostředí za účasti acidofilních (méně běžně neutrofilních) mikroorganismů. Při laboratorních podmínkách se počáteční pH výluhu v průběhu experimentu dále snižuje v důsledku tvorby kyselých metabolitů, jako je kyselina

sírová nebo organické kyseliny u autotrofních, resp. heterotrofních mikroorganismů. Klesající pH zvyšuje aktivitu loužících organismů, ale také pozitivně ovlivňuje rozpustnost kovů a stabilitu kovových iontů ve výluhu (Kamizela a Worwag, 2020, Li et al., 2018).

Stanovení a aplikace jeho optimální hodnoty pro daný bioloužící systém jsou tedy nezbytné pro dosažení co nejvyšší efektivity extrakce kovů. Vzájemnou závislost mezi pH a procentuálním množstvím extrahovaných kovů lze pozorovat ve studiích zaměřených na optimalizaci kinetiky, např. Li et al. u bioloužení těžkých kovů z odpadního kalu za pomoci *Acidithiobacillus ferrooxidans* a *At. thiooxidans* naměřil při počátečním pH ~7 pokles až k hodnotám ~2 ve 12-ti dnech za současného zvyšování procentuální hodnoty loužených kovů (Cu, Ni, Cr, Zn) (Li et al., 2018).

Sestupný charakter hodnoty pH při bioloužení je patrný i ve studii Kamizela a Worwag, kde byly sledovány změny v pH při loužení vodárenského kalu s *Acidithiobacillus thiooxidans* ve dnech 3, 6, 9 a 12. Pro experiment byly sestaveny čtyři srovnávací skupiny s různým přídatkem elementární síry, z nichž tři měly počáteční pH upraveno na hodnotu 2, čtvrtá skupina vstupovala do experimentu bez úpravy pH. Zatímco u vzorku bez úpravy pH bylo 3. den pH >5, od 6. dne již bylo srovnatelné s ostatními skupinami až po konečnou hodnotu <2 po 12-ti dnech (Kamizela a Worwag, 2020).

U heterotrofních hub může bioloužení probíhat při relativně vyšších hodnotách pH. Studie Qayyum et al. zkoumala závislost efektivity extrakce kovů na pH výluhu s *Aspergillus flavus*. Při bioloužení sedimentu kontaminovaného Pb, Cd a Zn, při čtyřech různých hodnotách pH - 5,00, 5,71, 7,00 a 9,00, bylo pro všechny 3 zmíněné prvky dosaženo největší efektivity při pH 5,71 a 7,00 (Qayyum et al., 2019).

1.2.2 Oxidačně redukční potenciál

Oxidačně redukční potenciál (ORP), charakterizující redukční a oxidační kapacitu systému, je dominantním faktorem úspěšnosti chemického i biologického loužení kovů, a jako takový je předmětem mnoha studií (Zhao et al., 2015, Kamizela a Worwag, 2020, Li et al.). Díky množství oxidačně-redukčních reakcí, které při bioloužení probíhají, má ORP výluhu vzrůstající tendenci. Běžné hodnoty po několika dnech loužení jsou >600 mV. K nárůstu ORP přispívá zejména cyklická přeměna iontů železa, kde dochází k redukci Fe^{3+} na Fe^{2+} při oxidaci sulfidu kovu a opětovné oxidaci Fe^{2+} na Fe^{3+} činností mikroorganismů (Li et al.). Ačkoli je vyšší ORP výhodné pro uvolňování kovů a tím zvyšování výtěžnosti procesu, nemusí být žádoucí u všech loužených materiálů a zúčastněných mikroorganismů bez rozdílu.

Např. u bioloužení chalkopyritu při vysokém ORP dochází k tvorbě tzv. pasivních vrstev, vysrážených hydroxidů železa na povrchu minerálu, které zpomalují uvolňování mědi. Ahmadi et al. ve své studii kontrolovaného elektrochemického bioloužení navrhuje udržovat ORP 400-425 mV, kdy je tvorba pasivních vrstev značně snížena s pozitivním dopadem na celkové množství vyloužené mědi (Ahmadi et al., 2010).

Jako řešení pro bioloužení mimo kontrolované prostředí bioreaktoru se nabízí využití slabších oxidantů železa, např. *Sulfobacillus thermosulfioxidans*, jejichž činnost může udržovat ORP přibližně v optimálních hodnotách (Christel et al., 2018).

1.2.3 Velikost částic

Velikost částic nadrceného materiálu je předmětem mnoha studií, například u bioloužení Cu, Pb, Zn a Fe z kalového těžebního sedimentu za pomoci *Acidithiobacillus ferrooxidans* se nejlépe osvědčilo rozmezí 71–100 μm (Rouchalova et al., 2020), zatímco u sulfidového koncentrátu složeného z pyritu, pyrhotinu a křemene s <1%-ním obsahem Co, Ni, Zn a Cu bylo dosaženo nejvyšší vyluhovatelnosti při 19 μm za použití *Marinobacter sp.*, *Acidithiobacillus sp.*, *Leptospirillum sp.*, *Cuniculiplasma sp.*, *Nitrosotenus sp.* a *Ferroplasma sp.* (Mäkinen et al., 2021). Výsledky těchto a dalších studií naznačují, že ačkoli je závislost mezi velikostí částic materiálu a efektivitou bioloužení významným činitelem, nelze ji, alespoň prozatím, univerzálně definovat.

2 BIOLOUŽENÍ KOVŮ Z HORNIN

V posledních desetiletích celosvětově vzrostla spotřeba kovů v různých průmyslových odvětvích (Tab. 1). V souvislosti s tím vzniklo množství vytěžených dolů, které však stále obsahují určité množství těženého kovu. Tyto nízké koncentrace již nelze ekonomicky získávat konvenční těžbou. Nicméně, jak mnoho studií i praktických provozů demonstrovalo, jsou tyto doly vhodné k biotěžbě kovů loužením. Mikroorganismy jsou schopné kovy uvolňovat z jejich rud do rozpustných forem a získávat tak cenné suroviny i z míst s nízkými koncentracemi cílových kovů, která by jinak zůstala nevyužita. Další výhodou je, že aplikujeme-li bioloužení na těžební hlušinu, zanechanou v dole po konvenční těžbě, zbavíme ji do značné míry (dle účinnosti konkrétního procesu) zbytkových kovů. Nejenže tak získáme kov jako materiál k výrobě (ekonomický přínos), ale také kov odstraníme z hlušiny ponechané v dole a zabráníme tak jeho migraci půdou a vodou a následné kontaminaci okolí (ekologický přínos) (Nguyen et al., 2021).

Tab. 1 Celosvětová těžba v roce 2019 (Brown et al., 2021)

Kov	Těžba [tun]	% z celku
Hliník	62 900 000	30
Mangan	56 600 000	27
Chrom	38 600 000	19
Měď	20 700 000	10
Zinek	12 300 000	6
Titan	6 300 000	3
Olovo	4 700 000	2
Nikl	2 702 000	1
Zirkon	1 337 000	1
Hořčík	1 059 736	1
Celkem	207 198 736	100

2.1 Hliník

Hliník je jedním z nejpoužívanějších kovů ve výrobním průmyslu. Materiály z hliníku jsou lehké v porovnání s jinými kovy a v případě slitin zároveň pevné a odolné. Je to výborný vodič, proto se ve velké míře využívá i v elektrotechnice. V přírodě je hliník nejzastoupenějším prvkem v zemské kůře a vyskytuje se převážně ve formě oxidů a hydroxidů v rudách bauxitu. Z této rudy se těží přes 95 % celosvětově vyprodukovaného hliníku. Velká část je pak extrahována metodou známou jako Bayerův proces. Nevýhodou této technologie je odpad, který při procesu vzniká – hliníkárenský kal silně žíravé povahy, dále vysoká energetická náročnost a provozní náklady. Snahou řady studií je poukázat na bioloužení jako možnou ekologickou alternativu získávání hliníku z rud a získat co nejlepší představu o ideální optimalizaci procesu tak, aby byly splněny i nároky ekonomické výhodnosti. Pro bioloužení hliníku jsou zkoumány různé mikroorganismy. *Aspergillus niger* vykazuje vysoký potenciál, kdy v laboratorních podmínkách dosáhl ve 4 dnech rozpuštění 91,2 % hliníku z výluhu s 1%-ním obsahem bauxitu (Shah et al., 2020). Další heterotrofní houba *Penicillium simplicissimum* byla použita v navazující studii s 86,6 % vylouženého hliníku v 5 dnech (Shah et al., 2022). Poměrně slabších výsledků bylo dosaženo při bioloužení bakteriemi *Acidithiobacillus ferrooxidans* (79,02 %) a *Pseudomonas fluorescens* (39,60 %) (Shaikh, Ahmed a Ahmed, 2018).

2.2 Měď

Měď je, coby výborný vodič elektrického proudu, významným prvkem v elektrotechnickém průmyslu. Používá se k výrobě drátů, cívek, fotoelektrických článků atd. Díky své odolnosti vůči korozi nachází uplatnění také ve stavebnictví (potrubí, střešní krytiny, okapy). Významné jsou i její slitiny, např. bronz (Šárochová, 2014).

V horninách se měď vyskytuje převážně ve formě chalkocitu (CuS_2) (**Obr. 5**), chalkopyritu (CuFeS_2), kovelínu (CuS) a enargitu (Cu_3AsS_4), ze kterých se získává hydrometalurgickými a pyrometalurgickými procesy, zahrnujícími chemické loužení a tavení. Tyto metody jsou charakteristické vysokou energetickou náročností a negativním dopadem na životní prostředí. Při tavení měděných sulfidů, jako je enargit (Cu_3AsS_4) a tenantit ($\text{Cu}_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}$), navíc hrozí uvolňování těkavých sloučenin (As_2O_3 , As_4O_6), které jsou nebezpečné pro lidské zdraví (Díaz, Serrano a Leiva, 2018).

Další problémy souvisí s postupným vyčerpáváním přírodních zdrojů v důsledku vysoké celosvětové spotřeby (23,5 milionů tun v r. 2020, Consumption volume of copper worldwide, 2021).

Původně těžené oxidy mědi s obsahem až 5 % jsou již značně vytěžené a zbývající sulfidy mědi obsahují pouze <1 % tohoto kovu (Gentina a Acevedo, 2016). Pro takto nízké koncentrace je konvenční těžba mnohdy nevýhodná až neaplikovatelná (Zhao et al., 2015, Jiang, 2019).

Bioloužení se nabízí jako alternativa šetrnější k životnímu prostředí a vhodná i pro nízkoobsahové rudy. V dnešní době je bioloužením získáváno zhruba 20–25 % celosvětové produkce mědi (Pathak, Morrison a Healy, 2017) (**Tab. 2**). Velká část přitom pochází z Chile, kde bylo haldové bioloužení mědi zavedeno v roce 1975 v dole Lo Aguirre. Vědecká práce chilských univerzit na tomto poli v posledních 35 letech a projekty se zahraničními vědeckými skupinami významně přispěli k úspěšnému zavedení bioloužících procesů do praktických provozů. Za zmínku stojí projekt BioSigma, chilské společnosti Codelco a japonské JX Nippon Mining and Metals, jehož cílem bylo vyvíjet a komercializovat inovativní biotechnologická řešení pro udržitelnou těžbu mědi. Během svého fungování v letech 2002–2017 významně přispěl k vědeckému pokroku v oblasti bioloužení. Sekvenování genomů izolovaných mikroorganismů pomocí špičkových technologií umožnilo sestavení databáze genů, proteinů a metabolitů podílejících se na procesu bioloužení sulfidů mědi a vylepšilo chápání pozitivního významu vybraných živin a negativního dopadu přítomných toxických sloučenin (Johnson et al., 2023).

Tab. 2 Významné lokality těžby mědi s využitím loužení na haldě (Majumdar, Morris a Wadsley, 2016)

Lokalita, loužení na haldě	Typ rudy	Měď [tun/rok]
Cerro Colorado, Chile, 1993	Chalkocit, kovelín	130 000
Escondida, Chile, 2006 (Obr. 6)	Oxidy/sulfidy	750 000
Lince II, Chile, 1991–2009	Oxidy/sulfidy	27 000
Lomas Bayas, Chile, 1998	Oxidy/sulfidy	60 000
Los Bronces, Chile, 2006	Sulfidy	46 400
Quebrada Blanca, Chile, 1994	Chalkocit	82 000

Lokalita, loužení na haldě	Typ rudy	Měď [tun/rok]
Spence, Chile 2007	Sulfidy, oxidy	20 000
Zaldivar, Chile, 1998	Chalkocit	150 000
Mount Gordon Australia 1991–2008	Chalkocit, bornit	33 000
Whim Creek a Mons Cupri, Australia, 2006	Oxidy, sulfidy	17 000
Monywa, Myanmar, 1998	Chalkocit	40 000
Cerro Verde, Peru 1997	Oxidy/sulfidy	54 200
Lisbon Valley, Utah, 2006	Chalkocit, oxidy	27 000
Morenci, Arizona, 2001 (Obr. 7)	Chalkocit, pyrit	380 000
Skouriotissa Copper Mines, Cyprus, 1996	Oxidy/sulfidy	8 000
Jinchuan Copper, China, 2006–2009	Chalkocit, enargit, kovelín	10 000



Obr. 5 Chalkocit (Rob Lavinsky, 2010)



Obr. 6 Enscondida důl, Chile (Bachelot Pierre J-P, 2005)



Obr. 7 Morenci důl, Arizona (Philcomanforterie, 2022)



Obr. 8 Pyrit (Jonathan Zander, 2007)

2.3 Zlato

Zlato je známé svou oblibou ve šperkařství, ale díky své odolnosti vůči korozi a mnoha dalším chemickým reakcím je také ideálním materiálem pro použití v elektrotechnickém průmyslu, např. pro elektrické konektory v integrovaných obvodech nebo k povrchové úpravě desek s plošnými spoji. Roční celosvětová poptávka zlata se v posledním desetiletí drží nad 4 000 t/rok (Gold demand worldwide from 2010 to 2022, 2023). Vedoucími zeměmi v těžbě zlata jsou Čína, Austrálie, Rusko, USA, Kanada, Indonésie, Peru, Jižní Afrika, Mexiko a Ghana (Gold Production by Country, 2023).

Zlato se v přírodě vyskytuje ve formě drobných částíček uzavřených v minerálech jako je pyrit (FeS_2) (**Obr. 8**), arsenopyrit (FeAsS), kvarcit a jeho směsi se sulfidy železa. Při konvenčních metodách těžby se zlato získává pomocí kyanidů. Jejich vysoká toxicita však představuje řadu překážek, jako je bezpečnost pracovníků, kteří s těmito látkami přichází do styku nebo možný únik do prostředí s následkem ekologické katastrofy. Další výzvou je pak likvidace velkého množství kyanidy nasáklé hlušiny. Konvenční metody také nejsou ekonomicky výhodné ani dostatečně efektivní k těžbě z hornin s nízkým obsahem zlata. Pro optimální výsledky lze přistoupit ke kombinaci konvenční těžby s bioloužením. Při tomto postupu je nadrcená hornina předloužena mikroorganismy k uvolnění zlata ze sulfidu kovu

a poté ošetřena kyanidací (Abbruzzese et al., 1994). Při samotném bioloužení zlata lze využít heterotrofní bakterie oxidující jodid. *Pseudomonas iodooxidans* je schopná oxidace I^- na I_2 v reakci, při které peroxid funguje jako příjemce elektronu (Kudpeng et al., 2020):



Roseovarius oxiduje I^- na I_2 v reakci, kde jako elektronový příjemce vystupuje molekula kyslíku (Kudpeng et al., 2020):



V následující reakci dochází k tvorbě trijodidu (Kudpeng et al., 2020):



který dále rozpouští zlato (Kudpeng et al., 2020):



3 MIKROORGANISMY

Mikroorganismy schopné loužení kovů zahrnují širokou škálu acidofilních/neutrofilních, autotrofních/heterotrofních bakterií, archaeí a heterotrofních hub.

3.1 Bakterie

Bioloužící mikroorganismy z domény Bacteria rostou při teplotách 5-55°C. Většina druhů využívaných při bioloužení oxidují železo a/nebo síru. Existují však i druhy, které ke svému růstu využívají jiné anorganické a organické donory elektronů. Do této skupiny patří lito- trofní acidofilové praktikující disimilační oxidaci vodíku (H₂), např. *Sulfobacillus acidophilus*, *Hydrogenobaculum acidophilum* aj., nebo *Methylacidiphilium infernorum*, které oxidují methan (CH₄) (Johnson et al., 2023).

3.1.1 Bakterie oxidující železo

Tyto bakterie získávají energii ke svému růstu oxidací železnatých iontů. Významných druhem bakterií oxidujících železo je *Leptospirillum ferriphilum*. Jsou to aerobní chemolitotrofní bakterie (Christel et al., 2018) vyznačující se větší afinitou k železnatým iontům Fe²⁺ a tolerancí k železitým iontům Fe³⁺. Byly identifikovány v biooxidačních tan- cích v Jižní Africe (40 °C), v těžebních dolech Dexing Copper Mine v Číně a v bioloužících provozech v Chile. *L. ferriphilum*, coby silný oxidant železa může zvyšovat ORP nad žá- doucí hodnoty a je tedy výhodné udržovat mikrobiální prostředí, ve kterém převažují slabší oxidanty s nižší afinitou k železnatým iontům. Dalšími druhy bakterií oxidujících železo jsou Actinobacteria *Ferrimicrobium acidiphilum*, *Ferrithrix thermotolerans* a *Acidithrix ferrooxidans* (Johnson et al., 2023).

3.1.2 Bakterie oxidující železo a síru

Skupina bakterií zahrnující rody *Acidiferrobacter*, *Acidithiobacillus*, *Alicyclobacillus* a *Sul- fobacillus* oxiduje v aerobních podmínkách železnaté ionty a redukované formy síry. Jednotlivé druhy jsou v mnoha ohledech spřízněné (např. růst v acidofilním prostředí) a v ně- kterých případech byly překlasifikované jako samostatné druhy až po letech zkoumání. Nicméně v určitých aspektech se mohou výrazně lišit. Například *At. ferrooxidans* je typicky mezofilní bakterií zatímco *At. ferrivorans*, původně považovaný za *At. ferrooxidans*, je psy- chrotolerantní bakterie a byla identifikována jako výhradní oxidant železa v kyselých vodách Antarktidy (Johnson et al., 2023).

3.1.3 Bakterie oxidující elementární síru a její redukované anorganické sloučeniny

Některá acidofilní prokaryota získávají energii výhradně oxidací síry a jejích redukovaných sloučenin (**Tab. 3**). Tyto formy jsou energeticky výhodnější díky vyššímu počtu elektronů dostupných při jejich oxidaci ve srovnání s elektrony získanými oxidací železa a díky vyššímu zápornému redoxnímu potenciálu. Typickým zástupcem této skupiny je *Acidithiobacillus caldus*, který se pravděpodobně podílí na omezení tvorby pasivních vrstev bránících v rozpouštění kovů z minerálních matic (Johnson et al., 2023).

Tab. 3 Vybrané druhy bakterií oxidujících síru a její redukované sloučeniny (Nguyen et al., 2021)

Druh	Metabolismus	Teplota [°C]
<i>Acidithiobacillus caldus</i>	autotrofní	45
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	autotrofní	28–35
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	autotrofní	10–37
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	autotrofní	30
<i>Leptospirillum thermoferrooxidans</i>	autotrofní	45–50
<i>Pseudomonas putida</i>	heterotrofní	–
<i>Sulfobacillus thernosulfidooxidans</i>	autotrofní	50
<i>Thiobacillus acidophilus</i>	mixotrofní	25–30
<i>Thiobacillus albertis</i>	autotrofní	28–30
<i>Thiobacillus thioparus</i>	autotrofní	11–25

3.2 Archaea

Tyto mikroorganismy zahrnují autotrofní, heterotrofní, ale i fakultativně autotrofní druhy (např. *Saccharolobus*, *Sulfuracidifex*, *Sulfurococcus*). Jejich teplotní optima se pohybují v širokém rozmezí 15–85 °C v závislosti na konkrétním druhu a mohou oxidovat železo (např. *Ferroplasma*, *Acidiplasma*) nebo železo i síru (např. *Acidianus*, *Metallosphaera*). Některé druhy jsou navíc schopny využívat jako donor elektronu vodík (např. *Acidianus*, *Sulfolobus*) (**Tab. 4**).

Tab. 4 Vybrané druhy bioloužících archaeí (Nguyen et al., 2021)

Druh	Metabolismus	Teplota [°C]
<i>Acidianus brierleyi</i>	heterotrofní	45–75
<i>Acidianus infernus</i>	heterotrofní	–
<i>Ferroplasma acidiphilum</i>	autotrofní	15–45
<i>Metallosphaera sedula</i>	autotrofní	extrémně termofilní
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	autotrofní	55–85
<i>Sulfolobus solfataricus</i>	autotrofní	extrémně termofilní
<i>Sulfolobus thermosulfidooxidans</i>	autotrofní	extrémně termofilní

3.3 Houby

Vláknité heterotrofní houby jsou schopny loužit kovy díky sekreci organických kyselin a biodegradativních extracelulárních enzymů. Mechanismus solubilizace kovů houbami zahrnuje acidolýzu, redoxolýzu, bioakumulaci, chelataci a tvorbu komplexů (Dusengemungu et al., 2021). Mezi nejefektivnější se řadí rody *Aspergillus* (Obr. 9) a *Penicillium* (Amiri et al., 2011) (Tab. 5). Výhodou těchto mikroorganismů je jejich schopnost tolerovat vysoké koncentrace organických kyselin. U některých hub byla navíc sledována primární odolnost vůči kovům díky složení jejich buněčné stěny. Navzdory množství studií dokazujících schopnost vybraných vláknitých hub úspěšně participovat na bioloužení kovů v laboratorních podmínkách, nejsou tyto mikroorganismy zatím využívány v průmyslových provozech. Důvodem může být nižší efektivita ve srovnání s bioloužícími bakteriemi (Dusengemungu et al., 2021).

Tab. 5 Vybrané druhy bioloužících hub (Nguyen et al., 2021)

Druh	Metabolismus	Teplota [°C]
<i>Aspergillus awamori</i>	heterotrofní	28
<i>Aspergillus niger</i>	heterotrofní	30
<i>Penicillium chrysogenum</i>	heterotrofní	28
<i>Penicillium funiculosum</i>	heterotrofní	–
<i>Trichoderma lignorum</i>	heterotrofní	24–26



Obr. 9 *Aspergillus niger* (Eva V., 2007)

4 ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS

Rod *Acidithiobacillus*, původně řazený mezi *Thiobacillus*, byl díky své vysoké toleranci vůči kyselému prostředí překlasifikován jako samostatný rod *Acidithiobacillus* (v r. 2000). Zahrnuje 7 druhů - *At. ferrooxidans*, *At. ferrivorans*, *At. ferriphilus*, *At. ferridurans*, *At. thiooxidans*, *At. caldus* a *At. albertensis* (Nuñez et al., 2017). Zde je podrobněji popsán *A. ferrooxidans* coby jeden z nejvýznamnějších a nejčastěji využívaných druhů autotrofních bakterií v bioloužení.

At. ferrooxidans je fakultativně anaerobní, acidofilní, mezofilní, chemolitoautotrofní, Gram negativní γ -proteobacterium tvaru tyčinky o velikosti 1,5 x 0,5 μm (Obr. 10). Je schopen aerobního i anaerobního růstu, ale nejlépe roste v aerobních podmínkách (Bernatová, 2012) (Tab. 6). Přirozeně se vyskytuje v pyritických horninách, lze jej nalézt i v prostředí s vysokou koncentrací kovových iontů, např. v uhelných dolech a jejich hlušínách, kde přispívá ke geobiochemické cirkulaci kovových prvků a živin (Zhang et al., 2020). V těžebním průmyslu je využíván zejména při bioloužení mědi (Valdés et al., 2008).

Tab. 6 Vlastnosti a podmínky růstu *A. ferrooxidans* (Wang et al., 2019)

Vlastnost/podmínka růstu	Hodnota
pH (optimum)	1,3–4,5 (2,0–2,2)
teplota °C (optimum)	10–37 (30–35)
oxidace S^0 , $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	ano
oxidace Fe^{2+}	ano
růst na sulfidových minerálech	ano
růst na vodíku	ano
anaerobní růst s Fe^{3+}	ano
fixace N_2	ano

At. ferrooxidans je jednou z nejčastěji zkoumaných bakterií pro využití při bioloužení. Jeho loužící schopnosti mohou být vylepšeny adaptací na některé nepříznivé podmínky jako je například přítomnost těžkých kovů ve výluhu. Jejich vysoká koncentrace může působit na mikroorganismy toxicky, zpomalovat jejich růst a množení a tím snižovat efektivitu bioloužení. Tento inhibiční faktor se objevuje především při loužení kovů z elektroodpadu, který

je charakteristický vysokým obsahem různých toxických kovů. Adaptační proces zahrnuje postupné navyšování koncentrace kovů v předem daných krocích a sledování aklimatizace mikroorganismu na tyto změny prostředí. Kultivace začíná na nejnižší koncentraci a po dosažení stanoveného počtu bakterií a koncentrace Fe^{3+} v médiu se provede inokulace adaptované kultury do média s vyšší koncentrací. Při tomto postupu se vychází z předpokladu, že bakterie má přirozenou schopnost adaptace na změny prostředí, pokud nejsou příliš náhlé. Cílem je vyvíjet kmeny adaptovaných bakterií dosahující vysoké efektivity loužení kovů i za přítomnosti toxických látek a tím rozšíření jejich praktického využití. Schopnost adaptace na vyšší koncentrace těžkých kovů byla prokázána např. při bioloužení Cu, Ni a Ga z odpadních LED, kde bylo postupným navyšováním koncentrace nadrceného LED prášku ve výluhu z počátečních 5 g/l dosaženo úspěšné adaptace *At. ferrooxidans* až na 20 g/l v 18-ti dnech (Pourhossein a Mousavi, 2018). Další studie uplatnily adaptační mechanismus pro zvýšení odolnosti *At. ferrooxidans* na vysoký obsah zinku v koncentrátu sfaleritu (ZnS) (Haghshenas et al., 2009, Miranda Arroyave, Márquez Godoy a Ocampo Carmona, 2019) nebo mědi v chalkopyritu (Xia et al., 2008). Tyto experimenty potvrzují vyšší schopnost vyluhovatelosti kovů adaptovaných bakterií ve srovnání s neadaptovanými kmeny.

Další možností zvyšování efektivity bioloužení nabízí genové inženýrství. V posledních letech se objevilo několik studií zabývajících se využitím metody CRISPR (pravidelně rozložené krátké palindromické repetice) pro genetickou charakterizaci bioloužících bakterií a potenciální úpravy jejich genových charakteristik za účelem efektivnějšího průmyslového využití těchto organismů. Například Yamada et al. vyvinul systém CRISPRi (CRISPR interference) s hostitelským plazmidem pBBR1MCS-2, díky kterému bylo možné selektivní vyřazení genů u *At. ferrooxidans* (Yamada et al., 2022). Budoucí studie v této oblasti a jejich výsledky by mohly potvrdit potenciál této a podobných metod pro praktické využití.

4.1 Živná média

At. ferrooxidans vyžaduje ke svému růstu několik biogenních prvků – fosfor, hořčík, draslík a dusík. Pro jeho kultivaci se běžně využívá kapalné živné médium K9 dle Silvermana a Lundgrena z r.1959, skládající se ze dvou roztoků. Roztok A: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (2 g), KCl (0,1 g), K_2HPO_4 (0,5 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,01 g), destilovaná voda (700 ml). Roztok B: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (40 g), destilovaná voda (300 ml). pH výsledného média se upravuje na rozmezí hodnot 1,8–2,0 pomocí kyseliny sírové nebo hydroxidu draselného (Bernatová, 2012).

4.2 Metabolismus *At. ferrooxidans*

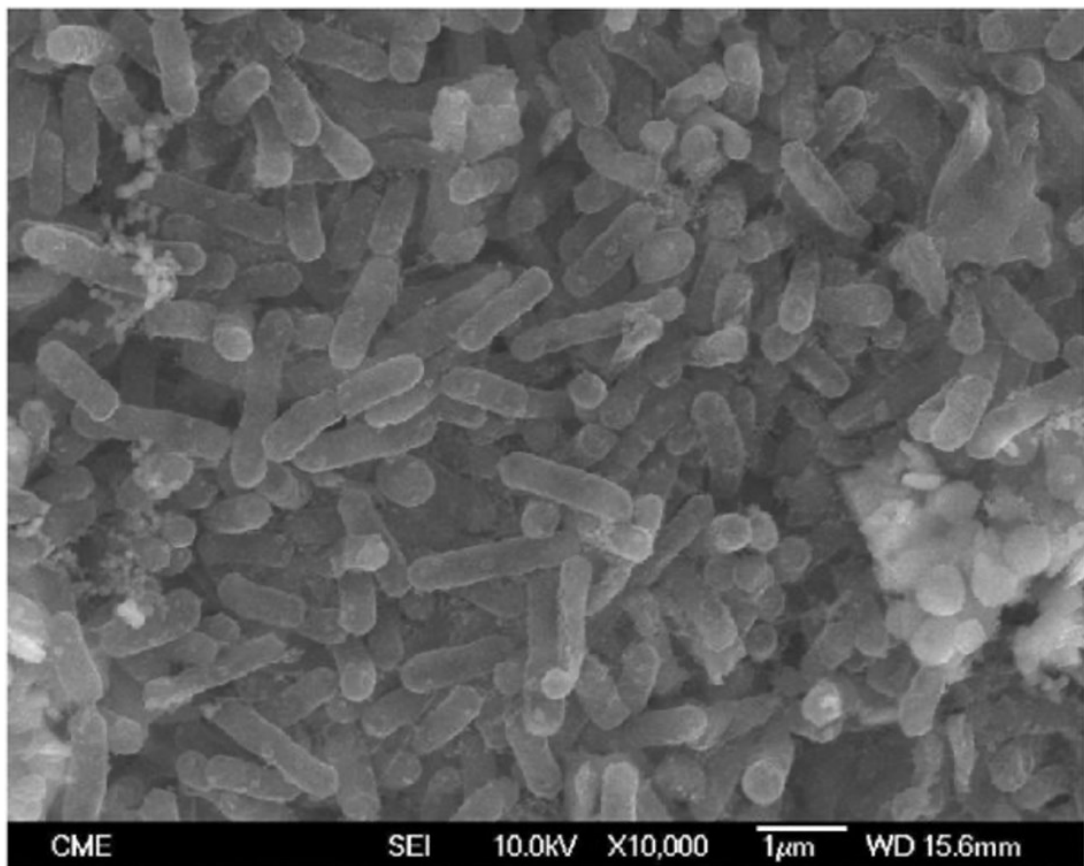
At. ferrooxidans získává energii oxidací síry (S^0), jejích redukovaných sloučenin a železnatých iontů (Fe^{2+}), přičemž oxidace železa se zdá být zásadnější. Studie zaměřené na kinetiku bioloužení naznačují, že růst bakterií a jejich loužící rychlost souvisí právě s koncentrací iontů železa v médiu. V elektronovém transportním řetězci *At. ferrooxidans* jsou známy dvě dráhy podílející se na oxidaci železnatých iontů - sestupná elektronová dráha Cyc2 > Rus > Cyc1(c4) > aa3 cytochrom oxidáza, a vzestupná elektronová dráha Cyc2 > Rus > Cyc-A1 > bc1 komplex > sdrA-1 > NADH dehydrogenáza (**Obr. 11**). Získaná energie, uložená v podobě makroergních sloučenin (např. ATP), může být využita při fixaci oxidu uhličitého (CO_2) z atmosféry Calvinovým cyklem (Zhou et al., 2021).

4.2.1 Sestupná elektronová dráha

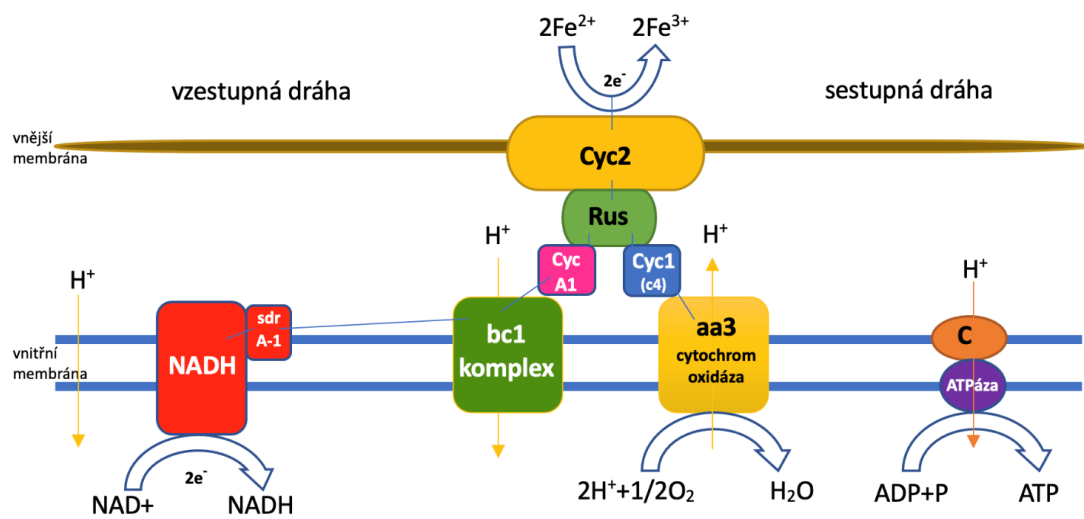
Na vnější membráně buňky bakterie je umístěna cytochrom c bílkovina (Cyc2), která je prvním akceptorem v elektronovém transportním řetězci. Cyc2 přenáší elektrony z oxidace Fe^{2+} k bílkovině rusticyaninu (Rus), odkud putují k cytochrom c4 proteinu (Cyc1), spřaženým s cytochrom aa3 komplexem umístěným na vnitřní membráně buňky. Součástí komplexu je enzym cytochrom c oxidáza (Cox), která je zodpovědná za přenos elektronů z Cyc1 k molekule kyslíku O_2 a katalyzuje jeho redukci za vzniku vody H_2O . Cox může být spřažena také s protonovou pumpou řídící syntézu adenosintrifosfátu (ATP) z adenosindifosfátu (ADP) (Zhan et al., 2019).

4.2.2 Vzestupná elektronová dráha

Cyc2 je opět prvním akceptorem elektronů získaných oxidací Fe^{2+} a přenáší je do Rus. Odtud pokračují přes cytochrom c4 CycA1 a bc1 komplex až k NADH dehydrogenáze (Zhan et al., 2019).



Obr. 10 *Acidithiobacillus Ferrooxidans* (Quatrini a Johnson, 2019)



Obr. 11 Elektronový transportní řetězec *At. ferrooxidans* (Yue Zhan, et al., 2019)

5 VYUŽITÍ BIOLOUŽENÍ V PRAXI

V praxi je bioloužení primárně využíváno k biotěžbě hornin s nízkým obsahem cílových kovů. Existuje ale řada dalších materiálů, na které lze bioloužení použít, jako například elektronický odpad, použité baterie, odpadní kaly nebo sedimenty. Tyto aplikace nabízí významné ekonomické a environmentální benefity pro udržitelné hospodaření se zdroji v různých odvětvích průmyslu.

5.1 Bioloužení elektronického odpadu

Celosvětová roční produkce elektronického odpadu dosahuje 40 milionů tun, což je asi 5 % z celkového pevného odpadu (Baniasadi et al, 2019). Kovy obsažené v e-odpadu představují zátěž pro životní prostředí a riziko pro lidské zdraví, ale také významný zdroj pro jejich opětovné využití. V souvislosti s ubývajícimi přírodními zdroji je ekonomicky výhodné cenné prvky recyklovat a zároveň udržovat jejich kontrolovaný oběh v prostředí. Bioloužení je v tomto kontextu schopný konkurent konvenčních pyrometalurgických a hydrometalurgických metod, jejichž hlavními nevýhodami jsou vysoká energetická spotřeba, provozní náklady a produkce sekundárního odpadu. K dnešnímu dni existuje množství studií zabývajících se bioloužením e-odpadu s cílem identifikovat nejvhodnější mikroorganismy k extrakci kovů z těchto toxických materiálů. Experimenty jsou často zaměřeny na desky plošných spojů (PCB) coby jedny z nejpočetnějších elektronických součástí. Dosavadní výzkum naznačuje, že bioloužení lze k tomuto účelu úspěšně využít. Příkladem může být *Streptomyces albidoflavus*, s jejíž pomocí byla vyloužena vysoká procenta těžkých kovů z odpadních PCB v poměrně krátkém čase 72 hodin (př. Al 66 %, Cd 65 %, Ni 81 %, Zn 82 %) (Kaliyaraj et al., 2019) nebo *Streptomyces avermitilis* s výlužností 73,3 % Co a 36,4 % Cr z PCB (Saravanan et al., 2022).

5.2 Bioloužení vodárenských kalů

Kal je produkt čištění pitných, odpadních a provozních vod z průmyslu. Je to suspenze oddělená sedimentací od čištěné vody, obsahující anorganické i organické látky, mikroorganismy, vodu ve volné i vázané formě, patogeny, těžké kovy aj. (**Tab. 7**). Jeho složení je závislé na kvalitě vstupní vody a zvolené technologii čištění. Zpracování kalů zahrnuje zahušťování, stabilizaci, odvodňování a biologickou či chemickou úpravu (Characteristics of Sludge and Sludge Ash, 2018).

Tab. 7 Běžné složení vodárenského kalu (Yang et al., 2020)

Vlastnost / Látka	Hodnota / Množství
pH	5,5–7,5
vlhkost (%)	>95
pevné látky celkem (%)	0,83–1,16
těkavé látky (%)	59–88
bílkoviny (%)	15–41
dusík (%)	1,5–6,0
fosfor (%)	0,8–11,0
draslík (%)	0–3
křemík (%)	10–20
koliformní bakterie (počet/g sušiny)	$1,2 \cdot 10^8$
enteroviry (počet/g sušiny)	$3,6 \cdot 10^2$

Likvidace konečně zpracovaného kalu se provádí skládkováním anebo spalováním. Kromě likvidace existuje i možnost jeho dalšího využití, a to zejména v zemědělství, popř. ve stavebnictví. Vodárenský kal je díky svému obsahu živin a minerálů vhodný jako hnojivo pro zemědělskou půdu. Takové použití je navíc udržitelným způsobem nakládání s kaly, protože odpadá problematika záboru a znečištění půdy skládkami, případně znečištění ovzduší při spalování. Největší výzvou při zpracování kalu k pozdějšímu využití je eliminace patogenů a těžkých kovů za současného uchování jeho příznivých vlastností (obsahu živin). Patogeny a těžké kovy jsou hrozbou pro zdraví člověka, jejich odstranění z kalů je proto nedílnou součástí úpravy před aplikací na zemědělskou půdu. Mnohé studie dokázaly schopnost bioloužících organismů odstraňovat těžké kovy z vodárenských kalů za přijatelně nízké ztráty žádoucích prvků (P, N, K). Například při bioloužení s pomocí heterotrofních hub *Aspergillus niger* bylo dosaženo výtěžnosti 74,1 % pro měď, 87,6 % pro zinek, 82,1 % pro olovo a 97,8 % pro kadmium za současné ztráty 29,8 % dusíku, 13,3 % fosforu a 28,8 % draslíku (Xu a Feng, 2016). Ve studii Chan et al. byla sledována účinnost bioloužení mědi, zinku a chromu z anaerobně vyhnílého kalu z čistírny odpadních vod za pomoci železitých a sirných bakterií. Média byla inokulována železitémi bakteriemi s 4 g/l FeSO_4 a sirnými bakteriemi s 0,75% přídatkem elementární síry a míchána při teplotě 30 °C po dobu 16 dní.

Pokles pH ze 7 na 2 byl u Fe bakterií sledován po 2 dnech, u S bakterií po 4 dnech. Obě mikrobiální kultury dosáhly 52–58% odstranění chromu po 12-ti dnech. Železité bakterie byly schopné rozpustit měď již v prvních 2 dnech ve srovnání s 8 dny u sirných bakterií, ale celková výtěžnost byla u Fe bakterií pouze 80 %, zatímco S bakterie dosáhly 100 %. Obě kultury byly stejně úspěšné při odstranění zinku – 95 % ve 4 dnech (Chan, Gu a Wong, 2003). Eliminace patogenů z kalů může být prováděna různými metodami, za pomoci vysoké teploty, nízkého pH (pod 3,9), biologickými úpravami a elektrochemickou předúpravou. Studie prokázaly, že úplné deaktivace patogenů může být dosaženo po 9-ti dnech při pH < 4. Lze tedy předpokládat, že bioloužení s průměrnou dobou působení 7–20 dní a pH klesajícím k hodnotám okolo 2, je účinnou metodou eliminace patogenů (Yang et al., 2020).

Proces bioloužení kalů může zpomalovat přítomnost organické hmoty. Jako jedny z hlavních inhibitorů v anaerobně rozloženém čistírenském kalu byly prokázány kyseliny octová a propionová. Této skutečnosti lze předcházet simultánním aerobním rozkladem. Dalším možným inhibitorem bioloužení je poměr pevné hmoty, jehož nadbytek zpomaluje činnost bakterií v důsledku nedostatku kyslíku. Kal ošetřený bioloužením je revitalizován za pomoci vápna před samotnou aplikací na zemědělskou půdu (Chen a Pan, 2010).

5.3 Bioloužení použitých baterií

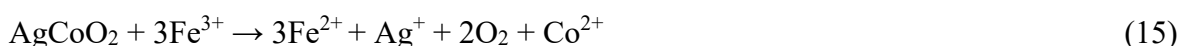
Baterie v různých podobách jsou celosvětově používány v mnoha zařízeních denní potřeby. S nárůstem mobilních přístrojů, jako jsou telefony, laptopy, autonavigace, powerbanky atd. narůstá také množství použitých baterií, které je nutné recyklovat. Použité bakterie představují riziko pro životní prostředí a lidské zdraví kvůli obsahu toxických kovů, například Li, Ni, Cd a organických látek, jako je ethylenkarbonát nebo dimethylkarbonát, proto je nutné s nimi nakládat jako s nebezpečným odpadem a nelze je běžně skládkovat. Některé navíc obsahují kovy, které nejsou běžně dostupné ve velkém množství a recyklace použitých baterií je v těchto případech ekonomickým a udržitelným způsobem jejich opětovného získávání.

Baterie dělíme na dobíjecí a nedobíjecí. Mezi dobíjecí patří baterie Li-ion (obs. C, Li, Ni, Fe, Mn, Cu, Al, Co, P), Zn-Mn (obs. Hg, Cu, Zn, Mn, Fe, C), Pb, Ni-Cd (obs. Fe, Co, C, prvky vzácných zemin, Ni, Cd) a NiMH (Nickel-Metal-Hydride). Nedobíjecí zahrnují baterie lithiové, zinkové a niklové. Současné studie naznačují, že tyto prvky mohou být z použitých baterií zpětně získávány pomocí bioloužení. Nicméně další výzkum je nutný

k překonání dosavadních potíží, ke kterým patří pomalá kinetika a nedostatečná optimalizace procesu. Překážkou zůstává také fakt, že nejlepších výsledků při testovacím bioloužení bývá dosaženo při velmi nízkých hodnotách hmotnostního obsahu minerálu ve výluhu (cca 1 %) (Moosakazemi et al.). Při vyšších hodnotách klesá úspěšnost bioloužení v důsledku přítomnosti zásaditého materiálu a toxicity přítomných kovů. (Niu et al., 2015) Při bioloužení kovů z použitých baterií mohou ionty jiných kovů působit jako účinný katalyzátor. Například při získávání Kobaltu (Co) z LiCoO₂ katod bylo s *A. ferrooxidans* za 10 dní vylouženo 43 % Co, zatímco za přítomnosti Cu²⁺ ve výluhu bylo za 6 dní vylouženo 99,9% Co (rovnice 11-13) (Zeng et al., 2013).



Podobných výsledků dosáhl Zeng et al. při použití Ag⁺ jako katalyzátoru, kdy bylo z LiCoO₂ katod s *A. ferrooxidans* v 7 dnech vylouženo 43,1 % Co bez Ag⁺ a 98,4 % Co za přítomnosti Ag⁺ (14-15) (Zeng et al., 2013).



Pro bioloužení použitých baterií jsou zkoumány také heterotrofní houby. Ve studii Bahaloo-Horech et al. byl použit *Aspergillus niger* pro bioloužení Li-ion baterií. Výluh obsahoval metabolity tohoto mikroorganismu – kyselinu citronovou, šťavelovou, jablečnou a glukonovou. Výtěžnost jednotlivých kovů v 8 dnech byla 100 % Cu, 95 % Li, 45 % Co, 38 % Ni, 70 % Mn a 65 % Al. Tolerance *A. niger* byla omezena na 1 % hmotnostního obsahu louženého materiálu ve výluhu (Horeh, Mousavi a Shojaosadati, 2016).

ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo shrnout základní data o bioloužení, jeho principu, metodách provedení, hlavních parametrech ovlivňujících kinetiku procesu, jmenování nejvýznamnějších organismů podílejících se na bioloužení, a také jeho využití v praxi. Jsou zde srovnávány poznatky z odborných studií a článků, jejichž autoři se věnovali různým aspektům ovlivňujícím úspěšnost bioloužícího procesu, od druhu použitého mikroorganismu, přes loužený materiál až po fyzikálně-chemické vlastnosti určující kvalitu výluhu.

Velkou motivací pro detailnější zkoumání této biologické metody extrakce kovů je její jednoznačný environmentální přínos. Současné trendy konzumně založené společnosti vyčerpávají přírodní zdroje kovů raketovou rychlostí se stejně svižným nárůstem množství odpadu. Poptávka po nových elektronických zařízeních, jako jsou mobilní telefony, laptopy, tablety aj., stále stoupá, přičemž jejich životnost dosahuje pouze několika málo let. Uživatel si pořídí nový přístroj, starý vyhodí a za pár let zopakuje. Při současném množství lidí na planetě je zřejmé, že tento trend nelze praktikovat dlouhodobě. Vzhledem k tomu, že lidstvo je takto nastaveno již několik posledních dekad, je nabíledni, že některých kovových prvků zbývá v horninách jen procentuálně zanedbatelné množství (<1 %). Roční spotřeba přitom dosahuje desítek tun ručně v závislosti na daném kovu. Zde přichází na řadu bioloužení kovů, jenž lze využít jak na získávání kovů s nízkoprocentních hornin, tak i z elektronických odpadů.

Další ekologická výhoda bioloužení spočívá v možnostech jeho aplikace na těžkými kovy kontaminované vodárenské kaly, říční či mořské sedimenty a hlušiny ponechané v dolech po konvenční těžbě. U vodárenských kalů dochází díky nízkému pH, typickému pro bioloužení, také k eliminaci patogenů, čímž se materiál stává nezávadným pro použití v zemědělství.

Bioloužení má oproti konvenčním metodám také podstatně menší energetickou spotřebu, zejména ve srovnání s pyrometalurgickými a hydrometalurgickými postupy, a nevyžaduje použití nebezpečných chemikálií, jako u chemického loužení.

Jaké jsou tedy nevýhody bioloužení? Při jeho zavádění do praxe se můžeme setkat s problémy jako je pomalá kinetika procesu, nedostatečná efektivita loužení a nízká odolnost mikroorganismů vůči těžkým kovům a jiným nepříznivým podmínkám ve výluhu. Bioloužícím organismům je věnována samostatná kapitola s popisem optimálních podmínek pro jejich růst a vhodnost pro jednotlivé loužené materiály. Správný výběr mikrobiální kultury

má rozhodující význam pro výslednou efektivitu extrakce kovů a liší se zejména v závislosti na pH výluhu, jeho koncentraci a celkovém složení.

Z výše zmiňovaných důvodů je třeba věnovat zvýšenou pozornost jednotlivým druhům mikroorganismů a jejich individuálním potřebám pro růst. Mezi klíčové parametry srovnávané v této práci jsou pH výluhu, redoxní potenciál, velikost částic nadrceného materiálu a jeho procentuální zastoupení ve výluhu. Studie v tomto ohledu naznačují nutnost dalšího zkoumání v laboratorních podmínkách. Nicméně je k zamyšlení, zda by nepomohl proaktivní přístup a častější zavádění laboratorních poznatků do praxe, ze které lze následně čerpat další užitečná data pro budoucí provozy. Stejně důležité jsou, dle mého názoru, investice do projektů typu BioSigma, které sdružují vědecké kapacity v oboru a dlouhodobě pracují na vylepšování bioloužicích metod.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABBRUZZESE, C. et al., 1994. Preparatory bioleaching to the conventional cyanidation of arsenical gold ores. *Minerals Engineering*. Online. **7**(1), 49-60. [cit. 2023-03-30]. ISSN 08926875. Dostupné z: doi:10.1016/0892-6875(94)90146-5

ABHILASH a PANDEY, B. D., 2013. Microbially Assisted Leaching of Uranium – A Review. [online]. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*. Roč. 34, č. 2, s. 81-113. [cit. 2024-05-15]. ISSN 0882-7508. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/08827508.2011.635731>

AHMADI, A. et al., 2010. Electrochemical bioleaching of high grade chalcopyrite flotation concentrates in a stirred bioreactor. *Hydrometallurgy* [online]. 104(1), 99-105 [cit. 2023-04-22]. ISSN 0304386X. Dostupné z: doi:10.1016/j.hydromet.2010.05.001

AMIRI, F. et al., 2011. Recovery of metals from spent refinery hydrocracking catalyst using adapted *Aspergillus niger*. *Hydrometallurgy* [online]. **109**(1-2), 65-71 [cit. 2023-03-27]. ISSN 0304386X. Dostupné z: doi:10.1016/j.hydromet.2011.05.008

BACHELOT Pierre J-P. Enscondida důl [foto]. Chile 2005. In: Wikimedia Commons [online]. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mina_La_Escondida_\(Chile\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mina_La_Escondida_(Chile).jpg)

BANIASADI M, Vakilchap F, Bahaloo-Horeh N, Mousavi S, Farnaud S, Advances in bioleaching as a sustainable method for metal recovery from e-waste: A review, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.03.047>

BERNATOVÁ, Karolína, 2012. *Archaea*. Ostrava. Diplomová práce. VŠB – Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Mgr. Hana Vojtková, Ph.D.

BOSECKER, Klaus. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 1997, **20**(3-4), 591-604 [cit. 2023-03-27]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6976.1997.tb00340.x

BROWN, T.J., Idoine, N.E., Wrighton, C.E., Raycraft, E.R., Hobbs, S.F., Shaw, R.A., Everett, P., Deady, E.A. and Kresse, C. 2019. World Mineral Production 2015-19. British Geological Survey, Keyworth, Nottingham.

CHAN, L.C., X.Y. GU a J.W.C. WONG, 2003. Comparison of bioleaching of heavy metals from sewage sludge using iron- and sulfur-oxidizing bacteria. *Advances in Environmental Research* [online]. 7(3), 603-607 [cit. 2023-03-27]. ISSN 10930191. Dostupné z: doi:10.1016/S1093-0191(02)00050-3

Characteristics of Sludge and Sludge Ash, 2018. In: SHOW, Kuan-Yeow, Joo-Hwa TAY a Duu-Jong LEE. *Sustainable Sludge Management* [online]. WORLD SCIENTIFIC, s. 5-15 [cit. 2023-03-27]. ISBN 978-981-323-825-1. Dostupné z: doi:10.1142/9789813238268_0002

CHEN, Shen-Yi a Sheng-Hsien PAN, 2010. Simultaneous metal leaching and sludge digestion by thermophilic microorganisms: Effect of solids content. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 179(1-3), 340-347 [cit. 2023-03-27]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2010.03.011

CHRISTEL, Stephan et al., 2018. Multi-omics Reveals the Lifestyle of the Acidophilic, Mineral-Oxidizing Model Species *Leptospirillum ferriphilum* T. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 84(3), e02091-17 [cit. 2023-03-28]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.02091-17

CHRISTEL, Stephan et al., 2018. Weak Iron Oxidation by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* Maintains a Favorable Redox Potential for Chalcopyrite Bioleaching. *Frontiers in Microbiology* [online]. 9 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2018.03059

Consumption volume of copper worldwide in 2019 and 2020, with estimated figures for 2021 and 2022 (in million metric tons) [online], 2021. Navigating the Transition to a Net Zero World, page 69: Norilsk Nickel [cit. 2023-03-28]. Dostupné z: <https://www.statista.com/statistics/273676/global-copper-consumption/#statisticContainer>

DÍAZ, José, Jennyfer SERRANO a Eduardo LEIVA, 2018. Bioleaching of Arsenic-Bearing Copper Ores. *Minerals* [online]. 8(5) [cit. 2023-04-16]. ISSN 2075-163X. Dostupné z: doi:10.3390/min8050215

DUSENGEMUNGU, Leonce et al., 2021. Overview of fungal bioleaching of metals. *Environmental Advances* [online]. 5 [cit. 2023-03-27]. ISSN 26667657. Dostupné z: doi:10.1016/j.envadv.2021.100083

GENTINA, Juan a Fernando ACEVEDO, 2016. Copper Bioleaching in Chile. *Minerals* [online]. 6(1) [cit. 2023-04-17]. ISSN 2075-163X. Dostupné z: doi:10.3390/min6010023

Gold demand worldwide from 2010 to 2022 (in metric tons) [online], 2023. Financial Instruments & Investments: Statista Research Department [cit. 2023-03-28]. Dostupné z: <https://www.statista.com/statistics/267360/gold-demand-worldwide-since-2002/>

Gold Production by Country 2023. *Worldpopulationreview* [online]. USA: World Population Review, 2023 [cit. 2023-03-28]. Dostupné z: <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/gold-production-by-country>

GU, Xiang-Yang a Jonathan W.C. WONG, 2007. Degradation of inhibitory substances by heterotrophic microorganisms during bioleaching of heavy metals from anaerobically digested sewage sludge. *Chemosphere* [online]. 69(2), 311-318 [cit. 2023-03-27]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2007.03.047

HAGHSHENAS, D.F. et al., 2009. Adaptation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to high grade sphalerite concentrate. *Minerals Engineering* [online]. 22(15), 1299-1306 [cit. 2023-04-28]. ISSN 08926875. Dostupné z: doi:10.1016/j.mineng.2009.07.011

HOREH, N. Bahaloo, S.M. MOUSAVI a S.A. SHOJAOSADATI, 2016. Bioleaching of valuable metals from spent lithium-ion mobile phone batteries using *Aspergillus niger*. *Journal of Power Sources* [online]. 320, 257-266 [cit. 2023-03-27]. ISSN 03787753. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpowsour.2016.04.104

JIANG, Liangyou, 2019. Effects of Fe³⁺ and Ag⁺ on Column Bioleaching of a Low-grade Sulfide Copper Ore. *International Journal of Electrochemical Science* [online]. 6303-6314 [cit. 2023-04-22]. ISSN 14523981. Dostupné z: doi:10.20964/2019.07.43

JOHNSON, David Barrie et al., ed., 2023. *Biomining Technologies* [online]. Cham: Springer International Publishing [cit. 2023-03-28]. ISBN 978-3-031-05381-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-031-05382-5

KALIYARAJ, Dhanalashmi et al., 2019. Bioleaching of heavy metals from printed circuit board (PCB) by *Streptomyces albidoflavus* TN10 isolated from insect nest. *Bioresources and Bioprocessing* [online]. 6(1) [cit. 2023-05-01]. ISSN 2197-4365. Dostupné z: doi:10.1186/s40643-019-0283-3

KAMIZELA, Tomasz a Malgorzata WORWAG, 2020. Processing of Water Treatment Sludge by Bioleaching. *Energies* [online]. 13(24) [cit. 2023-04-14]. ISSN 1996-1073. Dostupné z: doi:10.3390/en13246539

KUDPENG, Kanjana et al., 2020. Bioleaching of Gold from Sulfidic Gold Ore Concentrate and Electronic Waste by *Roseovarius tolerans* and *Roseovarius mucosus*. *Microorganisms* [online]. 8(11) [cit. 2023-04-27]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms8111783

LAVINSKY, Rob. Chalkocit [foto]. Australia 2010. In: *Wikimedia Commons* [online]. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chalcocite-gy02a.jpg>

LI, Haifei et al., 2018. Optimization of kinetics and operating parameters for the bioleaching of heavy metals from sewage sludge, using co-inoculation of two *Acidithiobacillus* species. *Water Science and Technology* [online]. 2017(2), 390-403 [cit. 2023-04-15]. ISSN 0273-1223. Dostupné z: doi:10.2166/wst.2018.167

MAJUMDAR, G., A.E. MORRIS a M. WADSLEY, 2016. Metal Extraction: Phase Stability Diagrams. In: *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering* [online]. Elsevier [cit. 2023-03-27]. ISBN 9780128035818. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-803581-8.03593-1

MÄKINEN, Jarno et al., 2021. The Effects of Milling and pH on Co, Ni, Zn and Cu Bioleaching from Polymetallic Sulfide Concentrate. *Minerals* [online]. 11(3) [cit. 2023-04-10]. ISSN 2075-163X. Dostupné z: doi:10.3390/min11030317

MIRANDA ARROYAVE, Lina M., Marco Antonio MÁRQUEZ GODOY a Luz Marina OCAMPO CARMONA, 2019. Adaptation of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* strains on sphalerite concentrate from mining waste. *Respuestas* [online]. 24(3), 72-83 [cit. 2023-04-28]. ISSN 2422-5053. Dostupné z: doi:10.22463/0122820X.1839

MOOSAKAZEMI, Farhad et al. Bioleaching for Recovery of Metals from Spent Batteries – A Review. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review* [online]. 1-11 [cit. 2023-03-27]. ISSN 0882-7508. Dostupné z: doi:10.1080/08827508.2022.2095376

NGUYEN, Trung Hau, Sangmin WON, Myung-Gyu HA, Dinh Duc NGUYEN a Ho Young KANG. Bioleaching for environmental remediation of toxic metals and metalloids: A review

on soils, sediments, and mine tailings. *Chemosphere* [online]. 2021, **282** [cit. 2023-03-27]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2021.131108

NIU, Zhirui et al., 2015. Metallic ions catalysis for improving bioleaching yield of Zn and Mn from spent Zn-Mn batteries at high pulp density of 10%. *Journal of Hazardous Materials* [online]. **298**, 170-177 [cit. 2023-04-01]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2015.05.038

NUÑEZ, Harold et al., 2017. Molecular Systematics of the Genus *Acidithiobacillus*: Insights into the Phylogenetic Structure and Diversification of the Taxon. *Frontiers in Microbiology* [online]. **8** [cit. 2023-04-07]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2017.00030

PATHAK, Ashish, Liam MORRISON a Mark Gerard HEALY, 2017. Catalytic potential of selected metal ions for bioleaching, and potential techno-economic and environmental issues: A critical review. *Bioresource Technology* [online]. **229**, 211-221 [cit. 2023-04-01]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2017.01.001

PHILCOMANFORTERIE. Morenci důl [foto]. Arizona 2022. In: *Wikimedia Commons* [online]. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MorenciMine1.jpg>

PIERRE, Bachelot J-P. Escondida důl [foto]. Chile 2005. In: *Wikimedia Commons* [online]. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mina_La_Escondida_\(Chile\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mina_La_Escondida_(Chile).jpg)

POURHOSSEIN, Fatemeh a Seyyed Mohammad MOUSAVI, 2018. Enhancement of copper, nickel, and gallium recovery from LED waste by adaptation of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Waste Management* [online]. **79**, 98-108 [cit. 2023-04-28]. ISSN 0956053X. Dostupné z: doi:10.1016/j.wasman.2018.07.010

QAYYUM, Sadia et al., 2019. Optimization of pH, temperature and carbon source for bioleaching of heavy metals by *Aspergillus flavus* isolated from contaminated soil. *Main Group Metal Chemistry* [online]. **42**(1), 1-7 [cit. 2023-04-14]. ISSN 2191-0219. Dostupné z: doi:10.1515/mgmc-2018-0038

QUATRINI, Raquel a D. Barrie JOHNSON, 2019. *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Trends in Microbiology* [online]. **27**(3), 282-283 [cit. 2023-03-27]. ISSN 0966842X. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2018.11.009

ROUCHALOVA, Dana et al., 2020. Bioleaching of Iron, Copper, Lead, and Zinc from the Sludge Mining Sediment at Different Particle Sizes, pH, and Pulp Density Using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Minerals* [online]. **10**(11) [cit. 2023-04-10]. ISSN 2075-163X. Dostupné z: [doi:10.3390/min10111013](https://doi.org/10.3390/min10111013)

SAJJAD, Wasim; ZHENG, Guodong; DIN, Ghufanud; MA, Xiangxian; RAFIQ, Muhammad et al., 2019. Metals Extraction from Sulfide Ores with Microorganisms: The Bioleaching Technology and Recent Developments [online]. [cit. 2024-05-15]. *Transactions of the Indian Institute of Metals*. Roč. 72, č. 3, s. 559-579. ISSN 0972-2815. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12666-018-1516-4>

SALDAÑA, Manuel; JELDRES, Matías; GALLEGUILLOS MADRID, Felipe M.; GALLEGOS, Sandra; SALAZAR, Iván et al., 2023. Bioleaching Modeling—A Review [online]. [cit. 2024-05-15]. *Materials*. Roč. 16, č. 10. ISSN 1996-1944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma16103812>

SARAVANAN, Thenmozhi Geetha et al., 2022. Bioleaching of Heavy Metals by *Streptomyces avermitilis* – BBA4 Isolate from Coal Mine Soil of Tamil Nadu. *Current Microbiology* [online]. 79(10) [cit. 2023-05-01]. ISSN 0343-8651. Dostupné z: [doi:10.1007/s00284-022-02996-1](https://doi.org/10.1007/s00284-022-02996-1)

SARKODIE, Emmanuel Konadu et al., 2022. A review on the bioleaching of toxic metal(loid)s from contaminated soil: Insight into the mechanism of action and the role of influencing factors. *Frontiers in Microbiology* [online]. 13 [cit. 2023-04-14]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: [doi:10.3389/fmicb.2022.1049277](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1049277)

SEARLS, Doc. Bingham Canyon důl [foto]. In: *Wikimedia Commons* [online]. Utah 2016. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bingham_Canyon_mine_2016.jpg

ŠAROCHOVÁ, Anna. Kolos v Utahu Bingham – největší měděný povrchový důl na ve světě. *Lomy a těžba* [online]. 2014, 2014(2014/1), 1 [cit. 2023-03-28]. Dostupné z: <https://www.lomyatezba.cz/2014/2014-1/item/458-kolos-v-utahu-bingham-nejvetsi-medeny-povrchovy-dul-na-ve-svete>

SHAH, Syed Sikandar et al., 2020. Environmentally sustainable and cost-effective bioleaching of aluminum from low-grade bauxite ore using marine-derived *Aspergillus niger*. *Hydrometallurgy* [online]. **195** [cit. 2023-04-02]. ISSN 0304386X. Dostupné z: [doi:10.1016/j.hydromet.2020.105368](https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2020.105368)

SHAH, Syed Sikandar et al., 2022. A sustainable approach on biomining of low-grade bauxite by *P. simplicissimum* using molasses medium. *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. **53**(2), 831-843 [cit. 2023-04-02]. ISSN 1517-8382. Dostupné z: doi:10.1007/s42770-022-00683-8

V., Eva. *Aspergillus niger* [foto]. 2007. In: *Wikimedia Commons* [online]. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aspergillus_niger_\(microscopic_view\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aspergillus_niger_(microscopic_view).jpg)

VALDÉS, Jorge et al., 2008. Acidithiobacillus ferrooxidans metabolism: from genome sequence to industrial applications. *BMC Genomics* [online]. **9**(1) [cit. 2023-03-27]. ISSN 1471-2164. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2164-9-597

WANG, Rui et al., 2019. Sulfur Oxidation in the Acidophilic Autotrophic Acidithiobacillus spp. *Frontiers in Microbiology* [online]. **9** [cit. 2023-03-28]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2018.03290

XIA, Lexian et al., 2008. Mechanism of enhanced bioleaching efficiency of Acidithiobacillus ferrooxidans after adaptation with chalcopyrite. *Hydrometallurgy* [online]. **92**(3-4), 95-101 [cit. 2023-04-28]. ISSN 0304386X. Dostupné z: doi:10.1016/j.hydro-met.2008.01.002

XU, Ying a Yue-Yang FENG, 2016. Feasibility of Sewage Sludge Leached by *Aspergillus Niger* in Land Utilization. *Polish Journal of Environmental Studies* [online]. **25**(1), 405-412 [cit. 2023-03-27]. ISSN 1230-1485. Dostupné z: doi:10.15244/pjoes/60861

YAMADA, Shohei et al., 2022. Development of a CRISPR interference system for selective gene knockdown in Acidithiobacillus ferrooxidans. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [online]. **133**(2), 105-109 [cit. 2023-04-03]. ISSN 13891723. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiosc.2021.10.012

YANG, Wei et al., 2020. Bioleaching of heavy metals from wastewater sludge with the aim of land application. *Chemosphere* [online]. **249** [cit. 2023-03-27]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126134

YIN, Shenghua et al., 2018. Copper Bioleaching in China: Review and Prospect. *Minerals* [online]. **8**(2) [cit. 2023-03-27]. ISSN 2075-163X. Dostupné z: doi:10.3390/min8020032

ZANDER, Jonathan. Pyrit [foto]. Arizona 2007. In: *Wikimedia Commons* [online]. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pyrite_Fools_Gold_Macro_1.JPG

ZENG, Guisheng et al., 2013. Influence of silver ions on bioleaching of cobalt from spent lithium batteries. *Minerals Engineering* [online]. **49**, 40-44 [cit. 2023-03-27]. ISSN 08926875. Dostupné z: doi:10.1016/j.mineng.2013.04.021

ZHAN, Yue et al., 2019. Iron and sulfur oxidation pathways of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [online]. **35**(4) [cit. 2024-05-15]. ISSN 0959-3993. Dostupné z: doi:10.1007/s11274-019-2632-y

ZHANG, Yu et al., 2020. Complete Genome Sequence of *Acidithiobacillus ferrooxidans* YNTRS-40, a Strain of the Ferrous Iron- and Sulfur-Oxidizing Acidophile. *Microorganisms* [online]. **8**(1) [cit. 2023-03-28]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms8010002

ZHAO, Hongbo et al., 2015. Effect of redox potential on bioleaching of chalcopyrite by moderately thermophilic bacteria: An emphasis on solution compositions. *Hydrometallurgy* [online]. 151, 141-150 [cit. 2023-04-22]. ISSN 0304386X. Dostupné z: doi:10.1016/j.hydromet.2014.11.009

ZHOU, Zhongkun et al., 2021. Potential application of a knowledgebase of iron metabolism of *Acidithiobacillus ferrooxidans* as an alternative platform. *Electronic Journal of Biotechnology* [online]. **52**, 45-51 [cit. 2023-04-07]. ISSN 07173458. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejbt.2021.04.003

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

$(NH_4)_2SO_4$	síran amonný
<i>ADP</i>	adenosindifosfát
<i>Ag</i>	stříbro
$AgCoO_2$	oxid stříbrno-kobaltitý
<i>Al</i>	hliník
<i>As</i>	arsen
As_2O_3/As_4O_6	oxid arsenitý
<i>ATP</i>	adenosintrifosfát
<i>Au</i>	zlato
<i>C</i>	uhlík
<i>Cd</i>	kadmium
<i>Co</i>	kobalt
<i>Cox</i>	cytochrom c oxidáza
<i>Cr</i>	chrom
<i>CRISPR</i>	pravidelně rozložené krátké palindromické repetice
<i>CRISPRi</i>	narušení pravidelně rozložené krátké palindromické repetice
<i>Cu</i>	měď
$Cu_{12}As_4S_{13}$	tenantit
Cu_3AsS_4	enargit
$CuCo_2O_4$	oxid mědnato-kobaltitý
$CuFeS_2$	chalkopyrit
CuS	kovelín
CuS_2	chalkocit
<i>Cyc</i>	cytochrom c
<i>e-odpad</i>	elektronický odpad
<i>Fe</i>	železo
$FeAsS$	arsenopyrit
FeS_2	pyrit
$FeSO_4$	síran železnatý
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	síran železnatý heptahydrát
<i>Ga</i>	gallium
<i>H</i>	vodík
H_2O	voda
H_2SO_4	kyselina sírová

<i>Hg</i>	rtuť
<i>CH₄</i>	methan
<i>I</i>	jód
<i>K</i>	draslík
<i>K₂HPO₄</i>	hydrogenfosforečnan draselný
<i>KCl</i>	chlorid draselný
<i>K_{SP}</i>	konstanta součinu rozpustnosti
<i>LED</i>	elektroluminiscenční dioda
<i>Li</i>	lithium
<i>LiCoO₂</i>	oxid lithno-kobaltitý
<i>Li-ion</i>	lithium-iontové
<i>M</i>	kovový prvek (obecně)
<i>MgSO₄ · 7H₂O</i>	síran hořečnatý heptahydrát
<i>Mn</i>	mangan
<i>MS</i>	sulfid kovu
<i>MSO₄</i>	síran kovu
<i>N</i>	dušík
<i>NADH</i>	nikotinamid-adenin-dinukleotid-hydrid
<i>Ni</i>	nikl
<i>NiMH</i>	nikl-metahydridové
<i>O</i>	kyslík
<i>ORP</i>	oxidačně-redukční potenciál
<i>P</i>	fosfor
<i>Pb</i>	olovo
<i>PbSO₄</i>	síran olovnatý
<i>PCB</i>	desky plošných spojů
<i>Rus</i>	rusticyanin
<i>S</i>	síra
<i>S₂O₃/S₄O₆²⁻</i>	thiosíran
<i>SO₄²⁻</i>	síran
<i>Zn</i>	zinek
<i>ZnS</i>	sfalerit

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Bingham Canyon důl (Doc Searls, 2016).....	14
Obr. 2 Skládkové bioloužení (Abhilash a Pandey, B. D., 2013)	14
Obr. 3 Haldové bioloužení (Manuel Saldaña et al., 2023)	15
Obr. 4 Bioloužení v reaktoru (Wasim Sajjad et al., 2019).....	16
Obr. 5 Chalkocit (Rob Lavinsky, 2010)	22
Obr. 6 Enscondida důl, Chile (Bachelot Pierre J-P, 2005)	23
Obr. 7 Morenci důl, Arizona (Philcomanforterie, 2022)	23
Obr. 8 Pyrit (Jonathan Zander, 2007)	24
Obr. 9 <i>Aspergillus niger</i> (Eva V., 2007).....	29
Obr. 10 <i>Acidithiobacillus Ferrooxidans</i> (Quatrini a Johnson, 2019).....	33
Obr. 11 Elektronový transportní řetězec <i>At. ferrooxidans</i> (Yue Zhan, et al., 2019)	33

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Celosvětová těžba v roce 2019 (Brown et al., 2021).....	19
Tab. 2 Významné lokality těžby mědi s využitím loužení na haldě (Majumdar, Morris a Wadsley, 2016)	21
Tab. 3 Vybrané druhy bakterií oxidujících síru a její redukované sloučeniny (Nguyen et al., 2021)	27
Tab. 4 Vybrané druhy bioloužících archaeí (Nguyen et al., 2021).....	28
Tab. 5 Vybrané druhy bioloužících hub (Nguyen et al., 2021)	28
Tab. 6 Vlastnosti a podmínky růstu <i>A. ferrooxidans</i> (Wang et al., 2019)	30
Tab. 7 Běžné složení vodárenského kalu (Yang et al., 2020).....	35