

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА СЕЛЕН-, АЗОТ- И СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ПАРОВОЙ ФАЗЕ ИЗ ОТВАЛА ЗОЛОТОРУДНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

Наталья Викторовна Юркевич

Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А. А. Трофимука СО РАН, 630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 3, кандидат геолого-минералогических наук, зав. лабораторией гидрохимии, тел. (383)363-91-94, e-mail: YurkevichNV@ipgg.sbras.ru; Новосибирский государственный технический университет, 630073, Россия, г. Новосибирск, пр. К. Маркса, 20, доцент кафедры геофизических систем ФТФ

Алексей Леонидович Макасы

Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А. А. Трофимука СО РАН, 630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 3, кандидат геолого-минералогических наук, зав. лабораторией полевых аналитических и измерительных технологий, тел. (383)333-30-32, e-mail: MakasAL@ipgg.sbras.ru

Светлана Борисовна Бортникова

Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А. А. Трофимука СО РАН, 630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 3, доктор геолого-минералогических наук, профессор, зав. лабораторией геоэлектрохимии, тел. (383)330-95-36, e-mail: BortnikovaSB@ipgg.sbras.ru

Александр Николаевич Реутский

ООО «СибЭнзайм», 630117, Россия, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2/12, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, тел. (383)209-27-40, e-mail: reoutsky@mail.ru

Валерий Алексеевич Чернухин

ООО «СибЭнзайм», 630117, Россия, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2/12, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, тел. (383)209-27-40, e-mail: valera@sibenzyme.ru

Наталья Александровна Абросимова

Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А. А. Трофимука СО РАН, 630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 3, кандидат геолого-минералогических наук, старший научный сотрудник лаборатории геоэлектрохимии, тел. (383)363-91-94, e-mail: AbrosimovaNA@ipgg.sbras.ru

Дарья Сергеевна Чешкина

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 630090, Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2, студент факультета естественных наук, тел. (383)363-91-94, e-mail: dasha.cheshkina@yandex.ru

Приводятся результаты эксперимента по определению состава селен-, азот- и серосодержащих веществ в паровой фазе над поверхностью автоклавированной пробы вещества отходов Урского хранилища сульфидсодержащих отходов золотодобычи (Кемеровская область) и с добавкой культивированной бактерии вида *Bacillus mycoides*.

Ключевые слова: сульфидсодержащие отходы, *Bacillus mycoides*, метилирование, газовая хромато-масс-спектрометрия, химическая безопасность.

CHARACTERISTICS OF THE COMPOSITION OF THE SELENIUM-, NITROGEN - AND SULFUR-CONTAINING COMPOUNDS IN THE VAPOR PHASE FROM THE DUMP OF GOLD DEPOSITS

Natalia V. Yurkevich

Trofimuk Institute of Petroleum Geology and Geophysics SB RAS, 3, Prospect Akademik Koptyug St., Novosibirsk, 630090, Russia, Ph.D., Head of Laboratory of Hydrochemistry, phone: (383)363-91-94, e-mail: YurkevichNV@ipgg.sbras.ru; Novosibirsk State Technical University, 20, Prospect K. Marx St., Novosibirsk, 630073, Russia, Associate Professor, Department of Geophysical Systems, FTF

Aleksey L. Makas

Institute of Laser Physic SB RAS, 13/3, Prospect Akademik Lavrentiev St., Novosibirsk, 630090, Russia, Ph. D., head of Laboratory, phone: (383)333-30-32, e-mail: MakasAL@ipgg.sbras.ru

Svetlana B. Bortnikova

Institute of Laser Physic SB RAS, 13/3, Prospect Akademik Lavrentiev St., Novosibirsk, 630090, Russia, Professor, Head of Laboratoty, phone: (383)330-95-36, e-mail: BortnikovaSB@ipgg.sbras.ru

Alexander N. Reutsky

SibEnzyme LLC, 2/12, Akademik Timakov St., Novosibirsk, 630117, Russia, Ph. D., Senior Researcher, phone: (383)209-27-40, e-mail: reoutsky@mail.ru

Valeriy A. Chernuhin

SibEnzyme LLC, 2/12, Akademik Timakov St., Novosibirsk, 630117, Russia, Ph. D., Senior Researcher, phone: (383)209-27-40, e-mail: valera@sibenzyme.ru

Natalya A. Abrosimova

Institute of Laser Physic SB RAS, 13/3, Prospect Akademik Lavrentiev St., Novosibirsk, 630090, Russia, Ph. D., Senior Researcher, phone: (383)363-91-94, e-mail: AbrosimovaNA@ipgg.sbras.ru

Darya S. Cheshkina

Novosibirsk National Research State University, 2, Pirogova St., Novosibirsk, 630073, Russia, Student at the Faculty of Natural Sciences, phone: (383)363-91-94, e-mail: dasha.cheshkina@yandex.ru

The results of an experiment to determine the composition of selenium, nitrogen and sulfur-containing compounds in the vapor-gas phase above the surface of the autoclaved sample of the waste substance of the Ursk sulfide-containing gold mining waste (Kemerovo region) and with the addition of a cultured bacterium of the *Bacillus mycoides* species are presented.

Key words: sulfide mine waste, *Bacillus mycoides*, methylation, gas chromatography-mass spectrometry, chemical safety.

Сезонные вариации температуры приводят к интенсивным геохимическим преобразованиям строения и состава сульфидсодержащих отходов обогащения золотоносных руд, активизируется химическое выщелачивание, формируется кислый дренаж, в раствор переходят металлы и металлоиды, в атмосферу выде-

ляется спектр летучих соединений [1-3]. Особый интерес представляют отходы, образованные в результате цианирования, которые становятся еще и источниками ряда производных синильной кислоты в ходе преобразования цианидных остатков.

Исследования летучих органосульфидов начались в 1970-х гг. Диметилсульфид (ДМС, C_2H_6S) является существенным компонентом потока соединений серы в атмосферу [4-6], играет глобально значимую роль в цикле углерода и серы и воздействует на климат Земли [7].

О присутствии ДМС в воздухе над сульфидными отвалами мы впервые упоминаем в работе [2], его продукция свидетельствует о метилировании сульфидсодержащих соединений микроорганизмами *Pseudomonas sp. and Bacillus sp.* Диметилсульфоксид (ДМСО, C_2H_6SO) является продуктом окисления диметилсульфида. Интересным фактом является то, что он вовлечен в осмо- и криозащиту и механизмы антиоксидантной защиты [6], поэтому его обнаружение в зимнее время может быть связано с вовлечением в процессы криозащиты микроорганизмов. Дисульфид углерода (CS_2) - метастабильный продукт окисления сульфидных минералов [8], один из наименее растворимых серных газов, и может служить индикатором обнаружения сульфидных месторождений.

Метил-селениды, обнаруженные ранее над веществом Белоключевского отвала [3], имеют, по нашему мнению, биотическое происхождение. Метилирование соединений Se с участием биоты широко распространенный процесс, протекающий в почвах, осадках и воде [9], однако механизмы формирования данных соединений над сульфидными отвалами изучены слабо.

Следующие металлоид-устойчивые бактерии участвуют в биологическом метилировании селена: *Rhodobacter sp., Bacillus sp., Aeromonas sp., Flavobacterium sp., Pseudomonas sp., Corynebacterium sp., Rhodospirillum rubrum* и *Rhodocycle tenuis, Stenotrophomonas maltophilia, Enterobacteriaceae sp.* [10,11].

Перечисленные вещества являются продуктами восстановления и окисления, происходящих в отвалах под влиянием биотических и неорганических факторов, и являются неотъемлемыми частями цикла серы, селена и азота в системе «отходы-поровый раствор-воздух». Понимание законов этого цикла необходимо для установления механизмов миграции химических элементов в условиях гипергенеза при фазовых переходах между твердой, жидкой и газообразной компонентами техногенных систем.

Однако, механизмы образования, а также токсичность детектируемых соединений остаются малоизученными, актуальна задача установления роли биотических факторов в формировании их состава.

Целью данной работы было определение роли биотических факторов в формировании состава парогазовых эманаций от сульфидсодержащих отходов горнорудного производства на примере Урского отвала золоторудного месторождения (Кемеровская область). Проведен эксперимент по определению состава селен-, азот- и серосодержащих органических веществ в паровой фазе над поверхностью i) автоклавированной пробы вещества отходов; ii) вещества отходов с добавкой культивированной бактерии вида *Bacillus mycoides*.

Урской отвал расположен в пос. Урск Кемеровской области, образован в 30-х годах прошлого века после извлечения золота цианированием из зоны окисления колчеданного Ново-Урского месторождения (Урское рудное поле). Сплошные руды состоят из сульфидов: пирита, сфалерита, халькопирита, блеклых руд, галенита, арсенопирита, борнита, ковеллина, халькозина. Жильные минералы представлены кварцем, серицитом, баритом, кальцитом и гипсом. Отходы переработки складированы в пойме ручья в два насыпных отвала без защитных технических сооружений или дамб. В результате сформированы насыпи высотой 10-12 м. Для эксперимента были взяты пробы из отвала кварцпиритовой сыпучки из менее окисленной зоны в северо-западной части хранилища (рис. 1).



Рис. 1. Расположение и фотографии Урского отвала и дренажного ручья

Для изучения роли бактериальной микрофлоры в изменении химического состава отвалов был проведено культивирование выделенного из отвала штамма *Bacillus mycoides* с последующим анализом состава накопившихся на культуральной жидкостью соединений с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии.

1 мкг породы было высеяно на чашку Петри с питательной средой LB в 1.5% агарозе, чашка Петри была оставлена на столе при комнатной температуре на 4 суток. Выросло около 50 колоний разных видов бактерий, в том числе две *Bacillus mycoides*. С помощью микробиологической петли во флакон, содержащий 100 мл жидкой питательной среды LB был засеян отобранный один из двух ранее полученных штаммов *Bacillus mycoides*, и был поставлен в термостатированную качалку при 30⁰C и 40 оборотах в минуту на ночь. Был произведен засев инокулята и инкубация штамма *Bacillus mycoides* во флаконы и последующая инкубация. Бактериальный титр культуральной жидкости – число колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 см³ устанавливался путем засева 1/100 мкл на чашку Петри с агаризованной средой LB. После инкубации при

комнатной температуре в течение 2 суток подсчитывалось число колоний (N). Титр (Т) вычислялся по формуле: $T=N \cdot 10^5 \text{ КОЕ/см}^3$.

Титр инокулята составил $10 \cdot 10^6 \text{ КОЕ/см}^3$. Во флаконы, в которые засекали штамм, было засеяно по 10 мл инокулята, то есть $10 \times 10^7 \text{ КОЕ}$. Так как объем культуральной жидкости был равен 200 мл, исходный бактериальный титр составил $0.5 \times 10^6 \text{ КОЕ}$.

Для эксперимента были взяты четыре пары стеклянных бутылей емкостью 500 мл, в каждую из них помещали различные компоненты: I) питательную среду 150 мл, навеску 50 гр. Грунта отвалов и бактерии (колбы №№ 1,2); II) питательную среду 150 мл, навеску 50 гр. Грунта отвалов (колбы №№ 3-4); III) питательную среду 150 мл и бактерии (колбы №№ 5-6); IV) питательную среду 150 мл (колбы №№ 7-8) (табл. 1). До добавления в колбы бактерий (№№ 1, 2, 5, 6), все пробы автоклавировали 20 минут при 120°C .

Таблица 1

Условия проведения экспериментов

№ колбы	№ пары	Расшифровка
1, 2	I	Питательная среда+ <i>Bacillus mycoides</i> +грунт (СБГ)
3, 4	II	Питательная среда+грунт (СГ)
5, 6	III	Питательная среда+ <i>Bacillus mycoides</i> (СБ)
7, 8	IV	Питательная среда (С)

Флаконы оставили закрытыми герметизирующей пленкой Парафильм М при температуре $+35^\circ\text{C}$. Через 28 часов от начала эксперимента был измерен титр бактерий, то есть число колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 см^3 . Фотографии колоний, выросших в результате высева $1/100$ мкл культуральной жидкости на чашку Петри с агаризованной (1,5%) средой LB, приведены на рис. 2. На каждой чашке Петри подсчитывалось число колоний, что позволило вычислить бактериальный титр. В флаконах 5 и 6 с питательной средой без грунта отвалов титр составил $6.4 \cdot 10^6 \text{ КОЕ/см}^3$, то есть увеличился почти в 13 раз по сравнению с исходным. В то же время в флаконах 1 и 2 с питательной средой с грунтом отвала, титр увеличился лишь немногим более, чем в 4 раза и составил $2.2 \cdot 10^5 \text{ КОЕ/см}^3$.

Одновременно с измерением титра в флаконах №№ 1, 3, 5, 8 пробоотборником АНП-11 (ООО «СИБЕЛ», Новосибирск) на концентратор с сорбентом Тенах ТА были отобраны пробы воздуха для последующего анализа в лаборатории методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС).

В результате обработки ГХ/МС данных с помощью программы AMDIS и базы данных масс-спектров электронной ионизации (NIST 2017) в пробах определен широкий спектр летучих органических соединений (табл. 2).

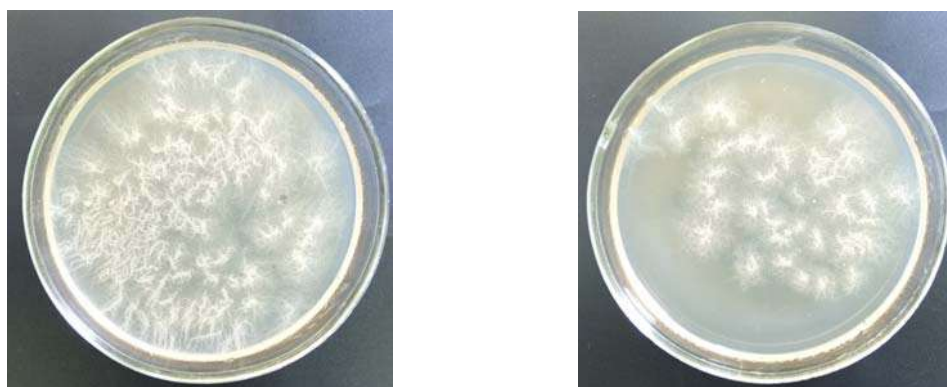


Рис. 2. Колонии *Bacillus mycoides*, выросшие в результате высева 1/100 мкл культуральной жидкости с флакона №5 только с LB средой (слева) и с флакона №1 с LB средой, содержащей 50 г грунта отвалов (справа)

Таблица 2

Состав паровой фазы над пробами через 28 часов
после начала эксперимента, мкг/м³

Параметр	№ колбы, шифр пробы				
	№ 1	№ 3	№ 5	№ 8	№ 0
Селенсодержащие соединения	СБГ	СГ	СБ	С	Г
Диметилселенид	90	47	н.о.	н.о.	72
Метилселенацетат	6.7	0.67	н.о.	н.о.	н.о.
Диметилтиоселенид	145	93	н.о.	н.о.	7.5
Метил диселенид	14	1.2	н.о.	н.о.	9.4
Диметил селенодисульфид	14.2	5.3	н.о.	н.о.	0.5
Серосодержащие соединения					
Дисульфид углерода, CS ₂	68.2	18.6	8.0	н.о.	62
Диметилсульфид*	270	370	2500	64	50
Диметил дисульфид	137	95	83.6	н.о.	3.2
Диметил трисульфид	229	130	18.2	10.4	2.1
Диметил тетрасульфид	31.2	52	н.о.	н.о.	н.о.
Диметил пентасульфид	0.4	2.4	н.о.	н.о.	н.о.
S ₆ , S ₇ , S ₈	2.4	5.5	н.о.	н.о.	5.9
Азотсодержащие соединения					
Этиловый эфир азотной кислоты	12.6	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
Метил-этиловый эфир азотной кислоты	21.5	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
Метил-пропиловый эфир азотной кислоты	17.2	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
Бензонитрил	4.3	0.86	2.8	4.3	10.3
Прочие					
2-Гептанон	1.3	0.30	0.30	н.о.	н.о.
2-метилпропановая кислота	28	4.3	н.о.	н.о.	н.о.
3-метил бутановая кислота и 2-метил бутановая кислота	43	2.2	4.4	н.о.	н.о.

Примечание: СБГ - питательная среда+ *Bacillus mycoides* +грунт, СГ - питательная среда+грунт, СБ - питательная среда+ *Bacillus mycoides*, С - питательная среда; н.о. – не обнаружено, Г – грунт без питательной среды и бактерий.

Среди селен-содержащих веществ найдены метилированные формы селенидов и их производных (табл. 2), классы опасности которых не установлены. В наибольших концентрациях найдены диметилселенид (до 90 мкг/м³) и диметилтиоселенид (до 145 мкг/м³). Более высокие концентрации метилов в воздухе над пробами отвалов с питательной средой и бактериями (СБГ) в сравнении с пробами без бактерий (СГ) указывает на то, что имеет место биотическое метилирование с участием рассматриваемых нами бактерий *Bacillus mycoidus*.

Среди серосодержащих соединений – диметилсульфид (ДМС), диметилдисульфид, (C₂H₆S₂), диметилди-, три-, тетра- и пентасульфиды – продукты метилирования сульфидов, содержащихся в отвалах. Их свойства мало исследованы, токсичность не установлена, исключение составляет ДМС (4 класс опасности по [12]). Обнаружена элементарная сера в виде циклических аллотропов S₆, S₇, S₈, а также дисульфид углерода (CS₂). Что касается CS₂, это высоко опасное летучее соединение (2 класс по [12]) обнаружено в пробе, содержащей питательную среду, бактерии и вещество отвала (СБГ, табл. 2) в концентрации 68.2 мкг/м³, что более чем в 2 раза превышает максимально разовое ПДК для загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест (30 мкг/м³, [12]). Однако, в отличие от селенсодержащих веществ, сравнение концентраций в пробе с биотой (СБГ) и без (СГ) не вносит ясности в причастность бактерий к процессу метилирования. Можно предположить, что в эмиссию метилированных серосодержащих соединений вносит вклад питательная среда. Наличие циклической серы в пробах СГ и Г в больших концентрациях (5.5 и 5.9 мкг/м³ соответственно), чем в СБГ (2.4 мкг/м³), указывает на закономерно абиотический механизм образования этого соединения. Близкое содержание в парах элементарной серы во всех пробах с грунтом, по-видимому, связано с тем, что она первоначально присутствовала в заметном количестве в твердых образцах. А в силу низкой летучести, ее концентрация оказалась мало подвержена воздействию в ходе данного эксперимента.

Среди азотсодержащих соединений интересны три сложных эфира азотной кислоты – этиловый, метил-этиловый и метил-пропиловый, которые были найдены в концентрациях 12.6, 21.5 и 17.2 мкг/м³ соответственно только в пробах с присутствием *Bacillus mycoides* (СБГ). Эти азотсодержащие соединения отсутствуют в воздухе над грунтом без бактерий, что дает основание предположить биотическую природу их образования. Важно, что этиловый эфир азотной кислоты (C₂H₅ONO₂) может выступать в качестве алкилирующего агента для сульфидов, кроме того, он токсичен, способен окислять гемоглобин. Один из предположительных механизмов образования C₂H₅ONO₂ в природных средах – в результате жизнедеятельности анаэробных пропионовокислых бактерий (*Propionibacterium*) [13].

Кроме того, обнаружен бензонитрил (C₆H₅CN), соединение 2 класса опасности, в концентрации до 10.3 мкг/м³. Бензонитрил является производным синильной кислоты в ходе преобразования цианидных и роданидных остатков в отходах.

В составе органических соединений, обнаруженных над поверхностью Урских отвалов, обнаружен широкий спектр летучих серо-, селен- и азотсодержащих органических веществ.

Присутствие метил-сульфидов и метил-селенидов свидетельствует о биотическом метилировании сульфидных и селенидных соединений в составе отходов с участием бактерий *Vaccilus mycoidus*.

Обнаружены летучие сложные эфиры азотной кислоты, которые имеют биотическую природу образования и выступают в качестве алкилирующего агента для сульфидов. Эксперимент подтверждает биотическое происхождение бензонитрила, который является производным синильной кислоты в ходе биотического преобразования цианидных и роданидных остатков в отходах.

Присутствие веществ второго класса опасности, дисульфида углерода и бензонитрила, среди летучих соединений над отвалами указывает на необходимость исследования механизмов их образования. Дальнейшее изучение сезонной динамики концентраций азотсодержащих эманаций над Урскими отвалами, может дать информацию об интенсивности биодеструкции отходов цианирования зависимости от времени года, что является актуальной задачей в условиях климата Сибири.

Работа выполнена при поддержке проектов ФНИ №№ 0331-2019-0031, 0266-2019-0008, 0331-2019-0029.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Geophysical investigations for evaluation of environmental pollution in a mine tailings area / N.V. Yurkevich et al. // Toxicological & Environmental Chemistry. – 2017. – Т. 99. – №. 9-10. – С. 1328-1345.
2. Assessment of emissions of trace elements and sulfur gases from sulfide tailings / S.B. Bortnikova et al. // Journal of Geochemical Exploration. – 2018. – Т. 186. – С. 256-269.
3. Mechanisms of low-temperature vapor-gas streams formation from sulfide mine waste / S. Bortnikova et al. // Science of the Total Environment. – 2019. – Т. 647. – С. 411-419.
4. Sulfur emissions to the atmosphere from natural sources / T.S. Bates et al. // Journal of Atmospheric Chemistry. – 1992. – Т. 14. – №. 1-4. – С. 315-337.
5. P. Brimblecombe The global sulfur cycle // Treatise on Geochemistry: Second Edition. – Elsevier Inc., 2013.
6. Dimethyl sulfide dynamics in first-year sea ice melt ponds in the Canadian Arctic Archipelago / M. Gourdal, M. Lizotte, G. Massé, M. Gosselin, M. Poulin, M. Scarratt, J. Charette, M. Levasseur // Biogeosciences. – 2018. – Vol. 15. – P. 3169-3188.
7. Koch T., Dahl C. A novel bacterial sulfur oxidation pathway provides a new link between the cycles of organic and inorganic sulfur compounds // The ISME journal. – 2018. – Т. 12. – №. 10. – С. 2479.
8. Hale M. Gas geochemistry and deeply buried mineral deposits: the contribution of the Applied Geochemistry Research Group, Imperial College of Science and Technology, London // Geochemistry: Exploration, Environment, Analysis. – 2010. – Т. 10. – №. 3. – С. 261-267.
9. Rapid microalgal metabolism of selenate to volatile dimethylselenide / P. M. Neumann et al. // Plant, cell & environment. – 2003. – Т. 26. – №. 6. – С. 897-905.

10. Ranjard L., Nazaret S., Cournoyer B. Freshwater bacteria can methylate selenium through the thiopurine methyltransferase pathway // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – Т. 69. – №. 7. – С. 3784-3790.

11. Dungan R.S., Frankenberger Jr.W.T. Factors affecting the volatilization of dimethylselenide by *Enterobacter cloacae* SLD1a-1 // *Soil Biology and Biochemistry.* – 2000. – Т. 32. – №. 10. – С. 1353-1358.

12. Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. ГН 2.1.6.1338-03. – М.: Минздрав РФ, 2003.

13. Белобородова Н.В., Белобородов С.М. Метаболиты анаэробных бактерий (летучие жирные кислоты) и реактивность макроорганизма // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2000. – № 2. – С. 28–36.

© *Н. В. Юркевич, А. Л. Макась, С. Б. Бортникова, А. Н. Реутский, В. А. Чернухин, Н. А. Абросимова, Д. С. Чешкина, 2019*