

УДК 579.8.06:546.22

АКТИВНЫЙ ПРОЦЕСС СУЛЬФАТРЕДУКЦИИ В КИСЛЫХ ОСАДКАХ ХВОСТОХРАНИЛИЩА ДОБЫЧИ ЗОЛОТА

© 2015 г. Н. В. Пименов^{*,1}, Д. А. Ивасенко^{**}, А. Л. Герасимчук^{**},
Е. Е. Захарова^{*}, А. В. Марданов^{***}, О. В. Карначук^{**},¹

^{*} Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Российской академии наук, Москва

^{**} Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет

^{***} Центр “Биоинженерия” Российской академии наук, Москва

Поступила в редакцию 18.11.2014 г.

DOI: 10.7868/S0026365615030155

Восстановление сульфата в процессе диссимиляционной сульфатредукции (ДСР) является основным биогеохимическим механизмом осаждения металлов в экосистемах, связанных с добычей сульфидных руд. Сульфидогены образуют значительные количества H_2S при получении энергии за счет сульфатного дыхания. Высокореакционный сероводород связывает катионы металлов, такие как Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} и др. в виде различных сульфидов, общим свойством которых является низкая константа растворимости. Микробная сульфатредукция, таким образом, является основным механизмом естественного самоочищения экосистем, содержащих растворенные металлы. Этот микробный процесс активно используют для очистки от металлов в различных биотехнологических схемах, от искусственных ветландов (мелководных озер) до промышленных схем, основанных на биореакторах [1–7].

Основной проблемой для поддержания высокоактивного сульфидогенного сообщества большинства экосистем, содержащих растворенные металлы, является низкий pH среды. Высокая концентрация протонов в подобных экосистемах — результат микробного окисления сульфидов и различных восстановленных соединений серы. Сульфатредукторы не только связывают металлы в сульфиды, но и повышают pH среды, благодаря потреблению протонов. Хотя измерения скорости ДСР в различных экосистемах с низким pH показывают наличие активного процесса [8], исследователи в настоящее время обладают единичными чистыми культурами ацидофильных/ацидотолерантных сульфидогенов [9–12]. Все до сих пор известные сульфатредуцирующие прокариоты (СРП), способные выдерживать высокую концентрацию протонов, принадлежат к роду

Desulfosporosinus семейства *Peptococcaceae*, *Firmicutes*. При этом способность к ДСР установлена у представителей семи разных филогенетических линий доменов *Bacteria* и *Archaea*. Большинство известных в настоящее время родов СРП относятся к классу *Deltaproteobacteria*. Эта группа имеет биотехнологические преимущества, заключающиеся в высокой скорости роста и толерантности к сероводороду. Недавно нам удалось выделить чистую культуру ацидотолерантной дельтапротеобактерии, *Desulfovibrio* sp. ТомС, способной к росту при pH 2.5 [Karnachuk et al., submitted for publication]. Полный геном этого организма был секвенирован, и в результате биоинформатического анализа показано присутствие генов, ответственных за несколько потенциальных механизмов устойчивости к высокой концентрации протонов вне клетки.

Бактерия *Desulfovibrio* sp. ТомС была выделена из кислых отходов добычи золота на месторождении “Центральный” в Мариинской тайге, Кемеровская область. Однако скорости процесса микробной сульфатредукции в условиях *in situ* не были определены.

Целью этого сообщения является демонстрация протекания активного процесса восстановления сульфатов в отходах, из которых ранее был выделен ацидотолерантный штамм *Desulfovibrio* sp. ТомС.

Пробы для определения скорости сульфатредукции были отобраны в августе 2014 г. Место отбора представляло небольшой ветланд глубиной не более 5 см, расположенный у основания отвала золотосодержащей породы. Порода содержала пирит и арсениопирит. Источником воды в ветланде являются атмосферные осадки.

Для определения скорости сульфатредукции был отобран верхний слой осадка интенсивного охристого цвета (проба Ку1). На глубине около 2 мм на осадке появлялся беловатый слизистый налет,

¹ Автор для корреспонденции (e-mail: npimenov@mail.ru, olga.karnachuk@green.tsu.ru).

который подстилал листовой опад, имеющий черный цвет. Более глубокие слои черного осадка, имели запах сероводорода. Отбор проб и определение скорости сульфатредукции с радиоактивным сульфатом проводили методами, адаптированными для отходов добычи сульфидных руд и описанными ранее [12]. Скорость сульфатредукции измеряли в трех повторностях. Одновременно определяли рН, Eh и температуру осадка в зоне пробоотбра. Анализировали также концентрацию металлов в воде ветланда и определяли минералогический состав осадка методами, описанными ранее [13]. Вода ветланда имела кислую реакцию (рН 2.85) и характеризовалась высокими концентрациями растворенных железа, алюминия, цинка и меди (таблица). Концентрация других двухвалентных металлов, таких как кобальт, никель и кадмий, не превышала сотен мкг/л. Дифракционный анализ осадков позволил выявить алюмо-силикатные минералы, такие как кварц, мусковит, микролин, клинохлор и альбит, характерные для магматических пород, содержащих сульфиды металлов, но обнаружить в условиях низкого рН кристаллические формы сульфидов металлов как первичных, так и вторичных, являющихся продуктами биогеохимических реакций, не удалось. Тем не менее, измеренная скорость сульфатредукции в осадке $Ku1$ составляла 264 ± 25 нмоль/(см³ сут), причем около 40% меченой ³⁵S обнаруживалось в кислоторастворимой моносльфидной фракции, а остальная ³⁵S входила в состав кислотонерастворимых соединений (FeS₂, S⁰). Это скорость высокая, не только для кислого местообитания [8], но и для других экосистем, ассоциированных с добычей металлов [12].

Наряду с выделением ацидофильной сульфатредуцирующей бактерии, обнаружение нами активного процесса сульфатредукции является еще одним доказательством возможности образования сероводорода в кислых окисленных отходах добычи металлов. Бактерия *Desulfovibrio* sp. ТомС может быть использована в биореакторах для осаждения металлов из кислых отходов производства. Однако действительное участие *Desulfovibrio* sp. ТомС в зафиксированном процессе восстановления сульфатов требует прямых доказательств. С этой целью параллельно с измерением сульфатредукции нами были отобраны пробы для метагеномного анализа сообщества микроорганизмов. Нахождение ферментов, необходимых для диссимиляционного восстановления сульфата, в метагеноме $Ku1$ и их биоинформатический анализ поможет подтвердить или опровергнуть роль *Desulfovibrio* sp. ТомС в изучаемой экосистеме.

Авторский коллектив благодарит В.П. Парначева за помощь в выборе объекта исследований и определение состава пород отвала. Исследование было выполнено из средств проекта ФЦП

Некоторые физико-химические характеристики пробы воды и осадков отходов добычи золота на месторождении “Центральный” в Мариинской тайге

Параметр	Единицы измерения	Значения
рН воды		2.85
Температура	°С	21
Eh воды	mV	+455
Eh осадков	mV	+286
Fe	мг/л	309
Al	мг/л	211
Zn	мг/л	25.01
Cu	мг/л	6.52
Co	мг/л	0.36
Cd	мг/л	0.26
Ni	мг/л	0.25
As	мг/л	0.047
Se	мг/л	0.014
Sr	мг/л	0.71
Y	мг/л	0.26
Ce	мг/л	1.13
Pr	мг/л	0.11
Th	мг/л	0.055
U	мг/л	0.063

RFMEFI60414X0108 в рамках государственного контракта (соглашения) № 14.604.21.0108.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Jong T., Parry D.L.* Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs // *Water Res.* 2003. V. 37. P. 3379–3389.
2. *Карначук О.В., Герасимчук А.Л., Бэнкс Д., Френгстадт Б., Стыкон Г.А., Тихонова З.Л., Каксонен А.Х., Пухакка Я.А., Яненко А.С., Пименов Н.В.* Бактерии цикла серы в осадках хвостохранилища добычи золота в Кузбассе // *Микробиология.* 2009. Т. 78. № 4. С. 535–544.
Karnachuk O.V., Gerasimchuk A.L., Banks D., Frengstad B., Stykon G.A., Tikhonova Z.L., Kaksonen A., Puhakka J., Yanenko A.S., Pimenov N.V. Bacteria of the sulfur cycle in the sediments of gold mine tailings, Kuznetsk Basin, Russia // *Microbiology.* 2009. V. 78. № 4. P. 483–491.
3. *Huisman J.L., Schouten G., Schultz C.* Biologically produced sulphide for purification of process streams, effluent treatment and recovery of metals in the metal and mining industry // *Hydrometallurgy.* 2006. V. 83. P. 106–113.
4. *Bijmans M.F.M., van Helvoort P.-J., Dar S.A., Dopson M., Lens P.N.L., Buisman C.J.N.* Selective recovery of nickel over iron from a nickel–iron solution using microbial

- sulfate reduction in a gas-lift bioreactor // *Water Res.* 2009. V. 43. P. 853–861.
5. Van Houten B.H.G.W., van Doesburg W., Dijkman H., Copini C., Smidt H., Stams A.J.M. Long-term performance and microbial community analysis of a full-scale synthesis gas fed reactor treating sulfate- and zinc-rich wastewater // *Appl. Microbiol. Biotech.* 2009. V. 84. P. 555–563.
 6. Sahinkaya E., Gungora M., Bayrakdara A., Yucesoya Z., Uyanik S. Separate recovery of copper and zinc from acid mine drainage using biogenic sulfide // *J. Hazard. Mater.* 2009. V. 171. P. 901–906.
 7. Nancucheo I., Johnson D.B. Removal of sulfate from extremely acidic mine waters using low pH sulfidogenic bioreactors // *Hydrometallurgy*. 2014. DOI: 10.1016/j.hydromet.2014.04.025
 8. Koschorreck M. Microbial sulphate reduction at a low pH // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008. V. 64. P. 329–342.
 9. Alazard D., Joseph M., Battaglia-Brunet F., Cayol J.-L., Ollivier B. *Desulfosporosinus acidiphilus* sp. nov.: a moderately acidophilic sulfate-reducing bacterium isolated from acid mining drainage sediments // *Extremophiles*. 2010. V. 14. P. 305–312.
 10. Abicht H.K., Mancini S., Karnachuk O.V., Solioz M. Genome sequence of *Desulfosporosinus* sp. OT, an acidophilic sulfate-reducing bacterium from copper mining waste in Norilsk, Northern Siberia // *J. Bacteriol.* 2011. V. 193. P. 6104–6105.
 11. Pester M., Brambilla E., Alazard D., Rattei T., Weinmaier T., Han J., Lucas S., Lapidus A., Cheng J.F., Goodwin L., Pitluck S., Peters L., Ovchinnikova G., Teshima H., Detter J.C., Han C.S., Tapia R., Land M.L., Hauser L., Kyrpides N.C., Ivanova N.N., Pagfni I. Complete genome sequences of *Desulfosporosinus orientis* DSM765T, *Desulfosporosinus youngiae* DSM17734T, *Desulfosporosinus meridiei* DSM13257T, and *Desulfosporosinus acidiphilus* DSM22704T // *J. Bacteriol.* 2012. V. 194. P. 6300–6301.
 12. Karnachuk O.V., Frank Y.A., Pimenov N.V., Yusupov S.K., Ivanov M.V., Kaksonen A.H., Puhakka J.A., Lindström E.B., Tuovinen O.H. Sulfate reduction potential in sediments in the Norilsk mining area, Northern Siberia // *Geomicrobiol. J.* 2005. V. 22. P. 11–25.
 13. Ikkert O.P., Gerasimchuk A.L., Bukhtiyarova P.A., Tuovinen O.H., Karnachuk O.V. Characterization of precipitates formed by H₂S-producing, Cu-resistant *Firmicute* isolates of *Tissierella* from human gut and *Desulfosporosinus* from mine waste // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2013. V. 103. P. 1221–1234.