



УДК: 579.811.2/3+577.12.+577.151

ВІДНОВЛЕННЯ ФЕРУМУ (III) СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ І СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ

О. М. Мороз, Г. В. Яворська, Н. О. Муравель, І. Р. Клим

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: moroz_oksana@yahoo.com*

За умов росту в середовищі з 3,5 мМ Fe(III) біомаса та рівень утворення гідроген сульфідом виділеними з техногенної водойми Яворівського сіркового родовища бактеріями *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6 і *Desulfuromonas acetoxidans* знижувалися майже удвічі, за концентрацій до 1,5 мМ Fe(III) повністю відновлювався гідроген сульфідом до Fe(II) з утворенням нерозчинного FeS. У середовищі з Fe(III) як єдиним акцептором електронів тривалентний ферум за концентрацій 0,5–3,5 мМ відновлювався до Fe(II) сульфат- і сірковідновлювальними бактеріями практично повністю. Досліджувані бактерії можуть бути використані у процесах очищення водного довкілля від токсичних сполук феруму (III).

Ключові слова: ферум (III), сульфатвідновлювальні та сірковідновлювальні бактерії, гідроген сульфід.

ВСТУП

Дисиміляційні металовідновлювальні бактерії [13, 15, 18], які займають схожі екологічні ніші зі сульфат- і сірковідновлювальними бактеріями, беруть участь в анаеробній деструкції органічних речовин у різноманітних екологічних нішах – від прісних озер до солоних морських осадових порід. Для росту ці бактерії можуть використовувати метали або сульфур та його окиснені сполуки як акцептори електронів. Сульфат-, сірко- та металовідновлювальні бактерії широко розповсюджені у природі та впливають на геохімічні цикли карбону, сульфору й металів у водному і ґрунтовому середовищах [8].

Сульфат- і сірковідновлювальні бактерії привертають увагу дослідників як потенційні агенти очищення стічних і дренажних вод, забруднених органічними сполуками, важкими металами, гідроген сульфідом, сульфуром, сульфатами і нітрами. Гідроген сульфід, утворений бактеріями у процесі дисиміляційної сульфат- і сіркоредукції, може взаємодіяти з іонами важких металів, утворюючи нерозчинні сульфідні метали, або відновлювати розчинні токсичні метали з утворенням менш токсичних чи менш розчинних форм [21]. Сульфат- і сірковідновлювальні бактерії можуть ферментативно відновлювати Fe(III), U(VI), Cr(VI), Mn(IV), Tc(VI), Pd(II) та ін.

і при цьому переводити їх у менш токсичні малорозчинні форми [16, 17, 22]. Окиснення органічних сполук або H_2 з використанням $Fe(III)$ як акцептора електронів є поширеним процесом, який відбувається в осадах морських і прісних водойм за участю бактерій, що належать до філогенетично неспоріднених родів – *Geobacter*, *Desulfuromonas*, *Desulfuromusa*, *Pelobacter*, *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Geothrix*, *Geovibrio*, *Deferribacter*, *Ferribacter*, *Shewanella*, *Ferrimonas*, *Aeromonas*, *Sulfurospirillum*, *Wolinella*, *Pseudomonas*, *Thermoterrabacterium*, *Pyrobaculum*, *Thermotoga* та ін. [14, 19]. Ацидофіли *Thiobacillus* і *Sulfolobus* за анаеробних умов ростуть із використанням елементної сірки як донора і $Fe(III)$ як акцептора електронів. Хоча $Fe(III)$ може відновлюватися неферментативно сульфідами, нагромадженими у морських осадах, у багатьох випадках його ферментативне відновлення є основним шляхом $Fe(III)$ -редукції у ґрунтових і водних екосистемах. У *Desulfovibrio vulgaris* цитохром c_3 функціонує як $Fe(III)$ - та $U(VI)$ -редуктаза. У *Desulfuromonas acetoxidans* виявлено тригемовий цитохром c_7 , близький до тетрагемового цитохрому c_3 . *D. vulgaris* за структурою, який є, можливо, металоредуктазою у цих бактерій [8, 19].

Дисиміляційна $Fe(III)$ -редукція – це процес, під час якого мікроорганізми передають електрони на $Fe(III)$ з відновленням його до $Fe(II)$ без асиміляції заліза. Більшість мікроорганізмів, які відновлюють $Fe(III)$, можуть також переносити електрони на $Mn(IV)$, відновлюючи його до $Mn(II)$ [14]. Унікальною метаболічною характеристикою металовідновлювальних мікроорганізмів є їхня здатність переносити електрони на нерозчинні акцептори електронів, такі як $Fe(III)$ та $Mn(IV)$ оксиди, з утворенням найчастіше магнетиту (Fe_3O_4), сидериту ($FeCO_3$) або родохрозиту ($MnCO_3$), що призводить до збагачення водного середовища розчиненими двовалентними іонами феруму та мангану. Вивчення механізмів металоредукції важливе для розуміння еволюції дихання у мікроорганізмів, оскільки мікробіологічні та геологічні докази свідчать, що дисиміляційна $Fe(III)$ -редукція є однією з найраніших форм мікробного дихання [14].

Токсичність для мікроорганізмів сполук феруму пов'язана з тим, що після потрапляння в клітину $Fe(II)$ і (III) утворює комплекси з гідроксильними, карбоксильними, фосфатними й аміногрупами, а також ковалентні зв'язки з сульфгідрильними групами, за рахунок чого вони з'єднуються з білками, нуклеотидами, коферментами, фосфоліпідами, порфіринами та іншими важливими метаболітами [8]. Важкі метали, такі як ферум, порушують транспортні функції клітини, викликають мутагенну дію, інгібують реплікацію ДНК, синтез РНК, білка, рибофлавіну, вітаміну B_{12} , пригнічують дихання, порушують структуру і властивості цитоплазми, процеси фотосинтезу, азотфіксації тощо [6, 8, 19].

Для використання у процесах біоремедіації забруднених ферумом та іншими ксенобіотиками вод і ґрунтів важливо використовувати культури бактерій, які виділені з техногенних середовищ і тому мають біотехнологічно важливі властивості: стійкість до високих концентрацій гідроген сульфіду, сульфатів, важких металів, психротолерантність тощо. Фізіологічні аспекти отримання енергії для росту під час окиснення органічних сполук сульфат- і сірковідновлювальними бактеріями Яворівського озера у процесі дисиміляційної сульфат-, сірко- чи $Fe(III)$ -редукції досліджені недостатньо, тому метою роботи було вивчення і порівняння здатності цих бактерій відновлювати $Fe(III)$ утвореним ними гідроген сульфідом, а також використовувати $Fe(III)$ як акцептор електронів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі використовували асоціацію сульфатвідновлювальних бактерій Ya-11 (*Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 і *Pseudomonas* sp.) ІМВ К-6 та сірковідновлювальні бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* [11], виділені з водойми Яворівського сіркового родовища.

Концентрацію феруму у пробах води з різних глибин Яворівського, Подороженського і Роздільських озер визначали за методом полуменево-емісійної спектроскопії (СФ Flahho-4 Carl Zeiss, Jena) [7].

Сульфат- і сірковідновлювальні бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна [4] зі сульфатами чи без них, відповідно. У середовище культивування сірковідновлювальних бактерій у еквімолярній кількості до сульфур у формі іонів сульфату додавали суху стерилізовану при 0,5 атм. елементну сірку за концентрації не меншої, ніж 0,111 г/л. Перед висівом у середовище вносили 0,05 мл/л стерильного розчину $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$ (1%), для доведення рН середовища до 7,2 використовували стерильний 10 н розчин NaOH. Бактерії вирощували впродовж 10 діб при 30°C за анаеробних умов у пробірках об'ємом 25 мл, густина засіву становила близько 10^8 КУО/мл.

Утворення Fe(II) сульфат- і сірковідновлювальними бактеріями вивчали під час росту бактерій: а) у середовищі з сульфат-іонами чи сіркою, відповідно, та з Fe(III) за концентрацій 0; 0,5; 1,5; 3,5 мМ; б) у середовищі без сульфат-іонів чи сірки, відповідно, з цистеїном як джерелом сульфур для асиміляційних потреб клітин (0,15 г/л середовища) та з Fe(III) за концентрацій 0,5; 1,5; 3,5 мМ. У середовище вносили різні об'єми стерильного 50 мМ розчину $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ у 3% лимонній кислоті, яку застосовували для підтримання Fe(III) у розчиненому стані (для запобігання утворенню при рН 7,2 нерозчинного $\text{Fe}(\text{OH})_3$) [4, 19].

Біомасу бактерій визначали колориметрично з використанням фотоелектроколориметра КФК-3 ($\lambda = 340$ нм, оптичний шлях – 3 мм). Коефіцієнт перерахунку залежності екстинкції від маси сухих клітин становив 0,19 і 0,72 для сульфат- і сірковідновлювальних бактерій, відповідно. Концентрацію сульфатів визначали турбідиметричним методом [1], наявність Fe(III) визначали якісно у реакції з $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ [5], концентрацію Fe (II) визначали кількісно спектрофотометричним методом за реакцією взаємодії з о-фенантроліном [12], вміст HS^- іону визначали фотометрично за реакцією взаємодії з *n*-аміно-диметиланіліном з утворенням метиленової сині [20].

Для визначення впливу Fe(III) на ріст і рівень утворення клітинами гідроген сульфід бактерії осаджували центрифугуванням (центрифуга ОС-6М) упродовж 20 хв при 6 тис. об/хв, ресуспендували у стерильному розчині NaCl (0,9%) та за стерильних умов інкубували упродовж 1 год із різними об'ємами стерильного 50 мМ водного розчину $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ (кінцеві концентрації Fe(III): 0; 0,5; 1,5; 3,5 мМ), осаджували центрифугуванням упродовж 20 хв при 6 тис. об/хв, двічі відмивали стерильним фізіологічним розчином і висівали у середовище зі сульфат-іонами або сіркою, після 10 діб росту визначали біомасу, вміст гідроген сульфід та залишкову концентрацію сульфатів у культуральній рідині. Суміш клітин, вирощених у середовищі зі сульфат-іонами чи сіркою та Fe(III), і ферум (II) сульфід осаджували центрифугуванням упродовж 20 хв при 6 тис. об/хв, у культуральній рідині визначали наявність Fe(III) і вміст вільного гідроген сульфід, сумарну концентрацію якого розраховували як суму вільного та зв'язаного у формі FeS . Вміст ферум (II) сульфід

визначали ваговим методом, для цього суміш клітин і FeS зважували, масу феруму (II) сульфідом вираховували як різницю між масою суміші та сухих клітин (вирощених після інкубації зі сіллю металу) і компонентів середовища. Відносну кількість (%) зв'язаного гідроген сульфідом феруму (II) розраховували, виходячи зі співвідношення молярних концентрацій утвореного металосульфідом й іона металу, внесеного до середовища на початку культивування бактерій, приймаючи її за 100%. Результати опрацьовували статистично [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Техногенні водойми сірководобного регіону Прикарпаття, як і стічні води нафтопереробних заводів, підприємств целюлозапаперової промисловості, харчових виробництв поряд зі сполуками сульфуру (сульфатами, гідроген сульфідом) містять значні кількості важких металів. Вміст феруму у водних пробах, відібраних у 2007–2012 роках із глибинної зони водойм затоплених кар'єрів, максимально становить до 0,23 мг/л у Яворівському озері та до 0,78 мг/л у Подорожненському, що перевищує гранично допустиму концентрацію – 0,20 мг/л [2]. У воді Роздільських озер (Чистому, Середньому, Глибокому) його вміст є значно нижчим і не перевищує 0,005 мг/л, що, можливо, є наслідком ефективних рекультиваційних заходів.

Час повного поглинання металів бактеріями коливається від кількох секунд до години після контакту з токсикантом, проте найчастіше достатньо п'яти хвилин [10]. Тому для визначення кінетики росту, утворення гідроген сульфідом та відновлення сульфат-іонів за впливу феруму (III) сульфат- і сірководновлювальні бактерії інкубували впродовж 1 години з $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ за стерильних умов і культивували впродовж 10 діб у середовищі зі сульфат-іонами чи сіркою без феруму (III), щоб уникнути утворення в культуральній рідині нерозчинного FeS, забарвленого у чорний колір. Встановлено, що Fe(III) за концентрацій понад 1,5 мМ значно інгібує ріст і рівень утворення гідроген сульфідом бактеріями *D. desulfuricans* IMB K-6 і *D. acetoxidans*, інкубованими зі сіллю металу (рис. 1).

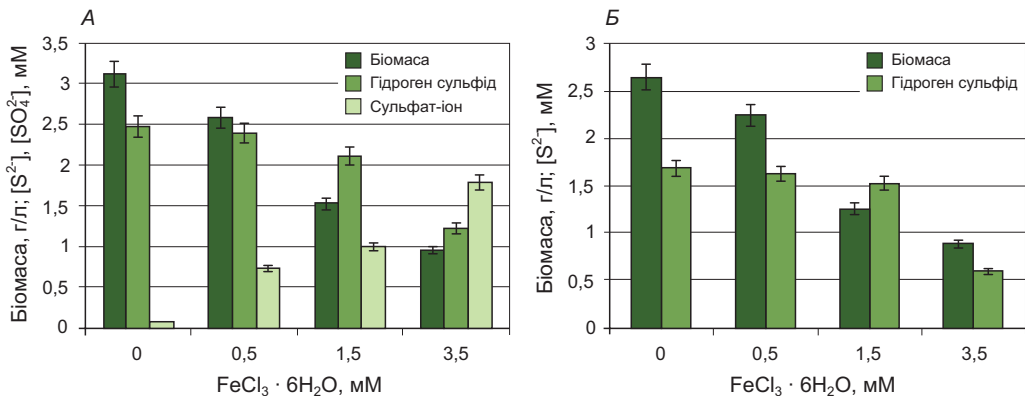


Рис. 1. Біомаса, утворення гідроген сульфідом, відновлення іонів сульфату клітинами *D. desulfuricans* IMB K-6 (А) і *D. acetoxidans* (Б), інкубованими з Fe(III) за концентрацій 0; 0,5; 1,5; 3,5 мМ, після 10 діб росту в середовищі зі сульфат-іонами чи сіркою

Fig. 1. Biomass, hydrogen sulfide formation, sulfate ions reduction by cells of *D. desulfuricans* IMV K-6 (A) and *D. acetoxidans* (B), incubated with Fe(III) at 0; 0.5; 1.5; 3.5 mM concentrations, after 10 days growth in medium with sulfate ions or sulfur

Під час росту *D. desulfuricans* IMB K-6 у середовищі зі сульфат-іонами та з 0,5, 1,5 і 3,5 мМ Fe(III) зі зростанням концентрації іона металу на 10-ту добу виявлено зниження рівня біомаси у 1,5; 1,6 та 1,9 рази й утворення гідроген сульфід у результаті відновлення сульфатів середовища в 1,1; 1,2 та 1,8 рази, відповідно, порівняно з контролем (середовище без Fe(III)) (рис. 2). За умов росту бактерій у середовищі з 0,5 і 1,5 мМ Fe(III) вже на 2-гу і 6-ту доби, відповідно, іони феруму (III) повністю відновилися гідроген сульфідом (який відомий як сильний відновник) до Fe(II). Після 10 діб культивування бактерій у присутності 3,5 мМ іонів феруму (III) утвореного ними гідроген сульфідом виявилось недостатньо для повного відновлення Fe(III) до Fe(II) (табл. 1).

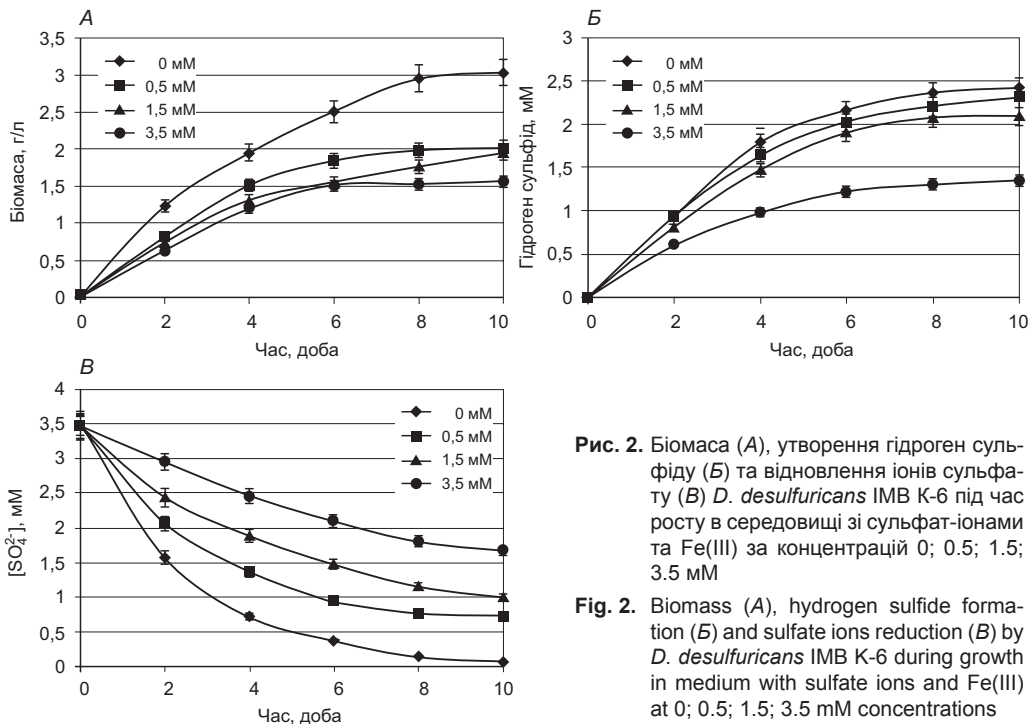


Рис. 2. Біомаса (А), утворення гідроген сульфід (Б) та відновлення іонів сульфату (В) *D. desulfuricans* IMB K-6 під час росту в середовищі зі сульфат-іонами та Fe(III) за концентрацій 0; 0,5; 1,5; 3,5 мМ

Fig. 2. Biomass (A), hydrogen sulfide formation (B) and sulfate ions reduction (B) by *D. desulfuricans* IMB K-6 during growth in medium with sulfate ions and Fe(III) at 0; 0.5; 1.5; 3.5 mM concentrations

Зниження рівня біомаси також виявлено під час росту *D. acetoxidans* у середовищі зі сульфуром та з Fe(III) за впливу зростаючих концентрацій іона металу до 1,9 рази і пригнічення синтезу бактеріями H₂S до 2,4 рази, порівняно з контролем (рис. 3). За наявності у середовищі 0,5 і 1,5 мМ іонів феруму (III) на 2-гу і 10-ту доби росту бактерій, відповідно, Fe(III) повністю відновився гідроген сульфідом до Fe(II). За умов росту бактерій у середовищі з 3,5 мМ іонів феруму (III) навіть на 10-ту добу результати якісної реакції на їхню наявність у культуральній рідині – позитивні (див. табл. 1).

Незважаючи на зниження рівня утворення гідроген сульфідом сульфат- і сірко-відновлювальними бактеріями під час росту у присутності феруму (III), відносна кількість зв'язаного у формі сульфідів іона металу становила 100%, якщо його концентрація у середовищі не перевищувала 1,5 мМ (табл. 2). Очевидно, за цієї концентрації Fe(III) повністю відновлюється гідроген сульфідом до Fe(II) з одночас-

ним утворенням нерозчинного FeS, про що свідчить негативний результат якісної реакції на наявність у культуральній рідині іонів феруму (III). Рівень зв'язування іонів феруму (II) утвореним сульфат- і сірководновлювальними бактеріями гідроген сульфідом становить лише 17,43 і 12,29%, відповідно, за наявності у середовищі 3,5 мМ іонів Fe(III).

Таблиця 1. Відновлення Fe(III)* бактеріями під час росту в середовищі зі сульфат-іонами чи сіркою та Fe(III)

Table 1. Fe(III) reduction by bacteria during growth in medium with sulfate ions or sulfur and Fe(III)

Час культивування, доби	Fe(III), мМ			
	0	0,5	1,5	3,5
<i>D. desulfuricans</i> IMB K-6				
0	–	+	+	+
2	–	–	+	+
4	–	–	+	+
6	–	–	–	+
8	–	–	–	+
10	–	–	–	+
<i>D. acetoxidans</i>				
0	–	+	+	+
2	–	–	+	+
4	–	–	+	+
6	–	–	+	+
8	–	–	+	+
10	–	–	–	+

Примітка: * – результати якісної реакції: “+” – наявність іонів феруму (III); “–” – відсутність іонів феруму (III).

Таблиця 2. Утворення гідроген сульфідів і ферум (II) сульфідів бактеріями після 10 діб росту в середовищі зі сульфат-іонами чи сіркою та Fe(III)

Table 2. Hydrogen sulfide and ferrum (II) sulfide formation by bacteria after 10 days growth in medium with sulfate ions or sulfur and Fe(III)

Fe(III), мМ	[S ²⁻], мМ		Біомаса, г/л	FeS, мМ	Відносна кількість зв'язаного Fe(II), %	Реакція на наявність Fe(III)**
	Сумарна кількість [S ²⁻], мМ	Вільний [S ²⁻], мМ				
<i>D. desulfuricans</i> IMB K-6						
0	2,55	2,55	3,11	–	–	–
0,50	2,44	1,94	2,58	0,50	100,0	–
1,50	2,36	0,86*	1,53*	1,50	100,0	–
3,50	0,72*	0,11*	0,96*	0,61	17,43	+
<i>D. acetoxidans</i>						
0	1,62	1,62	2,65	–	–	–
0,50	1,59	1,09	2,25	0,50	100,0	–
1,50	1,54	0,04*	1,26*	1,50	100,0	–
3,50	0,46*	0,03*	0,88*	0,43	12,29	+

Примітки: * – p<0,05; ** – “+” – наявність іонів феруму (III), “–” – відсутність іонів феруму (III).

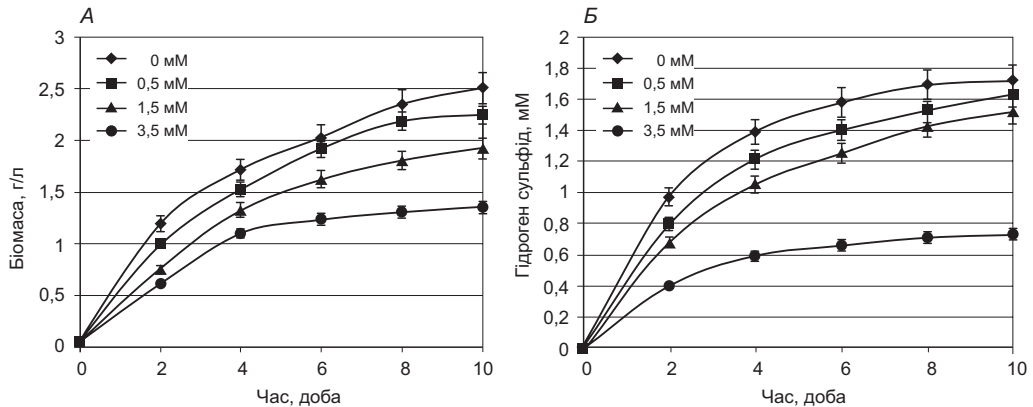


Рис. 3. Біомаса (А) та утворення гідроген сульфід (Б) *D. acetoxidans* під час росту в середовищі зі сіркою і Fe(III) за концентрацій 0; 0,5; 1,5; 3,5 мМ

Fig. 3. Biomass (A) and hydrogen sulfide formation (B) by *D. acetoxidans* during growth in medium with sulfur and Fe(III) at 0; 0.5; 1.5; 3.5 mM concentrations

Для сульфат- і сірковідновлювальних бактерій пріоритетними акцепторами електронів під час окиснення органічних сполук є сульфат і сульфур, відповідно [22]. За наявності у середовищі інших акцепторів електронів, наприклад, таких як Fe(III), Cr(VI), U(VI) чи Mn(IV), їх транспорт у клітину конкурентно інгібується іонами сульфату чи елементарною сіркою [8, 22]. Оскільки у середовищі зі сульфат-іонами та сіркою іони феруму (III) (до 1,5 мМ) повністю відновилися до Fe(II), можна вважати, що це відновлення обумовлене саме їх взаємодією з гідроген сульфідом. У разі збільшення в середовищі концентрації Fe(III) до 3,5 мМ спостерігається інгібування металом дисиміляційної сульфат- чи сіркоредукції, що призводить до зменшення кількості утвореного бактеріями гідроген сульфідом, тому відновлення тривалентного феруму відбувається не повністю.

Відомо, що деякі штами сульфат- і сірковідновлювальних бактерій родів *Desulfovibrio* та *Desulfuromonas*, виділені з різних екологічних ніш, можуть отримувати енергію для росту у разі використання Fe(III) як акцептора електронів [15]. Вивчали цю здатність у виділених нами з Яворівського озера сульфат- і сірковідновлювальних бактерій, щоб оцінити роль цих бактерій у біохімічних перетвореннях феруму в техногенних водних середовищах, збагачених як цим металом, так і значною кількістю органічних речовин. Для цього бактерії культивували у середовищі без сульфатів і сірки, відповідно, з Fe(III), а для забезпечення конструктивних потреб клітин у сульфурі до середовища додавали сірковмісну амінокислоту цистеїн (0,15 г/л) [9].

Під час росту *D. desulfuricans* IMB K-6 у середовищі, в якому єдиним акцептором електронів є тривалентний ферум, зі зростанням концентрацій іона металу на 10-ту добу виявлене зростання рівня біомаси від 1,11 до 3,33 г/л та нагромадження Fe(II): 0,49; 1,49; 3,50 мМ, відповідно до вмісту феруму (III) в середовищі на початку культивування (рис. 4). Згідно з результатами якісної реакції на наявність іонів тривалентного феруму в культуральній рідині, за умов росту бактерій у середовищі з 0,5; 1,5 і 3,5 мМ Fe(III) вже на 6-ту, 8-му і 10-ту доби, відповідно, Fe(III) не виявлено, очевидно, він повністю відновився до Fe(II) (табл. 3).

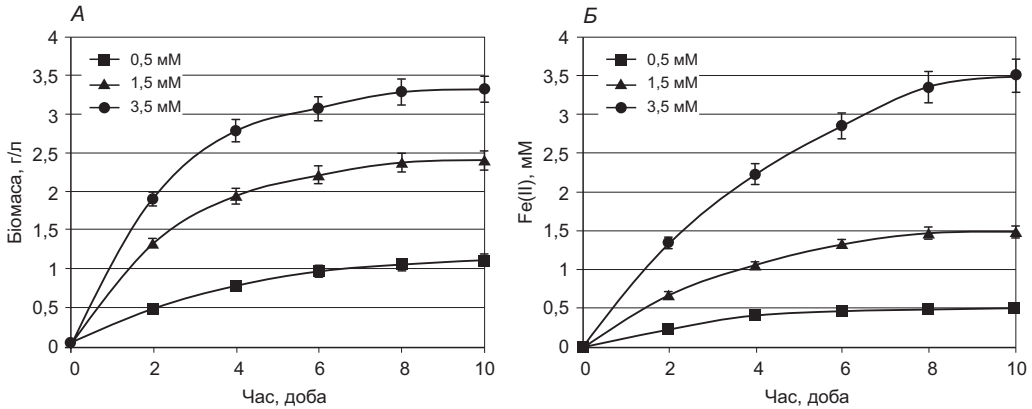


Рис. 4. Біомаса (А) та нагромадження Fe(II) (Б) *D. desulfuricans* IMB K-6 під час росту в середовищі без сульфат-іонів із цистеїном та з Fe(III) за концентрацій 0,5; 1,5; 3,5 мМ

Fig. 4. Biomass (A) and Fe(II) accumulation (B) by *D. desulfuricans* IMB K-6 during growth in medium without sulfate ions with cysteine and with Fe(III) at 0.5; 1.5; 3.5 mM concentrations

Таблиця 3. Відновлення Fe(III)* бактеріями під час росту в середовищі без сульфат-іонів чи сірки з цистеїном та з Fe(III)

Table 3. Fe(III) reduction by bacteria during growth in medium without sulfate ions or sulfur with cysteine and with Fe(III)

Час культивування, добы	Fe(III), мМ		
	0,5	1,5	3,5
<i>D. desulfuricans</i> IMB K-6			
0	+	+	+
2	+	+	+
4	+	+	+
6	-	+	+
8	-	-	+
10	-	-	-
<i>D. acetoxidans</i>			
0	+	+	+
2	+	+	+
4	+	+	+
6	-	+	+
8	-	-	+
10	-	-	-

Примітка: * – результати якісної реакції: “+” – наявність іонів феруму (III); “-” – відсутність іонів феруму (III).

Після 10 діб росту *D. acetoxidans* у середовищі з Fe(III) зі зростанням концентрації іона металу теж виявлено збільшення виходу біомаси від 1,10 до 2,86 г/л та зростання концентрації Fe(II): 0,50; 1,48; 3,49 мМ (рис. 5). За наявності у середовищі 0,5; 1,5 і 3,5 мМ Fe (III) на 6-ту, 8-му і 10-ту доби, відповідно, бактерії повністю відновили Fe(III) до Fe(II) (див. табл. 3).

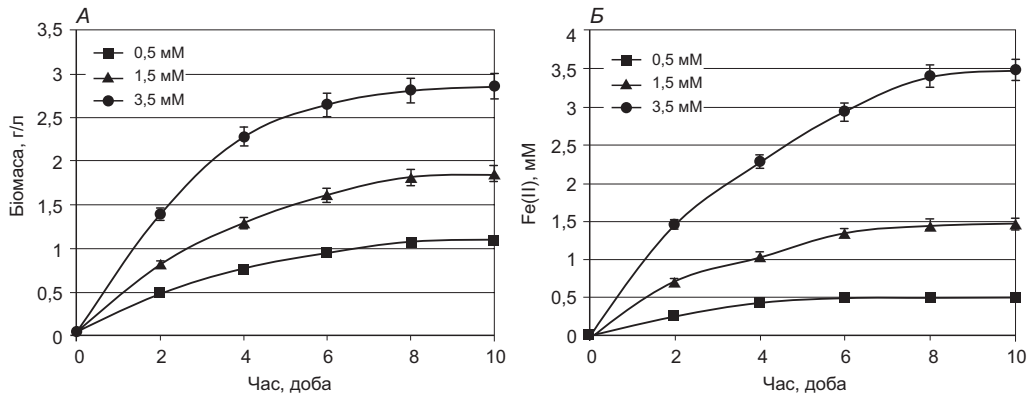


Рис. 5. Біомаса (А) та нагромадження Fe(II) (Б) *D. acetoxidans* під час росту в середовищі без сірки з цистеїном та з Fe(III) за концентрацій 0,5; 1,5; 3,5 мМ

Fig. 5. Biomass (A) and Fe(II) accumulation (B) by *D. acetoxidans* during growth in medium without sulfur with cysteine and with Fe(III) at 0.5; 1.5; 3.5 mM concentrations

На відміну від повного відновлення іонів феруму (III) утвореним сульфат- і сірководновлювальними бактеріями гідроген сульфідом лише за концентрацій до 1,5 мМ у середовищі з обома акцепторами електронів (сульфат-іонами/сульфуром та Fe(III)) (див. табл. 1, 2), у середовищі з Fe(III) як єдиним акцептором електронів тривалентний ферум відновлюється бактеріями практично повністю за всіх концентрацій (табл. 4). Подібні закономірності спостерігаються і при відновленні сульфат- і сірководновлювальними бактеріями U(VI), Cr(VI) та Mn(IV) [14, 22].

Таблиця 4. Утворення Fe(II) бактеріями після 10 діб росту в середовищі без сульфат-іонів чи сірки з цистеїном та з Fe(III)

Table 4. Fe(II) formation by bacteria after 10 days growth in medium without sulfate ions or sulfur with cysteine and with Fe(III)

Fe(III), мМ	Fe(II), мМ	Відносна кількість утвореного Fe(II), %
<i>D. desulfuricans</i> IMB K-6		
0,50	0,50	100,0
1,50	1,49	99,3
3,50	3,49	99,7
<i>D. acetoxidans</i>		
0,50	0,50	100,0
1,50	1,48	98,7
3,50	3,49	99,7

Якщо порівняти ріст бактерій у середовищі зі сульфат-іонами/сіркою і лише з Fe(III) за концентрації 3,5 мМ, то видно, що їхня біомаса суттєво не відрізняється або є навіть дещо вищою при рості у середовищі з тривалентним ферумом. Оскільки у складі середовища Кравцова-Сорокіна концентрація акцептора електронів (сульфат-іонів чи сірки) становить не менш ніж 3,5 мМ (вміст інших компонентів однаковий), то можна вважати, що вихід біомаси напряму залежить

від окисно-відновного потенціалу акцептора електронів, який найвищий у окисно-відновної пари Fe(III)/ Fe(II) ($E'_0 = +0,77$ В), нижчий у HSO_3^- (який утворюється при відновленні сульфатів) / HS^- ($E'_0 = -0,12$ В), і найнижчий у S^0 / HS^- ($E'_0 = -0,27$ В). Використання акцепторів електронів (таких як фумарат, нітрат, нітрит, Fe(III) тощо) з високим окисно-відновним потенціалом дає бактеріям змогу здійснювати анаеробне дихання із запасанням більшої кількості енергії у вигляді електрохімічного протонного потенціалу й у результаті реакцій електронтранспортного фосфорилування отримувати вищий вихід АТФ [9]. Нагромадження Fe(II) у середовищі з тривалентним ферумом як єдиним акцептором електронів свідчить про те, що у сульфат- і сірководновлювальних бактерій детоксикація феруму (III) відбувається шляхом його відновлення до менш токсичної форми, оскільки двовалентний ферум навіть за концентрації 3,5 мМ не пригнічує росту цих мікроорганізмів. Здатність відновлювати Fe(III) утвореним у процесі дисиміляційної сульфат- і сіркоредукції водородом сульфідом, а також використовувати його як акцептор електронів, у сульфат- і сірководновлювальних бактерій практично не відрізнялася. Отримані нами дані дають підстави зробити висновок про важливу роль цих бактерій у геохімічному циклі феруму у водних середовищах, які зазнали антропогенного впливу.

ВИСНОВОК

Сульфат- і сірководновлювальні бактерії, *D. desulfuricans* і *D. acetoxidans*, виділені з водойми Яворівського сіркового родовища, відновлюють іони феруму (III) водородом сульфідом під час росту в середовищі зі сульфатом і сульфуром, а також використовують Fe(III) як кінцевий акцептор електронів із відновленням його до Fe(II) під час росту в середовищі без сульфат-іонів та сульфур.

1. Бабко А.К., П'ятницький І.В. **Кількісний аналіз**. Київ: Вища школа, 1974. 243 с.
2. Грушко Я.М. **Вредные неорганические соединения в промышленных сточных водах**. Ленинград: Химия, 1979. 161 с.
3. Деркач М.П., Гумецький Р.Я., Чабан М.Є. **Курс варіаційної статистики**. Київ: Вища школа, 1977. 208 с.
4. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. **Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд**. Москва: Наука, 1972. 221 с.
5. Крешков А.П. **Основы аналитической химии. Качественный и количественный анализ**. Москва: Госхимиздат, 1961. Кн. 1. 636 с.
6. Кушкевич І., Гнатуш С., Гудзь С. Вплив важких металів на клітини мікроорганізмів. **Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2007; 45: 3–28.
7. Мороз О.М., Колісник Я.І., Подпригора О.І. та ін. Мікрофлора води озера „Яворівське”. **Наук. вісник Ужгород. ун-ту. Сер. біол.**, 2008; 24: 131–138.
8. Перетятко Т., Гудзь С., Галушка А. Використання металів як кінцевих акцепторів електронів сульфатвідновлювальними бактеріями. **Біологічні студії/Studia Biologica**, 2009; 3(3): 141–158.
9. Современная микробиология. **Прокариоты** / Ред. Й. Ленгелер, Г. Дреус, Г. Шлегель. Москва: Мир, 2005; 1: 654 с.
10. Таширеву А.Б. Взаимодействие микроорганизмов с металлами. **Микробиол. журнал**, 1995; 57(2): 95–104.
11. Чайка О., Перетятко Т., Гудзь С. Сірководновлювальні бактерії водойм Язівського сіркового родовища. **Наук. вісник Ужгород. ун-ту. Сер. біол.**, 2010; 28: 52–55.
12. Harris D.S. **Quantitative Chemical Analysis**. 2003: 258–261, 407–422.

13. Laverman A.M., Blum J.S., Schaefer J.K. et al. Growth of strain SES-3 with arsenate and other diverse electron acceptors. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1995; 61(10): 3556–3561.
14. Lovley D. Dissimilatory Fe(III)- and Mn(IV)-reducing prokaryotes / **The Prokaryotes**. Ed. M. Dworkin. New York: Springer-Verlag, LLC, 2005.
15. Lovely D.R. Dissimilatory metal reduction. **Annu. Rev. Microbiol.**, 1993; 47: 263–290.
16. Lovley D.R., Phillips E.J.P. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its c_3 cytochrome. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1994; 60(2): 726–728.
17. Lovley D.R., Roden E.E., Phillips E.J.P., Woodward J.C. Enzymatic iron and uranium reduction by sulfate-reducing bacteria. **Marine Geol.**, 1993; 113(1–2): 41–53.
18. Macy J.M. *Chrysiogenes arsenatis* gen. nov., sp. nov., a new arsenate-respiring bacterium isolated from gold mine wastewater. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, 1996; 46(4): 1153–1157.
19. Roden E.E., Lovley D.R. Dissimilatory Fe(III) reduction by the marine microorganism *Desulfuromonas acetoxidans*. **Appl. and Env. Microbiol.**, 1993; 59(3): 734–742.
20. Sugiyama M. Reagent composition for measuring hydrogen sulfide and method for measuring hydrogen / **U.S. Pat. 6340596 B1 USA, Int. Cl. G 01 N 33/00**, 2002.
21. Tebo B.M. Metal precipitation by marine bacteria: potential for biotechnological applications / **Genetic Engineering – Principles and Methods**. Ed. J.K. Setlow. New York: Plenum Press, 1995. P. 231–263.
22. Tebo B.M., Obratsova A.Y. Sulfate-reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV), and Fe(III) as electron acceptors. **FEMS Microbiology Letters**, 1998; 162: 193–198.

REDUCTION OF FERRUM(III) BY SULFATE REDUCING AND SULFUR REDUCING BACTERIA

O. M. Moroz, G. V. Yavorska, N. O. Muravel, I. R. Klym

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: moroz_oksana@yahoo.com*

During growth in medium with 3.5 mM Fe(III), the biomass and hydrogen sulfide formation level by isolated from technogenic reservoir of Yavoriv sulfur deposit bacteria *Desulfovibrio desulfuricans* IMV K-6 and *Desulfuromonas acetoxidans* decreased nearly twice, at concentrations up to 1.5 mM Fe(III) completely reduced by hydrogen sulfide to Fe(II) with formation of insoluble FeS. In medium with Fe(III) as sole electrons acceptor ferrum (III) at 0.5–3.5 mM concentrations reduced to Fe(II) by sulfate and sulfur reducing bacteria almost completely. Investigated bacteria may be used in the processes of water environment purification from toxic ferrum (III) compounds.

Keywords: ferrum (III), sulfate and sulfur reducing bacteria, hydrogen sulfide.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРРУМА(III) СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИМИ И СЕРОВОССТАНАВЛИВАЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ

О. М. Мороз, Г. В. Яворская, Н. О. Муравель, И. Р. Клым

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: moroz_oksana@yahoo.com*

При росте в среде с 3,5 mM Fe (III) биомасса и уровень образования гидроген сульфиды выделенными из техногенного водоёма Яворовского серного рудника

бактериями *Desulfovibrio desulfuricans* ИМВ К-6 и *Desulfuromonas acetoxidans* снижались почти вдвое, при концентрациях до 1,5 мМ Fe(III) полностью восстанавливался водород сульфидом до Fe (II) с образованием нерастворимого FeS. В среде с Fe(III) в качестве единственного акцептора электронов трёхвалентный феррум при концентрациях 0,5–3,5 мМ восстанавливался до Fe(II) сульфат- и серовосстанавливающими бактериями практически полностью. Исследованные бактерии могут быть использованы в процессах очистки водной среды от токсических соединений феррума (III).

Ключевые слова: феррум (III), сульфатвосстанавливающие и серовосстанавливающие бактерии, водород сульфид.

Одержано: 22.06.2012