Biol. Stud. 2010: 4(2); 39–48 • DOI: https://doi.org/10.30970/sbi.0402.092
www.http://publications.lnu.edu.ua/journals/index.php/biology

УДК 579.[222:846.2:26:695]:546.3

ВІДНОВЛЕННЯ СПОЛУК ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМУ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ

Т. Б. Перетятко, С. П. Гудзь

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: taras.peretyatko@gmail.com

Із водойм Язівського сіркового родовища (Прикарпаття, Україна) виділені бактерії, що здійснюють дисиміляційне відновлення сульфату. 12 культур виявилися резистентними до наявності у середовищі Cr (VI) в концентрації 1 мМ. За наявності у середовищі 5 мМ Cr (VI) біомаса бактерій і вміст гідроген сульфіду знижувалися приблизно удвічі. За відсутності в середовищі сульфату бактерії використовують Cr (VI) як кінцевий акцептор електронів. За наявності у середовищі сульфату і Cr (VI) спостерігається відновлення останнього гідроген сульфідом. Cr (III) у концентраціях 1–5 мМ не викликає помітної інгібувальної дії на сульфатвідновлювальну активність. Здатність виділених бактерій детоксикувати Cr (VI) шляхом його використання як кінцевого акцептора електронів і відновлення за рахунок утворюваного ними гідроген сульфіду роблять їх перспективними у використанні для біоремедіації навколишнього середовища від сполук токсичного шестивалентного хрому.

Ключові слова: шестивалентний хром, сульфатредукція, сульфатвідновлювальні бактерії, гідроген сульфід, сульфат, біоремедіація.

ВСТУП

Важливою екологічною проблемою є забруднення довкілля сполуками важких металів, зокрема хрому. У невеликих кількостях цей елемент потрібен для живих організмів. Тривалентний хром бере участь у регуляції метаболізму глюкози і ліпідів у ссавців, стабілізації третинної структури білків, підтриманні конформації РНК і ДНК [6]. За підвищених концентрацій шестивалентний хром виявляє токсичну, мутагенну та канцерогенну дію, пришвидшує процеси апоптозу [16, 27, 54]. Хром розглядається як один із найнебезпечніших забруднювачів навколишнього середовища [15, 54]. Сполуки хрому широко використовуються у різних галузях промисловості (антикорозійні агенти, виробництво фунгіцидів, пігментів, фарб, дублення шкіри, специфічне оброблення деревини тощо) [5].

У природі найчастіше трапляються високотоксичні сполуки шестивалентного хрому (Cr (VI), і малорозчинні менш токсичні форми Cr (III) [25, 26]. Сполуки п'яти– (Cr (V), чотири– (Cr (IV) і двовалентного (Cr (II) хрому нестабільні й у природі трапляються рідко [27].

Токсична дія хрому (III) пов'язана з його здатністю заміщувати магній у ДНК-полімеразі та в інших ферментах, зв'язуватися з PO_4^{3-}–групами, реагувати з карбонільними і сульфгідрильними групами ферментів, впливати на процеси реплікації і транскрипції [12, 40, 42, 49]. Cr (VI) може викликати перфорацію носової перегородки, астму, бронхіт, запалення легень і печінки, рак бронхів. При потраплянні сполук шестивалентного хрому на шкіру може виникати шкірна алергія, дерматити, некроз тощо [22, 29].

Сполуки шестивалентного хрому у підвищених концентраціях пригнічують ріст мікроорганізмів. Описані резистентні до хрому мікроорганізми, виділені зі стічних вод [4, 7, 24, 31, 41, 55]. Стійкі до хрому бактерії та дріжджі отримані також експериментально [4, 17]. Резистентність до хромату у мікроорганізмів пов'язують із пошкодженням системи транспорту сульфату, редукцією хромату і зі зниженням здатності поглинати хром [4, 47]. Одним із основних шляхів появи резистентних до хромату мікроорганізмів може бути відновлення Cr (VI) до Cr (III). Відновлювати шестивалентний хром можуть мікроорганізми, що належать до родів: *Acinetobacter* [19], *Aerococcus* [51], *Aeromonas* [51], *Aspergillus* [23], *Bacillus* [57], *Corynebacterium* [55], *Deinococcus* [20], *Desulfomicrobium* [8, 9], *Desulfovibrio* [13, 33], *Enterobacter* [21, 43, 56], *Escherichia* [14, 46], *Microbacterium* [38], *Micrococcus* [51], *Ochrobactrum* [19], *Pseudomonas* [10, 11, 32], *Rhodobacter* [36], *Shewanella* [35], *Staphylococcus* [44], *Streptomyces* [18], *Vibrio* [28] і *Zoogloea* [50]. Ефективно відновлюють Cr (VI) змішані культури сульфатвідновлювальних бактерій [48].

Важливу роль у відновній детоксикації Cr(VI) можуть відігравати позаклітинні редукуючі речовини, що виділяються мікроорганізмами, наприклад, гідроген сульфід [30].

Метою нашої роботи було дослідити здатність сульфатвідновлювальних бактерій відновлювати шестивалентний хром.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом досліджень були сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з водойм Язівського сіркового родовища (Прикарпаття, Україна).

Для виділення сульфатвідновлювальних бактерій використовували середовище Постгейта В [39] такого складу (г/л): калій дигідрофосфат – 0,5; амоній хлорид – 1,0; кальцій сульфат дигідрат – 1,0 ; магній сульфат гептагідрат – 2,0; натрій лактат – 3,5; дріжджовий екстракт – 1,0; ферум сульфат гептагідратат – 0,5; кислота аскорбінова – 1,0. Культури вирощували протягом 14 днів при 28°С в анаеростатах Genbox jars. Для поглинання кисню використовували генератори GENbox anaer (Франція).

В експериментах із дослідження впливу хрому на бактерії їх культивували у середовищі Постгейта С такого складу (г/л): калій дигідрофосфат – 0,5; амоній хлорид – 1,0; натрій сульфат – 4,5; кальцій хлорид гексагідрат – 0,06; магній сульфат гептагідрат – 0,06; натрій сульфат – 6; дріжджовий екстракт – 1; ферум сульфат гептагідрат – 0,004; натрій цитрат дигідрат – 0,3: pH середовища – 7,6 [39]. Cr (VI) вносили у формі калій біхромату, Cr (III) – хром (III) хлориду в концентраціях 0,1 мМ, 0,5 мМ, 1 мМ, 5 мМ після стерилізації.

У дослідах із вивчення здатності сульфатвідновлювальних бактерій використовувати Cr (VI) як кінцевий акцептор електронів зі середовища виключали іони SO_4^{2-}.

Бактерії культивували у пробірках об'ємом 20 мл. Для створення анаеробних умов пробірки заповнювали середовищем так, щоб у них не залишалося пухирців повітря. Середовище засівали суспензією бактерій у розрахунку не менше 2–3 мг клітин на 1 л середовища.

Біомасу визначали фотоелектроколориметрично (λ=340 нм, кювета з оптичним шляхом 3 мм).

Вміст сульфатів визначали турбідиметрично після їх осадження барій хлоридом. У ролі стабілізатора суспензії використовували гліцерин [3].

Кількість гідроген сульфіду у культуральній рідині визначали фотометрично з використанням фотоелектроколориметра КФК-3 (λ=665 нм, кювета з оптичним шляхом 30 мм). Метод ґрунтується на взаємодії гідроген сульфіду з *п*-амінодиметиланіліном з утворенням метиленової сині. Реакційна суміш мала такий склад: 0,16 мМ розчин цитрату цинку – 10 мл; дистильованої води – 1,98 мл; розчину *п*-амінодиметиланіліну – 4 мл і 20 мкл досліджуваного розчину. Через 5 хв додавали 1 мл хлориду феруму і фотометрували [52].

Вміст Cr (VI) у культуральній рідині визначали спектрофотометрично після осадження клітин центрифугуванням при 8000 об./хв протягом 20 хв. Метод ґрунтується на взаємодії Cr (VI) з дифенілкарбазидом у кислому середовищі з утворенням комплексної сполуки, забарвленої в рожевий колір, з максимумом поглинання при 540 нм. Реакційна суміш мала такий склад: 1 мл культуральної рідини, 0,1 мл 1 н розчину сульфатної кислоти, 0,1 мл 1% розчину дифенілкарбазиду в 96% етиловому спирті [34]. Про відновлення Cr (VI) гідроген сульфідом до Cr (III) судили на основі зменшення концентрації шестивалентного хрому.

Наявність Cr (III) визначали після його окиснення гідроген пероксидом до Cr (VI) у лужному середовищі [1].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми „Microsoft Excel 2003". Вибір тактики статистичної обробки і підготовку даних для аналізу здійснювали, базуючись на загальноприйнятих методах при рівні достовірності $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для виділення сульфатвідновлювальних бактерій використовували проби води, відібрані з водойм на території Язівського сіркового родовища. Проби висівали на чашки Петрі в розрахунку 100–150 колоній на чашку. Сульфатвідновлювальні бактерії відбирали на середовищі, що містило сіль двовалентного заліза. Утворений ними гідроген сульфід при взаємодії з Fe (II) утворює ферум (II) сульфід, який надає колоніям чорного забарвлення. Для виділення чистих культур проводили багаторазові розсіви окремих колоній. Чистоту культур контролювали також мікроскопічно.

Відомо, що Cr (VI) у концентраціях 0,1–1 мМ суттєво пригнічує ріст бактерій різних таксономічних груп, а у концентрації 1 мМ і більше виявляє летальну дію на більшість із них. Хромрезистентні бактерії стійкі до концентрацій Cr (VI) 0,1–13 мМ [7, 31, 45]. Бактерії, що не втрачають життєдіяльності за концентрації Cr (VI) понад 1 мМ, можуть знайти практичне застосування для очищення середовища від сполук хрому.

Для селекції стійких до Cr (VI) штамів виділені сульфатвідновлювальні бактерії перевіряли на здатність рости за наявності у середовищі хрому (VI) в концентрації

1 мМ. Із відібраних 35 культур приблизно третина росли за наявності в середовищі 1 мМ Cr (VI). Їхні біомаси у середовищі з Cr (VI) і без нього суттєво не відрізнялися (рис. 1, *а–г*), що свідчило про їхню стійкість до підвищених концентрацій шестивалентного хрому.

Cr (VI) у концентрації до 5 мМ пригнічував ріст бактерій і утворення ними гідроген сульфіду більше, ніж у два рази (рис. 1, *а* і *д*), а за концентрації хрому 10 мМ бактерії не росли.

Для сульфатвідновлювальних бактерій пріоритетним акцептором електронів при окисненні органічних сполук слугує сульфат. Відомо [37], що за наявності

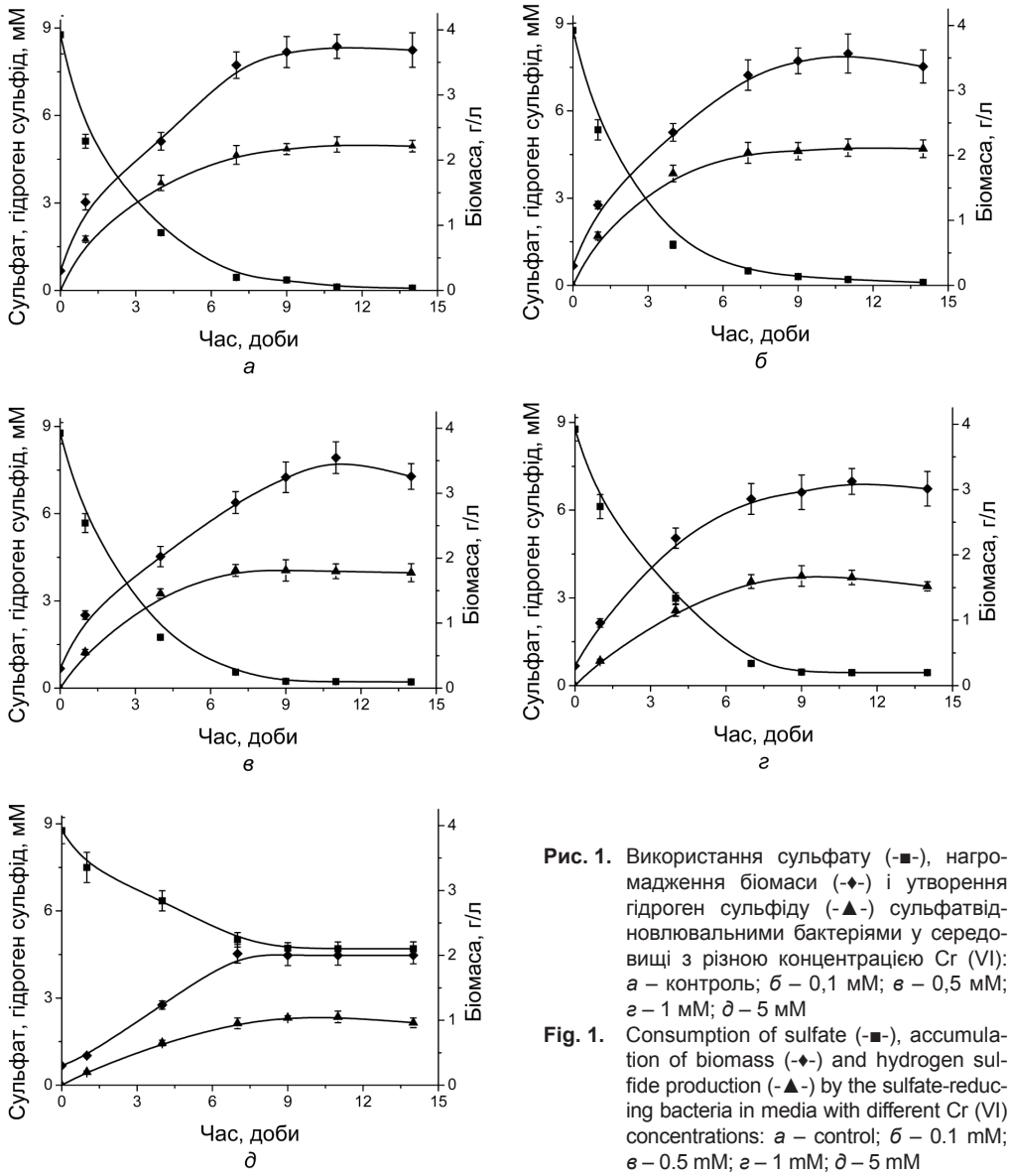

Рис. 1. Використання сульфату (-■-), нагромадження біомаси (-♦-) і утворення гідроген сульфіду (-▲-) сульфатвідновлювальними бактеріями у середовищі з різною концентрацією Cr (VI): *а* – контроль; *б* – 0,1 мМ; *в* – 0,5 мМ; *г* – 1 мМ; *д* – 5 мМ

Fig. 1. Consumption of sulfate (-■-), accumulation of biomass (-♦-) and hydrogen sulfide production (-▲-) by the sulfate-reducing bacteria in media with different Cr (VI) concentrations: *а* – control; *б* – 0.1 mM; *в* – 0.5 mM; *г* – 1 mM; *д* – 5 mM

у середовищі SO_4^{2-} і Cr (VI) сульфат конкурентно інгібує транспорт хрому в клітину. У нашому випадку, незважаючи на наявність у середовищі обидвох акцепторів електронів, шестивалентний хром практично повністю відновлюється, що обумовлено його взаємодією з гідроген сульфідом, який виділяється бактеріями у процесі дисиміляційної сульфатредукції. Це підтверджують досліди, у яких бактерії вирощували з різними концентраціями Cr (VI) (рис. 1, таблиця). Cr (VI) у концентрації 0,1–1 мМ практично не виявляв пригнічуючої дії на ріст бактерій. При збільшенні його концентрації у середовищі до 5 мМ спостерігалося пригнічення росту бактерій і сульфатредукції, що, у свою чергу, призводить до зниження вмісту гідроген сульфіду, і відновлення шестивалентного хрому відбувається лише частково.

Зміна концентрації Cr (VI) при культивуванні хромрезистентних сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі зі шестивалентним хромом і сульфатом

Changes of Cr (VI) concentration during the cultivation of chromium-resistant sulfate-reducing bacteria in the medium with Cr (VI) and sulfate

Вихідна концентрація Cr (VI), мМ	Залишкова концентрація Cr (VI), мМ	Відновлення Cr (VI), %
0,1	0,003	97
0,5	0,02	96
1,0	0,02	98
5,0	3,15	37

Мікроорганізми здатні використовувати іони важких металів зі змінною валентністю як акцептори електронів. При цьому відбувається їхнє відновлення і перетворення до менш токсичних форм. Такий шлях детоксикації описаний для Cr (VI), U (VI), Fe (III) і Mn (IV) [53].

У подальших експериментах дослідили здатність сульфатвідновлювальних бактерій рости в середовищі з Cr (VI) за відсутності сульфату, що давало можливість з'ясувати, чи можуть ці бактерії використовувати шестивалентний хром як кінцевий акцептор електронів при окисненні органічних речовин. Виявилося (рис. 2), що за наявності у середовищі лише Cr (VI) ріст бактерій суттєво не відрізняється від того показника, коли бактерії вирощували у середовищі зі сульфатом (рис. 1, *а*).

Сульфатвідновлювальні бактерії повільно ростуть у середовищі зі сульфатом, нагромаджуючи відносно невелику біомасу, що становить 3,0–3,5 г/л. Такого ж рівня біомаса сягає у середовищі, в якому єдиним акцептором електронів є шестивалентний хром у концентрації 0,1–1 мМ (рис. 2). За концентрації Cr (VI) 5 мМ біомаса культури сягала максимального рівня, але в середовищі ще можна було виявити велику кількість шестивалентного хрому, що, очевидно, пов'язано з переходом культури у стаціонарну фазу росту із різким сповільненням окисно-відновних реакцій, а отже, і зниженням потреби в акцепторі електронів, яким у даному випадку є Cr (VI). Подібні закономірності спостерігаються і при рості сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі зі сульфатом – природним акцептором електронів [2].

На рис. 3 показаний ріст сульфатвідновлювальних бактерій у присутності Cr (III). Вони показують, що тривалентний хром у концентрації 1–5 мМ не пригнічує ріст бактерій та їхню сульфатвідновлювальну активність.

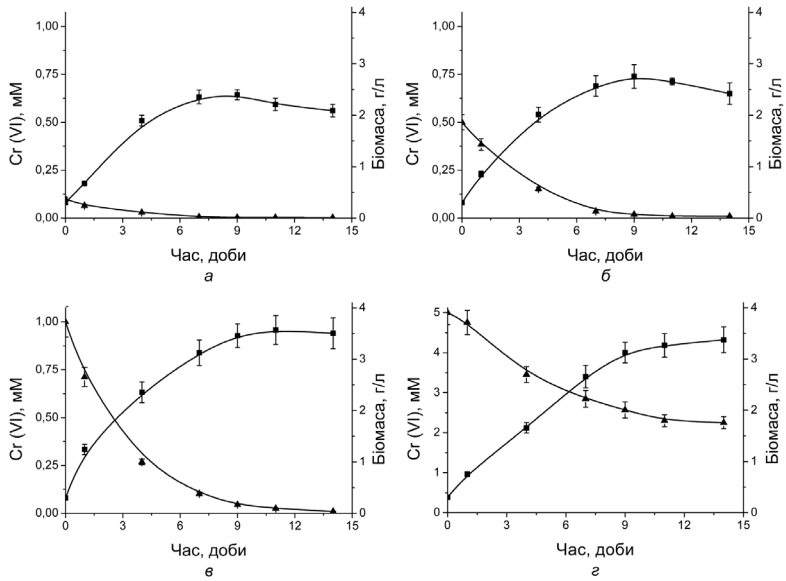

Рис. 2. Зміни концентрації хрому (VI) (-▲-) і нагромадження біомаси (-■-) сульфатвідновлювальними бактеріями у середовищі без сульфату з різною концентрацією Cr (VI): *а* – 0,1 мМ; *б* – 0,5 мМ; *в* – 1 мМ; *г* – 5 мМ

Fig. 2. Changes of chromium (VI) concentration (-▲-) and biomass (-■-) accumulation by the sulfate-reducing bacteria in the media without sulfate with different Cr (VI) concentrations: *а* – 0.1 mM; *б* – 0.5 mM; *в* – 1 mM; *г* – 5 mM

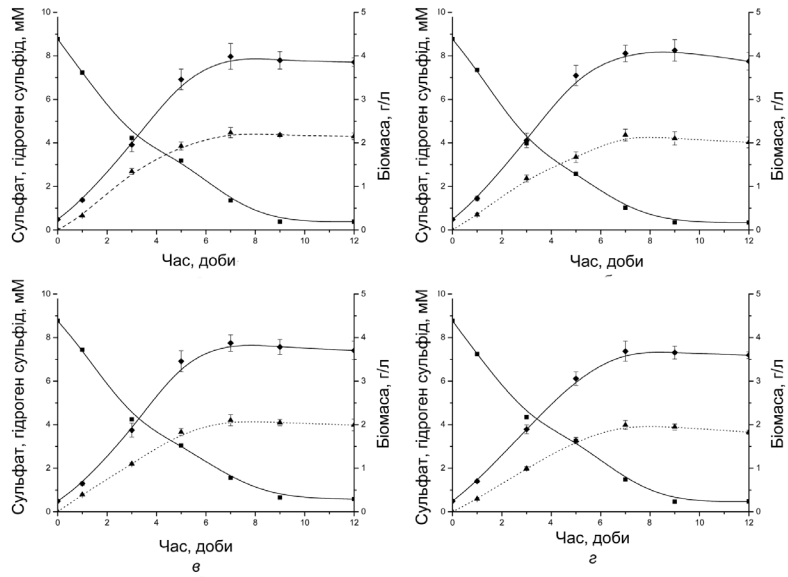

Рис. 3. Використання сульфату (-■-), нагромадження біомаси (-♦-) і утворення сульфіду (-▲-) сульфатвідновлювальними бактеріями у середовищі з різними концентраціями Cr (III): *а* – без хрому; *б* – 1 мМ; *в* – 2 мМ; *г* – 5 мМ

Fig. 3. Consumption of sulfate (-■-), accumulation of biomass (-♦-) and hydrogen sulfide production (-▲-) by the sulfate-reducing bacteria in media with different Cr (III) concentrations: *а* – without; *б* –1 mM; *в* – 2 mM; *г* – 5 mM

Якісна реакція на Cr (III) показала, що у процесі культивування бактерій з Cr (VI) у середовищі нагромаджується тривалентний хром, чим підтверджується той факт, що у сульфатвідновлювальних бактерій детоксикація шестивалентного хрому відбувається шляхом його відновлення до менш токсичної форми.

ВИСНОВОК

Із водойм, розташованих на території Язівського сіркового родовища, виділені сульфатвідновлювальні бактерії, стійкі до підвищених концентрацій Cr (VI). За наявності в середовищі сульфату бактерії відновлюють шестивалентний хром гідроген сульфідом – продуктом дисиміляційної сульфатредукції, а при рості у середовищі з Cr (VI) за відсутності SO_4^{2-} використовують хром як кінцевий акцептор електронів, відновлюючи його до Cr (III).

1. *Крешков А.П.* **Основы аналитической химии**. Книга 1. – М.: Госхимиздат, 1961. – 640 с.
2. *Перетятко Т., Гнатуш С., Гудзь С.* Утворення сульфіду *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 за різних умов культивування. **Вісник Львів. ун-ту. Серія біол**, 2007; 43: 180–184.
3. *Почвы*. Метод определения ионов сульфата в водной вытяжке. **ГОСТ 26426-85**. М.: Изд-во стандартов, 1985.
4. *Федорович Д.В., Кшемінська Г.П., Баб'як Л.Я.* Можливості використання дріжджів для очищення стічних вод, забруднених сполуками хрому. **Журн. агробіол. та екол**, 2005; 2(1–2).
5. *Allen H.E., Garrison A.W., Luther G.W*. **Metals in Surface Waters**. Chelsea, Michigan: Ann Arbor Press, 1998. 262 p.
6. *Anderson R.A*. Chromium, glucose intolerance and diabetes. **J. Am. Coll. Nutr**, 1998; 17(6): 548–555.
7. *Basu M., Bhattacharya S., Paul A.K.* Isolation and characterization of chromium-resistant bacteria from tannery effluents. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, 1997; 58(4): 535–542.
8. *Battaglia-Brunet F., Foucher S., Denamur A.* et al. Reduction of chromate by fixed films of sulfate-reducing bacteria using hydrogen as an electron source. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol**, 2002; 28(3): 154–159.
9. *Battaglia-Brunet F., Foucher S., Denamur A.* et al. Chromate reduction at low sulphate concentration in hydrogen-fed bioreactors. **Environ. Technol**, 2004; 25(1): 101–109.
10. *Bopp L.H., Chakrabarty A.M., Ehrlich H.L*. Chromate resistance plasmid in *Pseudomonas fluorescens*. **J. Bacteriol**, 1983; 155 (3): 1105–1109.
11. *Bopp L.H., Elrich H.L*. Chromate resistance and reduction in *Pseudomonas fluorescens* strain LB300. **Arch. Microbiol**, 1988; 150(5): 426–431.
12. *Cervantes C., Campos-García J., Devars S.* et al. Interactions of chromium with microorganisms and plants. **FEMS Microbiol. Rev**, 2001; 25(3): 335–347.
13. *Chardin B., Giudici-Orticoni M.T., De Luca G.* et al. Hydrogenases in sulfate-reducing bacteria function as chromium reductase. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, 2003; 63(3): 315–321.
14. *Chirwa E.M.N., Wang Y*. Simultaneous chromium (VI) reduction and phenol degradation i an anaerobic consortium of bacteria. **Wat. Res**, 2000; 34(7): 2376–2384.
15. *Committee* on Ground Water Cleanup Alternatives: **Alternatives for Ground Water Cleanup**. Washington D.C., National Academy Press, 1994.
16. *Costa M.* Toxicology and carcinogenicity of Cr (VI) in animal models and humans. **Crit. Rev. Toxicol**, 1997; 27(5): 431–442.
17. *Czako-Ver K., Batie M., Raspor P.* et al. Hexavalent chromium uptake by sensitive and tolerant mutants of *Schizosaccharomyces pombe*. **FEMS Microbiol. Lett**, 1999; 178(1): 109–115.
18. *Desjardin V., Bayard R., Huck N.* et al. Effect of microbial activity on the mobility of chromium in soils. **Waste Manag**, 2002; 22(2): 195–200.

19. *Francisco R., Alpoim M.C., Morais P.V*. Diversity of chromium-resistant and -reducing bacteria in a chromium-contaminated activated sludge. **J. Appl. Microbiol**, 2002; 92(5): 837–843.
20. *Fredrickson J.K., Zachara J.M., Kennedy D.W.* et al. Reduction of U (VI) in geothite (a-FeOOH) suspensions by a dissimilatory metal-reducing bacterium. **Geochim. Cosmochim. Acta**, 2000; 64(18): 3085–3098.
21. *Fujii E., Toda K., Ohtake H*. Bacterial reduction of toxic hexavalent chromium using a fed-batch culture of *Enterobacter cloacae* HO1. **J. Ferment. Bioeng**, 1990; 69(6): 365–367.
22. *Gad G.M., White C*. Uptake and intracellular compartmentation of thorium in *Saccharomyces cerevisiae*. **Environ Pollut**,1989; 61(3):187–197.
23. *Gouda M.K*. Studies on chromate reduction by three *Aspergillus* species. **Fresenius Envir. Bull**, 2000; 9: 799–808.
24. *Horton R.N., Apel W.A., Thompson V.S.* et al. Low temperature reduction of hexavalent chromium by a microbial enrichment consortium and a novel strain of *Arthrobacter aurescens*. **BMC Microbiol**, 2006; 6(5).
25. *House D.A*. Recent developments in chromium chemistry. **Adv. Inorg. Chem**, 1996; 44: 341–373.
26. *James B.R., Bartlett R.* Behavior of chromium in soils. VI. Interactions between oxidation-reduction and organic complexation. **J. Environ. Qual**, 1983; 12: 173–176.
27. *Kotas J., Stasicka Z*. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environ. Pollut**, 2000; 107(3): 263–283.
28. *Kwak Y.H., Lee D.S., Kim H.B*. *Vibrio harveyi* nitroreductase is also a chromate reductase. **Appl. Environ. Microbiol**, 2003; 69(8): 4390–4395.
29. *Lee K.P., Ulrich C.E., Geil R.G., Trochimowicz H.J.* Inhalation toxicity of chromium dioxide dust to rats after two years exposure. **Sci. Tot. Environ**, 1989; 86: 83–108.
30. *Losi M.E., Amrhein C., Frankenberger W.T*. Environmental biochemistry of chromium. **Rev. Environ. Contam. Toxicol**, 1994; 136: 91–121.
31. *Losi M.E., Frankenberger W.T.* Chromium-resistant microorganisms isolated from evaporation ponds of a metal processing plant. **Water Air Soil Pollut**, 1994; 74(3–4): 405–413.
32. *McLean J., Beveridge T.J*. Chromate reduction by a pseudomonad isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. **Appl. Environ. Microbiol**, 2001; 67(3): 1076–1084.
33. *Michel C., Brugna M., Aubert C.* et al. Enzymatic reduction of chromate: comparative studies using sulfate-reducing bacteria. Key role of polyheme cytochromes *c* and hydrogenases. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, 2001; 55(1): P. 95–100.
34. *Muter O., Lubinya I., Millers D*. et al. Cr (VI) sorption by intact and dehydrated *Candida utilis*. **Process Biochem**, 2002; 38(1): 123–131.
35. *Myers C.R., Carstens B.P., Antholine W.E., Myers J.M*. Chromium (VI) reductase activity is associated with the cytoplasmic membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. **J. Appl. Microbiol**, 2000; 88(1): 98–106.
36. *Nepple B.B., Kessi J., Bachofen R*. Chromate reduction by *Rhodobacter sphaeroides*. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol**, 2000; 25(4): 198–203.
37. *Ohtake H., Cervantes C., Silver S.* Decreased chromate uptake in *Pseudomonas fluorescens* carrying a chromate resistance plasmid. **J. Bacteriol**, 1987; 169(8): 3853–3856.
38. *Pattanapipitpaisal P., Brown N.L., Macaskie L.E*. Chromate reduction by *Microbacterium liquefaciens* immobilised in polyvinyl alcohol. **Biotechnol. Lett**, 2001; 23(10): 61–65.
39. *Postgate J.R*. **The sulfate-reducing bacteria**. 2nd ed., Cambridge: Cambridge Univ. press, 1984. 199 p.
40. *Ramírez-Díaz M.I., Díaz-Pérez C., Vargas E.* et al. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. **Biometals**, 2008; 21(3): 321–332.
41. *Ramirez-Ramirez R., Calvo-Mendez C., Avila-Rodriguez M., Gutierrez-Corona J.F.* Chromate resistance and reduction in a yeast strain isolated from industrial waste discharges. In: Environmental Engineering Application (Raynal J.A., Nuckols J.R., Reyes R. and Ward M., Eds.). **Water Resources Publication**, LCC, Englewood, CO, USA, 2000: 437–445.

42. *Raspor P., Batic M., Jamnik P.* et al. The influence of chromium compounds on yeast physiology. **Acta Microbiol. Immunol. Hung**, 2000; 47(2–3): 143–173.
43. *Rege M.A., Petersen J.N., Johnstone D.L.* et al. Bacterial reduction of hexavalent chromium by *Enterobacter cloacae* strain H01 grown on sucrose. **Biotechnol. Lett**, 1997; 19(7): 691–694.
44. *Saxena D., Levin R., Firer M.A*. Removal of chromate from industrial effluent by a new isolate of *Staphylococcus cohnii*. **Water Sci. Technol**, 2000; 42(1–2): 93–98.
45. *Shakoori A.R., Makhdoom M., Haq R.U*. Hexavalent chromium reduction by a dichromate-resistant gram-positive bacterium isolate from effluents of tanneries. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, 2000; 53(3): 348–351.
46. *Shen H., Wang Y*. Biological reduction of chromium by *E. coli*. **J. Environ. Eng**, 1994; 120: 560–572.
47. *Smith F.W., Hawkesford M.J., Prosser I.M., Clarkson D.T*. Isolation of a cDNA from *Saccharomyces cerevisiae* that encodes a high affinity sulphate transporter at the plasma membrane. **Mol. Gen. Genet**, 1995; 247(6): 709–715.
48. *Smith W.L., Gadd G.M.* Reduction and precipitation of chromate by mixed culturesulphate-reducing bacterial biofilms. **Appl. Microbiol**, 2000; 88: 983–991.
49. *Snow E.T.* Effect of chromium on DNA replication *in vitro*. **Environ. Health. Perspect**, 1994; 3: P.41–44.
50. *Solisio C., Lodi A., Converti A., Del Borghi M.* Cadmium, Zinc, and Chromium (III) removal from aqueous solutions by *Zoogloea ramiger*. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, 1998; 12: 45–49.
51. *Srinath T., Khare S., Ramteke P.W.* Isolation of hexavalent chromium-reducing Cr-tolerant facultative anaerobes from tannery effluent. **J. Gen. Appl. Microbiol**, 2001; 47(6): 307–312.
52. *Sugiyama M.* Reagent composition for measuring hydrogen sulfide and method for measuring hydrogen sulfide/ **United States Patent №6340596**, 2002.
53. *Tebo B.M., Obraztsova A.Y.* Sulfate-reducing bacterium grows with Cr (VI), U (VI), Mn (IV), and Fe (III) as electron acceptors. **FEMS Microbiol. Lett**, 1998; 162(1): 193–198.
54. *Toxicological* review of hexavalent chromium. U.S. **Environmental Protection Agency**, Washington DC, 1998: 77.
55. *Viti C., Pace A., Giovannetti L*. Characterization of Cr (VI)-resistant bacteria isolated from chromium-contaminated soil by tannery activity. **Curr. Microbiol**, 2003; 46(1): 1-5.
56. *Wang P.C., Mori T., Komori K.* et al. Isolation and characterization of an *Enterobacter cloacae* strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions. **Appl. Environ. Microbiol**, 1989; 55(7): 1665–1669.
57. *Wang Y.T., Shen H*. Bacterial reduction of hexavalent chromium. **J. Ind. Microbiol**, 1995; 14(2): 159–163.

REDUCTION OF CHROMIUM (VI) COMPOUNDS BY SULFATE-REDUCING BACTERIA

T. B. Peretyatko, S. P. Gudz

Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: taras.peretyatko@gmail.com

Bacteria performing dissimilatory sulfate reduction were isolated from Yaziv sulfur deposit wells. 12 cultures were resistant to the presence of 1 mM Cr (VI) in the medium. Addition of 5 mM Cr (VI) lead to the near two-fold biomass and hydrogen sulfide content decrease. At the absence of sulfate in the medium bacteria use Cr (VI) as the final electron acceptor. At the presence of sulfate and Cr (VI) in the medium the content of the

latter decreased due to its reduction by hydrogen sulfide. Cr (III) at concentrations 1–5 mM doesn't does not have considerable inhibitory effect on the sulfate-reducing activity. The ability of the isolated sulfate-reducing bacteria to detoxify Cr (VI) by its usage as the final electron acceptor and its reduction by hydrogen sulfide, produced by bacteria, make them perspective in the environment bioremediation from toxic Cr (VI) compounds.

Key words: Cr (VI), sulfate reduction, sulfate-reducing bacteria, hydrogen sulfide, sulfate, bioremediation.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМА СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ

Т. Б. Перетятко, С. П. Гудзь

Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: taras.peretyatko@gmail.com

Из водоемов Язовского серного месторождения (Прикарпатье, Украина) выделены бактерии, осуществляющие диссимиляционное восстановление сульфата. 12 культур оказались резистентными к шестивалентному хрому в концентрации 1 мМ. При отсутствии в среде сульфата бактерии используют Cr (VI) в качестве акцептора электронов. При наличии в среде сульфата и Cr (VI) наблюдается восстановление последнего гидроген сульфидом до Cr (III), который в концентрации 1–5 мМ практически не влияет на рост и диссимиляционную сульфатредукцию. Способность интенсивно восстанавливать Cr (VI), превращая его в малотоксичную форму, открывает перспективы использовать выделенные бактерии для очистки окружающей среды от соединений шестивалентного хрома.

Ключевые слова: хром шестивалентный, сульфатредукция, сульфатвосстанавливающие бактерии, гидроген сульфид, сульфат, биоремедиация.

Одержано: 15.07.2010