

20.04.23.

05 гр.

Мікробіологічний та хіміко-бактеріологічний аналіз.

ТЕМА . ПЕРЕТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ СПОЛУК ЗАЛІЗА, СІРКИ І ФОСФОРУ.

План

1. Роль мікроорганізмів в утворенні і перетворенні сполук сірки і заліза.
2. Перетворення мікроорганізмами сполук фосфору.
3. Перетворення сполук сірки мікроорганізмами.
4. Перетворення мікроорганізмами сполук заліза.

Ключові терміни та поняття: фосфат мобілізація, дефосфорилування, *Vas. megaterium*, перетворення неорганічних фосфатів, сульфофікація, десульфофікація, *Thiobacillus thioararus*, *Th. thiooxidans*, *Th. Denitrificans*, закисні і окисні сполуки заліза.

1. Роль мікроорганізмів в утворенні і перетворенні сполук сірки і заліза.

Завдяки дуже високій каталітичній активності мікроорганізми відіграють основну роль в геохімічних перетвореннях в природі. Через свої невеликі розміри бактерії та інші мікроорганізми мають порівняно з вищими рослинами і тваринами високе співвідношення поверхні і об'єму. Це приводить до швидкого обміну субстратів і продуктів виділення міжклітиною і зовнішнім середовищем.

Висока інтенсивність дихання аеробів і велика швидкість розмноження, дивовижна здатність розщеплювати найрізноманітніші сполуки зумовлюють важливість ролі, яку мікроорганізми відіграють у природі. Циклічні перетворення елементів, з яких побудовані живі організми, в сукупності становлять кругообіг речовин. На різних етапах циклів у них беруть участь різні організми, однак вклад мікроорганізмів особливо важливий як у кількісному, так і в якісному відношенні. Мікроорганізми «... виконують у біосфері величезну геохімічну роботу, як розкладаючи ці сполуки, так і створюючи, в результаті цього розкладу, нові синтези, їхня роль значна в історії вуглецю, сірки, азоту, заліза, марганцю і багатьох інших елементів нашої планети», — писав перший президент НАН України академік В. І. Вернадський. Ідеї В. І. Вернадського про те, що мікроорганізми є могутнім агентом у трансформації різних речовин, а також у концентрації окремих елементів із розсіяного стану, одержали повне визнання. Добре відомо, що в біологічний

кругообіг утягнуті всі хімічні елементи, які входять до складу живих організмів. Важливо розглянути не тільки перетворення мікробами сполук вуглецю й азоту, але й фосфору, сірки і заліза.

2. Перетворення мікроорганізмами сполук фосфору

По значенню для рослин фосфор займає друге місце після азоту. Він є в ґрунті, рослинах та в мікроорганізмах у органічних та неорганічних сполуках.

З хімічної точки зору кругообіг фосфору є досить простим, оскільки цей елемент трапляється в живих організмах тільки в п'ятивалентному стані у вигляді вільних фосфатних іонів (PO_{3-4}) або у вигляді органічних фосфатних компонентів клітини. Фосфор входить до складу нуклеїнових кислот, нуклеотидів,

фосфопротеїнів, АТФ, лецитину, фітину, сполук гумусу тощо. Отже, фосфор перебуває в неорганічній і органічній формах у ґрунті, рослинах і мікробах.

У ґрунті фосфор може бути в різних формах:

- 1) він входить у структуру первинних мінералів і зустрічається у формі фосфатів кальцію (апатити, оксиапатити, фторапатити, фосфорити), фосфатів або оксифосфатів заліза (вівіаніт);
- 2) від 25 до 85% загального фосфору в різних ґрунтах перебуває в органічній формі. Органічний фосфор становить від 0,5 до 2% кількості органічної речовини ґрунту. Фосфор входить до складу фітину й інших інозитфосфатів, нуклеїнових кислот і нуклеотидів, лецитину й гумусових сполук.

У ґрунт сполуки фосфору надходять із рослинними й тваринними залишками, а також з мінеральними добривами.

Сільськогосподарські рослини містять у своїх тканинах від 0,05 до 0,5% фосфору. У рослин (як і у тварин) цей елемент перебуває у формі органічних сполук (фітин, фосфоліпіди, нуклеїнові кислоти і т.д.). Фосфор (неорганічний ортофосфат) може також бути присутнім у клітинних вакуолях у якості внутрішнього буфера.

На противагу азоту й сірці, які в тканинах перебувають у відновленій формі, фосфор входить в органічні сполуки в окисненій формі у вигляді фосфату.

Перетворення органічних сполук фосфору. Фосфор, який міститься в органічних речовинах ґрунту, не засвоюється вищими рослинами. Складні органічні сполуки фосфору перетворюються мікроорганізмами надоступні для засвоєння рослинами солі ортофосфорної кислоти, що сприяє розчиненню важкорозчинних мінеральних фосфорних сполук у ґрунті. Органічні сполуки фосфору розкладаються мікробами з різною швидкістю. Так, нуклеїнові кислоти дефосфорилуються легше, фітин — важче. Швидко мінералізується фосфор органічних сполук тіл мікроорганізмів.

Органічні сполуки фосфору розкладають бактеріями родів *Pseudomonas*, *Bacillus* (*Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*), грибами з родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichothecium*, *Alternaria*, деякими

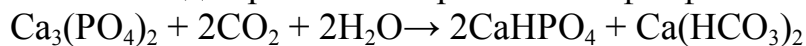
актиноміцетами й іншими мікроорганізмами. Розкладання зазначених сполук також здійснюють дріжджі (*Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* і ін.).

При розкладанні органічних речовин мікроорганізмами останні фіксують у своїх клітинах певну кількість фосфору, що містять ці речовини. Тому внесення в ґрунт органічних сполук, занадто бідних фосфором, наприклад соломи, може викликати біологічне закріплення фосфатів і пов'язане з ним фосфорне голодування рослин.

Перетворення неорганічних фосфатів. Ряд неорганічних форм фосфору в ґрунті представлений нерозчинними фосфатами кальцію (наприклад, апатитами, оксиапатитами, фосфоритами), які містяться переважно в нейтральних і лужних ґрунтах (у кислих ґрунтах переважають солі заліза й алюмінію). Ці сполуки фосфору, що входять до складу мінералів, недоступні або слабо доступні для рослин. Однак багато мікроорганізмів можуть перетворювати нерозчинні з'єднання фосфорної кислоти в розчинний стан. До них відносяться представники бактерій, актиноміцетів, грибів і інших груп мікроорганізмів (роди *Pseudomonas*, *Bacillus*,

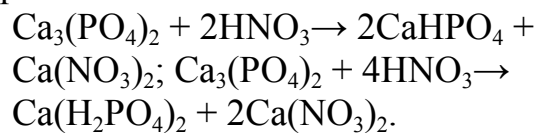
Micrococcus, *Mycobacterium*, *Penicillium*, *Aspergillus* і т.д.). Розчинення фосфатів у ґрунті відбувається в результаті утворення вуглекислого газу або різних кислот.

Вуглекислий газ, що утворюється під час руйнування органічної речовини, у присутності води перетворюється до вуглекислоти, яка більш-менш швидко розчиняє нерозчинний фосфат:

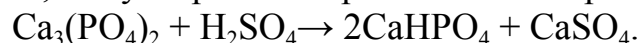


Мобілізація нерозчинних з'єднань фосфору відбувається також завдяки утворення мікроорганізмами органічних кислот і кетокислот при неповному окисненні вуглеводів або їх зброджуванні.

У деяких випадках нерозчинні форми фосфорних сполук можуть перетворюватися на розчинні за дії HNO_3 , яка утворюється нітрифікуючими бактеріями:



Аналогічний процес може відбуватися і під впливом сірчаної кислоти, яка утворюється при окисненні сірки сіркобактеріями:



Отже, біологічний цикл перетворення фосфору полягає у зворотному переході його із органічних сполук у неорганічні, з нерозчинного стану — в розчинний.

3. Перетворення сполук сірки мікроорганізмами

Сірка — необхідний елемент живлення для мікроорганізмів. У природі постійно відбуваються процеси перетворення сірки. В ґрунті сірка

перебуває у формі сульфатів, а саме у вигляді $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 , K_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, сульфідів FeS_2 , Na_2S , ZnS і органічних сполук. У вигляді сульфгідрильних ($-\text{SH}$) і дисульфідних ($-\text{S}-\text{S}-$) груп сірка входить до амінокислот метіоніну, цистину і цистеїну; майже всі білки містять сірковмісні амінокислоти. Сірка є також у складі багатьох вітамінів, коферментів, глутатіону та інших сполук тіла рослин, тварин і мікроорганізмів.

В Україні середній вміст сірки в ґрунті становить 0,04 %, а в окремих районах вміст її зростає до 0,3 %; 80—90 % сірки в ґрунті перебуває в органічних сполуках і 10—20 % — у мінеральних. При нестачі сірки в ґрунті ріст і розвиток рослин пригнічується і продуктивність їх зменшується.

Значна частина сірки потрапляє в ґрунт у формі органічних сполук разом з відмерлими рештками. Тут органічні і неорганічні форми сірки зазнають різноманітних перетворень у процесі життєдіяльності мікроорганізмів. Напрямок цих перетворень регулюється в основному чинниками довкілля.

Разом із біологічним кругообігом сірки в атмосфері також відбуваються важливі небіологічні перетворення газоподібних форм цього елемента. Щорічно в атмосферу виділяється близько 90 млн. т сірки у вигляді H_2S , що утворюється біологічним шляхом. За цей же час при спалюванні різних викопних видів палива в атмосферу потрапляє ще 50 млн. т сірки у формі SO_2 і близько 1 млн. т SO_2 та H_2S утворюються при виверженні вулканів. В атмосфері H_2S швидко окислюється киснем (атомарним, молекулярним) і озоном до SO_2 . Останній може розчинятися у воді і утворювати H_2SO_3 або повільно окислюватися до SO_3 , який, розчиняючись у воді, перетворюється на H_2SO_4 . Деяка частина сірчаної кислоти нейтралізується аміаком, що міститься в атмосфері, а переважна більшість її разом з H_2SO_3 повертається на поверхню землі.

Відомі вчені В.І.Вернадський, Б.Л.Ісаченко, М.В.Іванов, які дотримувались і плідно розвивали теорію біогенного походження сірки, вказували на надзвичайно важливу роль бактерій в утворенні й руйнуванні самородної сірки. Щодо з'ясування походження деяких родовищ сірки велике значення мали дані з розподілу стабільних ізотопів сірки і вуглецю в різних породах. Органічні сполуки сірки можуть бути розкладені мікробами до мінеральних. За певних умов відновлені неорганічні сполуки сірки окислюються мікроорганізмами, а окислені сполуки (сульфати, сульфіти та інші) можуть відновлюватися до H_2S .

Окислення неорганічних сполук сірки.

Активними окиснювачами відновлених з'єднань сірки є наступні групи мікроорганізмів:

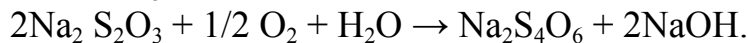
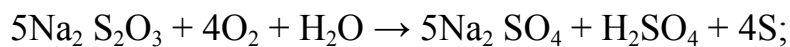
1. тіонові бактерії, представлені чотирма родами: *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiodendron* і *Sulfolobus*.
2. одноклітинні й багатоклітинні (нитчасті) форми, що утворюють трихоми й належать до родів *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Thiospira*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca*.

3. фотосинтезуючі пурпурні й зелені сіркобактерії, а також деякі ціанобактерії;
4. хемоорганогетеротрофні організми з родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, актиноміцети й гриби (*Penicillium*, *Aspergillus*).

Бактерії з роду *Thiobacillus* поширені в ґрунтах. Нитчасті форми переважно живуть узаболочених водоймищах і затоплених ґрунтах, де є відновлені сполуки сірки, а фотосинтезуючі сіркобактерії найчастіше трапляються в ставках, озерах, морських лагунах тощо.

Представники роду *Thiobacillus* мають здатність окислювати тіосульфат, сірководень, сульфіді і тетратіонати. М.Бейерінк виділив ці бактерії в особливу групу з родовою назвою *Thiobacillus*, а відомий російський мікробіолог В.Л.Омелянський запропонував називати цю групу бактерій тіоновими.

Тіонові бактерії. Рід *Thiobacillus* об'єднує багато видів (*Thiobacillus thioparus*, *Th. thiooxidans*, *Th. denitrificans*). Більшість видів роду — не спороносні, грам негативні, рухливі паличкоподібні бактерії, завдовжки від 1 до 3 мкм. Серед них є облігатні автотрофи, які використовують як джерело вуглецю CO₂, факультативні автотрофи і один вид *Thiobacillus novellus*, що може водночас окислювати тіосульфат і органічні речовини. Окислювальні процеси, зумовлені представниками тіонових бактерій, можна записати у вигляді таких рівнянь:



Тетратіонати можуть окислюватися і далі до сірчаної кислоти: $Na_2S_4O_6 + SO_2 + 6H \rightarrow Na_2SO_4 + 3H_2SO_4$

Тіонові бактерії — облігатні аероби, за винятком *Thiobacillus denitrificans*, яка в присутності нітратів росте як анаероб. Сірка із середовища надходить у вакуолу клітин тіонової бактерії завдяки дифузії і відкладається в ній про запас, а коли виникає потреба, вона може окислюватися.

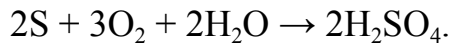
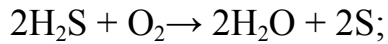
Thiobacillus thioparus — невеликих розмірів неспороутворююча паличка з одним джгутиком. Розвивається в лужних і нейтральних водах і може окислювати сірководень, елементарну сірку, тіосульфат, тетратіонат.

Thiobacillus thiooxidans — розвивається у кислих водах і в ґрунті. Вона може розвиватися при pH = 0,6 ... 4,5. При оптимальному pH середовища, яке становить 2,5, може нагромаджувати в середовищі до 5—7 % сірчаної кислоти.

Thiobacillus ferrooxidans — облігатний автотроф. Оптимальний розвиток цієї бактерії відбувається при pH = 2–4. Проте її можна виявити в рудах з нейтральною реакцією — там, де спостерігається мікробіологічне окислення сульфідних мінералів. Характерною особливістю цих бактерій є здатність витримувати дію високих концентрацій (до 6 %) міді та деяких інших металів. Вони

окислюють практично всі відомі сульфідні мінерали.

Ниткоподібні сіркобактерії об'єднують у роди: *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiospirillopsis*, *Thioploca* та інші. На відміну від тіонових, ці бактерії при окисленні H_2S до елементарної сірки (**сульфофікація**) можуть тимчасово відкладати її всередині клітин. Досліджуючи явище хемоавтотрофії, С.М.Виноградський показав, що ці бактерії, окислюючи сірководень, спочатку перетворюють його на елементарну сірку, яка нагромаджується в клітинах, а потім окислюється до сульфату затакою схемою:



Ниткоподібні сіркобактерії з роду *Beggiatoa*, що живуть у забруднених водоймищах або сірчаних джерелах, не прикріплені до субстрату, представники роду *Thiothrix* — прикріплені одним кінцем до твердого субстрату. Виявлено здатність нитчастих сіркобактерій окислювати сірку і використовувати органічні речовини.

Сполуки сірки окислюються також пурпурними і зеленими сіркобактеріями. Вважають, що ці бактерії найдавніші фотосинтезуючі організми, які існують і нині. Описано понад 50 видів пурпурних і зелених бактерій. Чимало з них виділені у вигляді чистих культур.

Сірку можуть окислювати також багато видів гетеротрофних мікроорганізмів у присутності органічних речовин, наприклад, деякі види бацил (*Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. asterosporus* та інші), актиноміцетів і дріжджових грибів. Перетворення сірки є побічним процесом в головному метаболізмі цих мікробів.

Відновлення неорганічних сполук сірки або десульфифікація. Мікробне відновлення сульфатів, яке ще називається десульфифікацією, найбільш інтенсивно відбувається в затоплюваних ґрунтах зпоганою аерацією, лиманах, деяких морях та інших водоймищах. Збудників процесу відносять до двох родів: *Desulfovibrio* та *Desulfotomaculum*.

Типовим представником роду *Desulfovibrio* є *D. desulfuricans* — грам негативний, облігатно анаеробний, дуже рухливий вібріон, виявлений у морській воді, мулі, прісній воді, ґрунтах.

Характерним представником сульфатредуючих бактерій з роду *Desulfotomaculum* є *D. nigrificans*. Це грам негативні, спороносні, облігатно анаеробні рухливі паличкоподібні бактерії, які можуть перетворювати сульфати на сульфіди при високих температурах. Десульфифікуючі бактерії є спеціалізованою групою мікроорганізмів. Вони використовують сульфат як акцептор водню в анаеробних умовах для окислення органічних сполук або водню. При окисленні органічних субстратів водень переноситься цими бактеріями на окислені сполуки сірки (сульфати, сульфіти, тіосульфати), які відновлюються до H_2S . Цей тип дихання, як уже зазначалось, дістав назву сульфатного. Процеси відновлення сірки сульфатредуючими ігнільними

мікробами мають неабияке значення для життя в ґрунтах і водоймах, бо вони супроводжуються нагромадженням великої кількості сірководню. Якщо в ґрунті або водоймищі нагромадиться значна кількість H_2 , то життя рослин і тварин пригнічується або зовсім припиняється. Таке явище можна спостерігати в деяких озерах, лиманах і навіть у відкритому морі на певній глибині. Так, у Чорному морі на глибинах понад 200 м нагромаджується стільки сірководню, що розвиток живих організмів там є пригніченим./

Разом із цим бактерії, що відновлюють сульфати, відіграють велику роль у геологічних процесах. Вони утворюють сірководень, який бере участь у формуванні сірчаних руд. Описано водоймища, де молекулярна сірка утворюється внаслідок окислення сірководню, який надходить в озера із сірчаних джерел.

Сульфатредуючі бактерії беруть участь не тільки у виникненні родовищ сірки, а й утворенні сульфідних руд. Існує думка, що утворення вторинних сульфідів за участю бактерій може відбуватися як в осадових, так і в гідротермальних родовищах сульфідних руд. Причому ці процеси за сприятливих умов відбуваються і зараз. Значне поширення сульфатредуючих бактерій як у минулому, так і тепер вказує на їхню можливу роль в утворенні вторинних сульфідів у родовищах.

Сульфатредуючі мікроби також можуть приносити шкоду, руйнуючи нестійкі до сірководню матеріали. Їх діяльність — одна з причин корозії металевих обладнань в анаеробній зоні. Сірководень токсичний, при накопиченні його у ґрунті рослинність швидко гине. При накопиченні його у водоймах швидко гинуть тварини і рослини, що там живуть. В деяких озерах, лиманах і навіть у відкритому морі (чорне море на глибині 200 м) сірководень накопичується в таких кількостях, що життя там неможливе.

4. Перетворення сполук заліза.

Біологічна роль заліза зумовлена головним чином тим, що воно входить до складу гемоглобіну, міоглобіну, ферментів — катал ази, пероксидази, а також цитохромів, ферредоксину тощо. В ґрунті залізо міститься у вигляді органічних і неорганічних сполук.

Загальний вміст заліза в ґрунтах становить 0,5—5 %, а тому абсолютна нестача його в ґрунті неспостерігається. Важливу роль у трансформації сполук заліза

в ґрунтах, зокрема в переведенні нерозчинних сполук у розчинні і навпаки, відіграють мікроби. Мінералізацію органічних сполук, що містять залізо, можуть здійснювати різні гетеротрофні організми (бактерії, гриби, актиноміцети та ін.).

При цьому залізо найчастіше звільняється в аеробних умовах і осідає у вигляді гідроксиду заліза.

У біосфері поряд з окисленням і осіданням заліза відбуваються і прямо протилежні процеси відновлення і розчинення його сполук. Сукупність цих процесів становить кругообіг заліза в природі. Циклічний характер перетворення сполук заліза за участю мікроорганізмів. Роль

мікроорганізмів, якщо брати цей кругообіг у планетарному масштабі, досить значна.

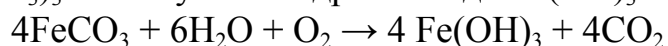
Окислення і відновлення сполук заліза. Чимало мікробів безпосередньо або посередньо беруть участь в окисненні заліза. Серед гетеротрофних представників є мікроорганізми, які окислюють комплексні органічні сполуки заліза. Гідроксид заліза, що утворюється при цьому, відкладається на поверхні клітин мікроорганізмів. Такі мікроби поширені в ґрунтах (наприклад, бактерії з родів *Hyphomicrobium*, *Seliberia* та інші), водоймищах (бактерії з родів *Blastocaulis*, *Siderocapsa*).

С.М.Виноградським було відкрито, а М.Г.Холодним ґрунтовно вивчено також різноманітність морфологією мікроорганізмів, які мають здатність окислювати неорганічні сполуки заліза в болотах, залізистих джерелах, в озерах, дренажних трубах тощо з утворенням охристих осадів. Ці бактерії дістали назву залізобактерій. До них належать нитчасті форми бактерій *Leptothrix*, *Grenothrix* і бактерії з родів *Gallionella*, *Metallogenium* та інші.

Ступінь автотрофності залізобактерій є різним: одні види є типовими автотрофами та існують переважно за рахунок енергії, що утворюється при окисненні оксиду (II) заліза або марганцю в оксид (III), інші здатні також окислювати органічні сполуки.

Рід *Leptothrix* об'єднує залізобактерії, що утворюють ланцюжки клітин. Їхня бічна поверхня виділяє гідрат окису заліза, який утворює циліндричний чохол, що покриває весь ланцюжок. У міру потовщення чохла обмежується доступ до клітин закисного заліза, кисню й CO_2 . Внаслідок цього бактеріальні клітини скидають старі чохла, повільно виходячи назовні, і потім утворюють новими чохлами. Порожні чохла, накопичуючись, утворюють осадохри у водоймах.

Leptothrix окислює двовалентне залізо (FeCO_3) до тривалентного $\text{Fe}_2(\text{CO}_3)_3$ із наступним гідролізом до $\text{Fe}(\text{OH})_3$:



Рід *Gallionella*. Типовий представник цього роду *Gallionella ferruginea* має паличко або бобовинні клітини із джгутиками. Клітини розташовані на довгій плоскій, спірально-перекрученій стеблинці. Одна сторона клітини ввігнута, інша — опукла. Остання виділяє назовні відкладення колоїдного гідрату окису заліза, з якого поступово утворюється стеблинка.

Відомі й справжні хемолітоавтотрофні бактерії, що мають здатність отримувати енергію в результаті окислення закисного заліза й використовувати вуглець із вуглекислоти. До цих бактерій відноситься *Thiobacillus ferrooxidans*.

Окиснення закисного заліза дає малий вихід енергії, і для підтримки росту бактерії витрачають велику кількість заліза. Так, для утвору 1 г сирої біомаси клітин бактерії повинні окиснити близько 500 г сірчаноокислого заліза.

Д\3 Опрацювати тему.