

*Микробиологические
методы
очистки воды
Лекция 11*

Роль ионов щелочных и щелочноземельных металлов в процессах биологической очистки

Ионы металлов присутствуют в сточных водах, в основном, в форме катионов неорганических солей. Их роль в жизнедеятельности популяций микроорганизмов в системах биологической очистки неоднозначна и во многом зависит от концентрации и природы иона, а также от сопутствующих условий.

Физиологические концентрации ионов металлов довольно малы, а поэтому и масштабы поглощения металлов микроорганизмами также малы по сравнению с ассимиляцией таких биогенных элементов, как углерод, азот и фосфор. Например, в 100 г сухого вещества бактерий содержится (в мг): С-54000, О-23000, Н-7400, Р-3000, S-320. Содержание ионов металлов в этих же бактериях составляло для макроэлементов (Са, Mg, Na, Fe) 25-700 мг, за исключением калия (К - 1000- 11500мг), а для микроэлементов 12-0,025 мг.

В зависимости от содержания в клетке и значимости ионы металлов можно разделить на несколько групп,

Металлы, влияющие на рост микроорганизмов

группа металлов	символ	кол-во элемента в биомассе бактерий (мг/100 г сухого в-ва)
металлы, необходимые для роста микроорганизмов (макроэлементы)	K	1000-11500
	Mg	700
	Ca	510
	Fe	25
	Na	460
металлы, входящие в группу микроэлементов	Mn	3,0-7,5
	Cu	3,7-12,0
	Zn	0,1-28,0
	Mo	0,3-2,0
	Co	0,07-0,2
металлы, предположительно необходимые для развития микроорганизмов	Ni	0,6
	V	0,025
	Sn	-
	Cr	-
	Pb	0,6-1,5
высокотоксичные металлы	Sb	
	As	
	Ba	
	Be	
	Cd	
	Pb	
	Hg	
	Ag	
	Th	
Tl		

Ионы металлов-макроэлементов

Из 10 главных биоэлементов, требующихся клеткам в значительных количествах ($> 10^{-4}$ М), четыре элемента - металлы: **К, Mg, Ca, Fe**. Относительно потребности в ионах **натрия** единого мнения у исследователей нет.

Некоторые авторы считают его одним из главных 16 биоэлементов, другие относят его к микроэлементам, а третьи считают его макроэлементом, необходимым только для галофильных, в основном морских, микроорганизмов.

Стимулирующие рост микроорганизмов-анаэробов концентрации для ионов калия несколько выше (200-400 мг/дм³), чем для ионов Mg^{2+} , Na^{+} и Ca^{2+} .

Ингибирование роста вызвали довольно высокие концентрации этих ионов. Таким образом, верхние пороговые концентрации для ионов металлов I группы довольно высоки, но также высоки и их нижние пороговые концентрации ($>10^{-4}$ М).

Стимулирующие и ингибирующие рост микроорганизмов-анаэробов концентрации катионов щелочных и щелочноземельных металлов

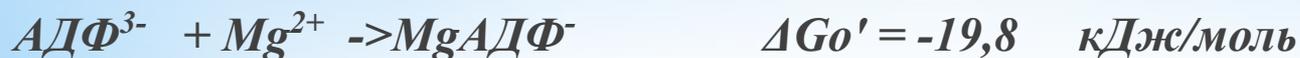
Катион	Концентрация, мг/дм ³		
	стимуляция	умеренное ингибирование	сильное ингибирование
Натрий	100-200	3500-5500	8000
Калий	200-400	2500-4500	12000
Кальций	100-200	2500-4500	8000
Магний	75-150	1000-1500	3000

Роль ионов металлов – макроэлементов клеток

Моновалентные катионы выполняют две основные функции - участвуют в генерировании мембранного потенциала и в активации около 60 ферментативных реакций. К числу активируемых относятся, в основном, ферменты классов 2, 4 и 6 (трансферазы, лигазы и лиазы), катализирующие фосфорилирование карбоксильных групп или енольных анионов, а также реакции элиминирования с образованием енолов.

Важной функцией ионов K^+ и Na^+ является их участие в функционировании натрий-калиевого "насоса". Известно, что при распаде каждой молекулы АТФ из клетки выкачиваются 3 иона Na^+ , а извне в клетку накачиваются 2 иона K^+ . Это способствует созданию на мембране избыточного отрицательного заряда и создает электрический мембранный потенциал, обозначаемый обычно символом $\Delta\bar{\mu}_{n^+}$.

Магний необходим для функционирования многих ферментов, и, прежде всего, для функционирования аденилатной системы. Как известно, аденилатная система играет центральную роль в энергообмене клеток всех типов, и включает в себя трифосфат, дифосфат и 5-монофосфат аденозина, а также неорганический фосфат и ионы магния (АТФ, АДФ, АМФ, P_i , Mg^{2+}). Равновесие среди полифосфатов поддерживается следующими реакциями:



Роль ионов металлов – макроэлементов клеток

В клетках магний присутствует в виде противоионов фосфатных групп, образующих эфиры с различными органическими соединениями и присутствующими во многих ферментах (как кофактор), в веществах клеточных стенок и мембран, хлорофилле у бактерий-фотосинтетиков. С участием иона магния связано функционирование многих ферментов-фосфатаз (класс трансфераз), осуществляющих перенос фосфатных групп от АТФ к другому субстрату и активирующих этот субстрат.

Недостаток магния у микроорганизмов вызывает большие колебания в скорости роста и в темпах прироста биомассы.

Высокие концентрации кальция в среде часто антагонистичны по отношению к магнию. Антагонистом магния может выступать токсичный металл бериллий, конкурирующий с магнием за связывание со специфическими центрами многих ферментов, в том числе фосфатаз и фосфоглюкоматаз. В противоположность Ca^{2+} и Be^{2+} , ионы Mn^{2+} часто могут выполнять роль Mg^{2+} при полном сохранении активности ферментов, требующих присутствия ионов Mg^{2+} . Металлоферментами, требующими присутствия ионов кальция, являются некоторые ферменты класса гидролаз, например, α -амилазы, протеазы, нуклеазы, а также ферменты класса лиаз, например, пектинлиазы.

Необходимый уровень Ca^{2+} в цитоплазме клеток поддерживается за счет связывания его со специфическими белками, а также депонирования во внутриклеточных органеллах. Известно, например, что у низших эукариот, в частности у дрожжей, ионы Ca^{2+} депонируются в вакуолях и митохондриях.

Микробиологические методы очистки воды

Сравнительное содержание отдельных металлов (необходимых микроорганизмам) в городских сточных водах

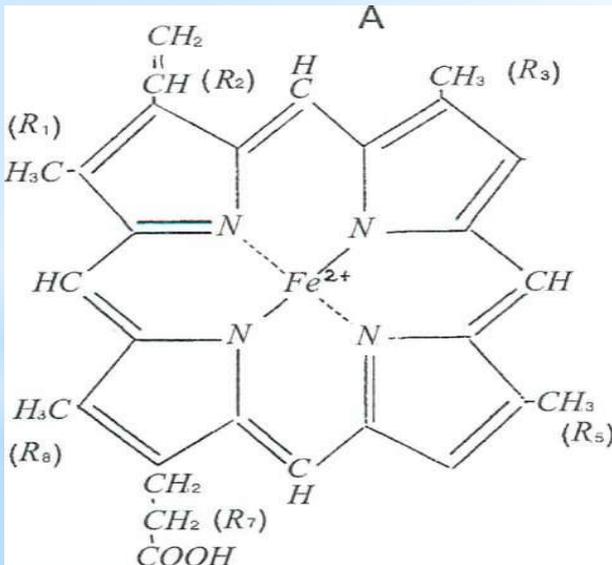
Катион	Содержание, мг/дм³		
	для бактерий-аэробов	для бактерий-анаэробов	в городских сточных водах
Калий	586	200-400	5-8
Магний	116	75-150	0,23
Кальций	11	100-200	2,7-6,9

По содержанию основных ионов металлов-макроэлементов городские сточные воды значительно уступают оптимальным для микроорганизмов уровням.

Железо как элемент питания микроорганизмов

Важным элементом питания микроорганизмов-деструкторов является железо. Общее содержание железа в бактериях и грибах составляет в среднем примерно 1 мг-ион/г сухого веса. Исключение составляют молочнокислые бактерии, которые, по-видимому, лишены железа.

Железо относится к металлам с переменной валентностью, что во многом определяет его функции в клетках микроорганизмов. При этом, как известно, названия соединений железа различаются приставками: "ферро" - для содержащих Fe^{2+} и "ферри" - для содержащих Fe^{3+} . Благодаря способности обратимо окисляться и восстанавливаться железо входит в состав активных центров многих ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные процессы, и, таким образом, является элементом, необходимым для энергетического обмена клеток.



Структура гема

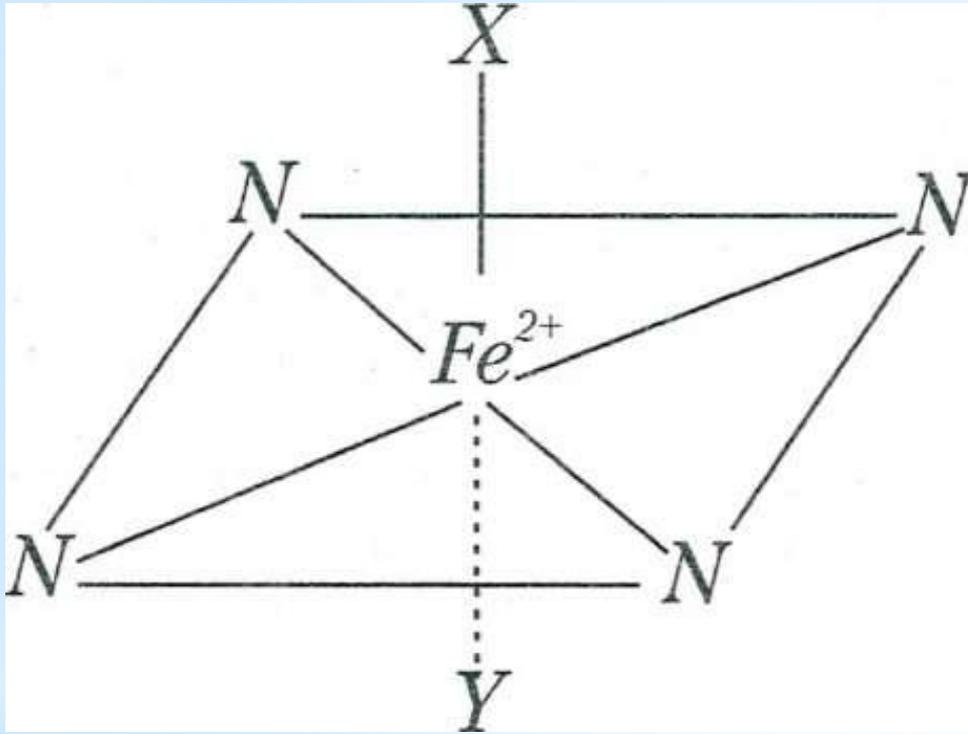
Основные активные формы внутриклеточного железа принято разделять на гемовое и негемовое железо.

Гемовое железо является обязательным компонентом многих окислительно-восстановительных ферментов.

В активный центр этих ферментов входит ферропротопорфирин или гем. Гем содержит Fe^{2+} и является хелатным соединением, в котором железо имеет шесть координационных связей.

Гем обнаружен у всех организмов, за исключением анаэробных и молочнокислых бактерий. Молочнокислые бактерии не содержат железа, тогда как клостридии богаты соединениями, содержащими негемовое железо.

Железо как элемент питания микроорганизмов



*Схематическое изображение центра
планарной структуры гема с шестью
координационными связями*

X — метионин; Y — гистидин

Негемовые формы, содержащие железо

Негемовым называют железо, находящееся, в основном, в составе железо-серных белков, в том числе в составе ферредоксинов и флавоферредоксинов. Железо-серные белки участвуют в транспорте электронов в электронтранспортных цепях, в фиксации молекулярного азота, в восстановлении сульфитов и нитритов, в бактериальном фотосинтезе, в освобождении и активации молекулярного водорода у анаэробов и в окислении алканов. Кроме того, негемовое железо входит в состав важных ферментов путей синтеза белка (глутаматсинтетеза) и ДНК (рибонуклеотидредуктаза) у микроорганизмов. Железо-серные белки, как и другие компоненты электронтранспортной цепи бактерий, находятся в цитоплазматической мембране, а у эукариот - в мембранах митохондрий.

Негемовый железосодержащий белок, названный ферредоксином, впервые был выделен из клостридий и обладал низким окислительно-восстановительным потенциалом ($E_0' = -0,41 \text{ В}$). Благодаря низкому окислительно-восстановительному потенциалу ферредоксинов в реакциях с их участием может освобождаться газообразный водород.

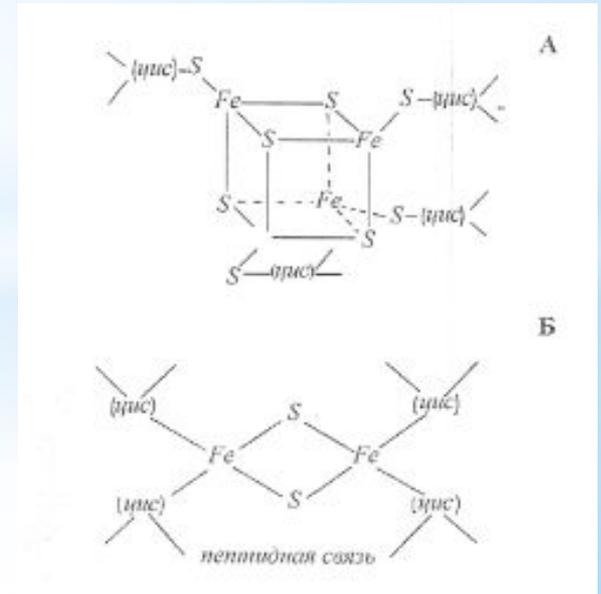
При исследовании (Fe_4S_4) -кластера из железо-серного белка с высоким потенциалом из бактерий-фотосинтетиков р.

Chromatium было установлено наличие ионов типа

$[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-)_4]^{3-}$. Полагают, что такие кластеры могут находиться в трех состояниях окисления: -3, -2 и -1.

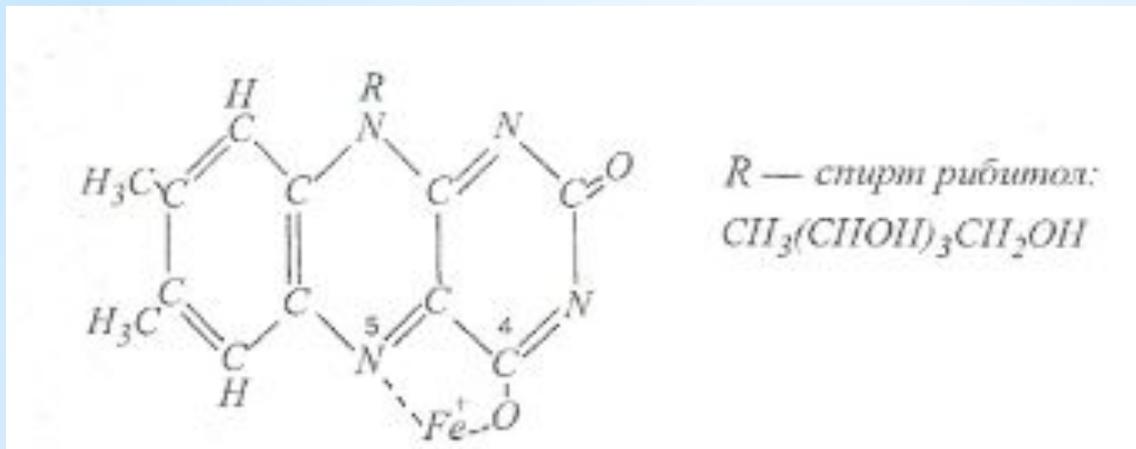
Структуры центров Fe_4S_4 -кластера (А) и Fe_2S_2 -кластера (Б) железо-серных белков.

Сокращение: цис — цистеин



Негемовые формы, содержащие железо

Негемовое железо содержат также флавиносодержащие железосерные белки-ферменты. При этом считают, что железо присоединяется непосредственно к флавинам:



Структура железофлавинового комплекса

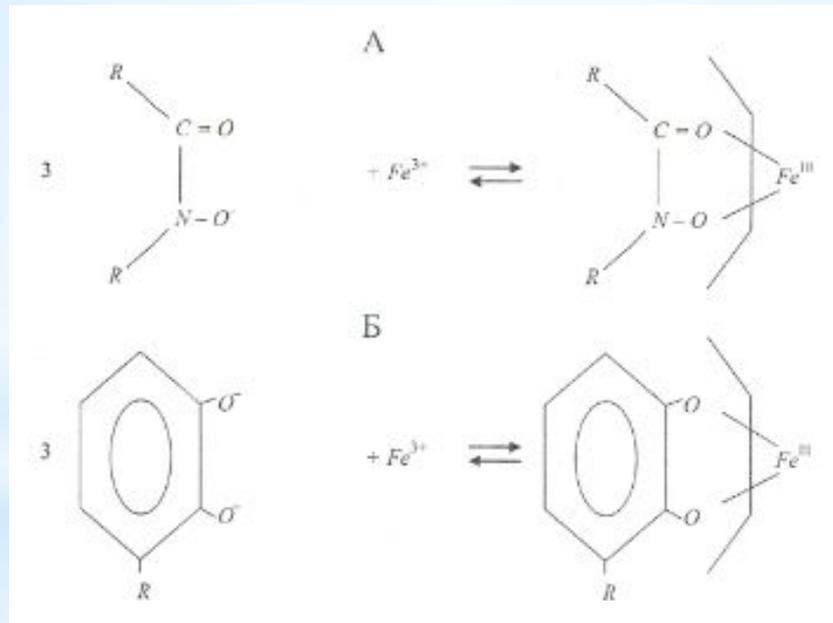
Роль железа в процессе жизнедеятельности микроорганизмов и факторы его усваивания бактериями и другими микроорганизмами

Железо необходимо для синтеза многих кофакторов ферментов, выполняющих окислительно-восстановительные функции в клетках микроорганизмов, и, прежде всего, для синтеза геминных соединений - цитохромов и каталазы, а также необходимо для синтеза соединений - ферредоксинов и металлофлавопротеидов. Ограничение снабжения микроорганизмов железом способно нарушить синтез этих кофакторов и ослабить функции важнейших ферментов в клетке.

*Если во внешней среде поддерживается достаточно высокая концентрация растворенного железа (например, для *E. coli* 50 мкМ и более), то бактерии и другие микроорганизмы поглощают это железо без затруднений. Особенно легко поглощение железа происходит у анаэробных микроорганизмов, так как в этих условиях железо представлено двухвалентным ионом и обычно присутствует в достаточном количестве (10^{-1} г-ион/л) в растворенной форме. В аэробных условиях при pH 7,0 железо находится чаще всего в виде нерастворимого гидроксидного комплекса Fe^{3+} , и концентрация ионов Fe^{3+} составляет всего лишь 10^{-18} г-ион/л.*

Роль железа в процессе жизнедеятельности микроорганизмов и факторы его усваивания бактериями и другими микроорганизмами

Для поглощения железа в форме Fe^{3+} аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы синтезируют и выделяют хелатирующие вещества - сидерофоры (сидерохромы), помогающие им связывать этот малорастворимый ион для переноса его во внутрь клетки. Два главных типа сидерофоров представлены веществами фенольной и гидроксаматной природы. Оба этих лиганда, связывающие ионы Fe^{3+} в комплекс, представляют собой слабые кислоты (pK_a около 9) и координационная сфера связанного иона металла состоит только из атомов кислорода:



Схемы основных структур гидроксаматных (А) и фенолятных (Б) комплексов железа (III) у микроорганизмов

Биотрансформация соединений железа при биоочистке: восстановление, окисление, сорбция, накопление

Сточные воды могут содержать железо в виде коллоидов органического и неорганического происхождения, таких как $Fe(OH)_3$, FeS , $Fe(OH)_2$, комплексных соединений с гуматами и фульвокислотами, в виде ионов железа Fe^{2+} и Fe^{3+} , а также в виде тонкодисперсной взвеси. Содержание ионных форм железа зависит от pH. При pH 6,2 - 7,5 и в присутствии кислорода или других окислителей ионные формы железа превращаются в нерастворимый гидроксид $Fe(OH)_3$.

Многие растворимые в воде соединения железа поступают на очистные сооружения с промышленными сточными водами. Вклад питьевой воды, попадающей в сточные воды, невелик - не более $0,3 \text{ мг/дм}^3$, так как при содержании железа, превышающем предельно допустимые нормы, проводится обезжелезивание воды. Равным образом невелик вклад человека, поскольку здоровый взрослый человек выделяет с мочой приблизительно $1,2 \text{ мг } Fe^{3+}$ в сутки.

Промышленные сточные воды, содержащие повышенное количество железа (от предприятий машиностроения, металлургии, металлообработки, химических, текстильных и др.), перед подачей на сооружения биологической очистки должны подвергаться обезжелезиванию с помощью повышенной аэрации или известкования при pH 8,0 - 8,5 с последующим отстаиванием.

Известно, что сточные воды, подаваемые на биологическую очистку, не должны содержать более 5 мг/дм^3 соединений железа. Однако реально сточные воды крупных городов, имеющих развитую промышленность, содержат больше железа. Так, содержание железа в городских сточных водах С-Петербурга, поступавших на очистку на крупные станции аэрации, составляло $6,1-11,7 \text{ мг/дм}^3$. Это приводило к тому, что содержание железа в очищенной воде не всегда отвечало требованиям ($0,3 \text{ мг/дм}^3$), но с учетом разбавления эта норма при выпуске в водоем-приемник не превышалась.

Микробиологические методы очистки воды

Биотрансформация соединений железа при биоочистке: восстановление, окисление, сорбция, накопление

Известно также, что дополнительное внесение соединений железа интенсифицирует процесс метанового сбраживания осадков очистных сооружений в метантенках.

Хотя железо является малотоксичным элементом для теплокровных животных и человека (LD_{50} для крыс составляет 900 мг/кг веса), но для рыб и водных беспозвоночных вредные концентрации гораздо меньше. Для карпа, например, летальной концентрацией является 0,9 мг/дм³ при рН 5,5; форель гибнет при концентрации ионов железа 10 мг/л при рН 5,0- 6,7 через 5 минут. На дафний концентрация Fe^{2+} (в составе $FeCl_2$) в 38 мг/дм³ оказывает летальное действие через 64 часа.

Известно, что ионы железа в определенных концентрациях оказывают губительное действие на микрофлору очистных сооружений канализации. Например, ион Fe^{2+} (в составе $FeCl_2$) в концентрации 5 мг/дм³ задерживал образование активного ила и тормозил сбраживание осадка в отстойниках и метантенках; при этой концентрации гибла микрофлора биологических фильтров. Следует отметить, что предварительная обработка сточных вод избыточным активным илом перед поступлением этих вод в аэротенки способствует снижению концентрации железа, и этот прием защищает микрофлору очистных сооружений.

*Сорбции металлов способствует и химическая природа компонентов активного ила, в частности наличие большого числа функциональных групп, принадлежащих полимерным органическим кислотам, близких по составу к гуминовым. Показано, что активный ил, в котором преобладала *Zoogloea ramigera*, сорбировал следующие количества ионов металлов (в % на сухую массу хлопьев): 34,0 Cu^{2+} ; 17,0 Fe^{2+} ; 12,5 Ni^{2+} , что связывают с наличием полианионов зооглеи.*

Биотрансформация соединений железа при биоочистке:

восстановление, окисление, сорбция, накопление

*Хелатирующими веществами в сточной воде, особенно при ее биологической очистке, могут быть метаболиты микроорганизмов, выделяемые естественным образом или в результате автолиза или лизиса клеток микроорганизмов. Эти метаболиты - аминокислоты, пептиды, белки, нуклеотиды и нуклеиновые кислоты могут быть биохимическими лигандами для ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} и образовывать с ними устойчивые и прочные комплексы через донорные атомы N, O, S своих амино-, карбоксильных, имидазольных, сульфгидрильных и других групп. Прочность этих комплексов может быть такова, что металл и органическая часть соединения недоступны для питания микроорганизмов. Например, цитраты железа быстро минерализовались смешанной микробной популяцией, тогда как комплексные соли железа с этилендиаминотетрауксусной кислотой, ЭДТА, - сильным комплексообразователем, не разрушались совсем. Очень мало известно о метаболизме и распаде сидерофоров. Известно, что бактерии *Pseudomonas Fc-1* способны расти на феррихромах, используя их как источник азота и углерода, но только тогда, когда они связаны с железом (или алюминием), а деметаллированные соединения не расщепляются.*

Связывание металлов с белками также изменяет их биодоступность для микроорганизмов. Так, железо из многих железотранспортирующих белков недоступно для питания микроорганизмов. Например, железо кональбумина куриного яйца, лактоферрина молока, слезной жидкости и слюны, серотрансферина сыворотки крови настолько прочно связано с белком, что его не могут использовать бактерии.

Микробиологические методы очистки воды

Биотрансформация соединений железа при биоочистке:

восстановление, окисление, сорбция, накопление

Исследование химической природы комплексных соединений железа с растворенными органическими веществами (РОВ) позволило сделать вывод, что железо в зависимости от компонентного состава РОВ в воде образует комплексы с лигандами анионной, катионной и нейтральной природы, соответственно с гумусовыми веществами, белками и углеводами. Приоритетную роль в связывании железа в комплексные соединения играют гумусовые вещества, в основном фульвокислоты, особенно в весенний период. Максимум относительного содержания комплексов железа с углеводами приходится на зимний период.

Для вод с незначительным содержанием органических веществ типично образование агрегатов оксигидроксидов железа, так как известно, что в водных растворах комплексы Fe^{3+} при $pH > 3$ могут полимеризоваться с образованием оксомостиковых структур типа $Fe(III)-O-Fe(III)$. В составе агрегатов, кроме Fe и O , обнаружены также элементы P , Ca , Mn , Na . При этом наблюдались постоянные молярные отношения $Fe : P$ (4:1) и $Fe : Ca$ (52:1).

Потребность микроорганизмов в железе может быть различной и колебаться в пределах от 0,2 до 100 мг/дм³ Fe^{2+} . Для многих микроорганизмов является достаточным присутствие железа как микроэлемента в следовых количествах. Поэтому в ряд питательных сред для выращивания бактерий добавляют около 0,2 мг/дм³ Fe^{2+} , чаще всего в виде соли $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, либо не добавляют вовсе, считая, что следовые количества этого элемента всегда присутствуют. Синтетическая питательная среда (P1) содержит 1,4 мг/дм³ Fe^{2+} .

Микробиологические методы очистки воды

Потребность микроорганизмов в железе

Многие питательные среды содержат в своем составе до 20 мг/дм³ железа. К таким средам, например, относится среда Раймонда для выращивания аэробных углеводородокисляющих бактерий, а также среды для выделения и выращивания нокардий, родококков, денитрификаторов. Среда Бромфельда, используемая для выделения железо- и марганцевосстанавливающих бактерий, к которым относятся многие известные гетеротрофные бактерии, содержит до 22 мг/дм³ железа, добавляемого в виде соединений $FeCl_3$ или $Fe(OH)_3$. Наибольшее количество железа содержат среды для выделения анаэробных сульфатовосстанавливающих бактерий. Так, среда Постгейта содержит 0,5 г/дм³ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, то есть около 100 мг/дм³ Fe^{2+} . Эти данные противоречат данным о предельно допустимой концентрации железа для микроорганизмов активного ила - 5 мг/дм³. Это может быть объяснено тем, что питательные среды, в отличие от сточных вод, не содержат токсичных соединений и кумулятивного токсичного эффекта здесь не возникает.

*Наиболее доступными и предпочтительными источниками железа для бактерий в сточных водах являются ионы Fe^{3+} и Fe^{2+} . Многие бактерии используют для этих целей соли окисного и закисного железа, некоторые бактерии предпочитают FeS (р. Gallionella), а бактерии *Triobacillus ferrooxidans* могут использовать железо из минералов гематита, магнетита, пирита и т. д. Многие бактерии могут использовать железо органических солей, например цитратов, а также железо комплексных органических соединений за исключением случаев, когда железо связано сильными комплексообразователями (типа ЭДТА). Недостаток железа как элемента питания отражается на лимитации скорости роста бактерий.*

Микробиологические методы очистки воды

Восстановление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

Восстановление соединений железа может происходить в разных зонах обеспеченности кислородом, так как этот процесс могут осуществлять анаэробные, факультативно анаэробные и аэробные микроорганизмы. Биохимические механизмы восстановительных реакций различны и могут быть как неспецифическими, происходящими в результате побочных реакций, так и специфическими.

У ряда микроорганизмов восстановление окислов железа происходит в результате реакции их взаимодействия с восстановленными продуктами метаболизма, в том числе с H_2S и веществами, содержащими тиоловые группы, с некоторыми аминокислотами, органическими кислотами (щавелевой), гидроксиламином, слизями. Из перечисленных восстановленных метаболитов, реагирующих с Fe^{3+} , наиболее существенное значение в процессах очистки сточных вод имеют H_2S и слизи (экзополисахариды).

Неспецифические процессы восстановления соединений железа протекают и в аэробных зонах очистных сооружений за счет продуктов микробного метаболизма - органических веществ, в том числе и экзополисахаридов, выделяемых многими гетеротрофными микроорганизмами.

*Еще одним неспецифическим механизмом восстановления соединений железа может быть сброс избытка электронов у микроорганизмов-броидильщиков. В этих случаях восстановление Fe^{3+} не сопровождается увеличением биомассы. Такой процесс восстановления Fe^{3+} в процессе сбраживания органических веществ возможен у *Cl. sticklandii*, у бактероидов и некоторых вибрионов.*

Микробиологические методы очистки воды

Восстановление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

*К специфическим механизмам восстановления соединений железа относят механизмы, в которых железо участвует в качестве акцептора электронов при анаэробном дыхании. Восстанавливать соединения железа по специфическому механизму анаэробного дыхания могут как литотрофные, так и гетеротрофные бактерии. Известно, что в анаэробных условиях этот процесс могут осуществлять литотрофные бактерии *Thiobacillus thiooxidans*, *Th. ferrooxidans*, *Sulfolobus acidocaldarius*, водородные бактерии *Paracoccus denitrificans*, *Micrococcus lactilyticus* (= *Veilonella*) и многие гетеротрофные бактерии, например, *A. aezogenes*, *Bac. cereus*, *Bac. polymyxa*, *Bac. circulans*, *E. coli*, *Pseudomonas herbicola*, *Ps. denitrificans*, *Serratia marcescens*, бактерии рода *Staphylococcus*, сульфатредукторы *D. desulfuricans* и *Dtm. nigificans*. Предполагают, что восстановление железа связано с наличием специфической ферриредуктазной системы у этих бактерий. В этих процессах при использовании Fe^{3+} в качестве акцептора электронов накопление биомассы бактерий пропорционально количеству восстановленного железа.*

Окисление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

Способность окислять двухвалентные соединения железа присуща многим бактериям, принадлежащим к разным таксономическим группам и обладающим разным типом обмена веществ. Многие микробиологи выделяют их в отдельную физиологическую группу железобактерий. Железобактерии принято разделять на две группы:

- 1) ацидофильные бактерии, использующие процессы окисления соединений двухвалентного железа в качестве энергетических;*
- 2) бактерии, окисляющие соединения железа при нейтральной или слабощелочной реакции среды и способные к отложению окислов железа на поверхности клеток.*

Окисление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

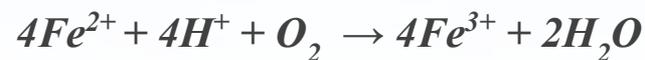
Группа ацидофильных бактерий, использующих процессы окисления соединений двухвалентного железа в качестве энергетических процессов

Сравнительно немногочисленная по числу видов группа, включает "истинные" железобактерии.

В нее входят облигатно ацидофильные железобактерии, получающие энергию за счет окисления двухвалентного железа до трехвалентного и использующие эту энергию для ассимиляции CO_2 как источника углерода.

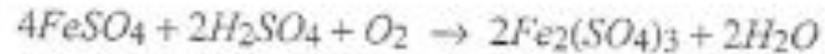
Хемолитотрофные бактерии *Thiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, а также недавно открытые термофильные виды бактерий рода *Sulfolobus* и некоторые неидентифицированные виды бактерий. Бактерии *Thiobacillus ferrooxidans* были выделены из кислых шахтных вод, в которых происходила интенсивная коррозия металлического оборудования. Они представляют собой грамотрицательные подвижные палочки, у которых оптимум pH роста лежит ниже 4,5 (2 - 3), а оптимум температуры - в пределах 20 - 30 °С. Для выделения *Thiobacillus ferrooxidans* используют среду Летена - минеральную среду с pH 3,5 и содержащую 10 мл 10% раствора $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (200 мг $\text{Fe}^{2+}/\text{дм}^3$). Через 1 - 4 недели на поверхности агаризованной среды появляются мелкие ярко-оранжевые или желтые колонии, или в глубине агара - колонии диаметром 0,1 - 0,5 мм - темные с диффузным краем.

Углерод большинство штаммов *Thiobacillus ferrooxidans* получает из диоксида углерода, CO_2 , а энергию для его усвоения - при окислении соединений закисного железа в соответствии с уравнением

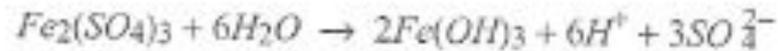


Окисление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

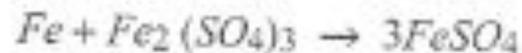
Некоторые штаммы Th. ferrooxidans оказались способными расти на средах с органическими соединениями, являясь, таким образом, факультативными хемолитоавтотрофами. Все штаммы Th. ferrooxidans являются главными возбудителями аэробной коррозии. Для наиболее типичного случая окисления бактериями закисного сернокислого железа реакция идет по уравнению



Окисление железа приводит к подщелачиванию среды, что вызывает гидролиз соли с образованием гидрата окиси железа и освобождением серной кислоты:



Помимо быстрого накопления серной кислоты в процессе окислительной деятельности, Th. ferrooxidans образует сульфат окиси железа, который является также агрессивным окислителем по отношению к металлическим конструкциям:



Окисное железо, принимая электроны с поверхности стали или железа, восстанавливается до закисного, которое, в свою очередь, снова окисляется до окисного Th. Ferrooxidans.

Микробиологические методы очистки воды

Окисление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

*В таких условиях процесс коррозии металла в присутствии *Th.ferrooxidans* может идти неограниченное время и с очень высокой скоростью. Бактериальное окисление двухвалентного железа в кислой среде происходит в сотни тысяч раз быстрее, чем химическое окисление.*

*Этим свойством *Th. ferrooxidans* и тионовых бактерий вообще можно объяснить стремительные коррозионные разрушения шахтного оборудования (в том числе метрополитена) и подземных коммуникаций (в том числе газопроводов), в особенности при наличии серы, железа и карбонатов, так как особенно в этих условиях тионовые и сульфатредуцирующие бактерии наиболее активны и широко распространены.*

*Таким образом, бактерии *Th. ferrooxidans* создают в присутствии кислорода коррозионно-агрессивную среду и играют, наряду с другими тионовыми бактериями, большую роль в процессах аэробной коррозии, тем более, что эти бактерии имеют тесный контакт с корродируемым металлом, поскольку способны адгезироваться к его поверхности.*

*Способность *Th. ferrooxidans* окислять практически все известные сульфидные минералы находит практическое применение в гидрометаллургии для бактериального выщелачивания бедных руд, когда ионы металлов из нерастворимых сульфидов переходят в раствор в виде сульфатов.*

Микробиологические методы очистки воды

Окисление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

Соли железа, присутствующие в сточных водах, оказывают благоприятное действие на рост сульфатвосстанавливающих бактерий, так как они связывают H_2S - продукт метаболизма, образующийся в результате восстановления сульфатов, переводя его в осадок FeS . При добавлении в этих условиях ЭДТА, удаляющего добавляемое железо (II) из среды в составе бионедоступного комплекса, эффекта стимуляции роста сульфатвосстанавливающих бактерий не наблюдается.

*Таким образом, первая группа бактерий, специфично окисляющих соединения железа для нужд энергетического обмена, играет важную роль в ряде анаэробных процессов. Наиболее изученными из этой физиологической группы ацидофильных железooksисляющих бактерий являются бактерии *Thiobacillus ferrooxidans*. Развиваясь в анаэробных зонах очистных сооружений, эти бактерии являются возбудителями коррозии металлических и железобетонных конструкций в воде. С другой стороны, эти же бактерии используют в гидрометаллургии для обогащения руд, а также используют для очистки сточных вод от избыточных количеств железа в составе двухсистемных биоценозов, содержащих помимо тионовых бактерий, серные бактерии и микроводоросли.*

Окисление соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

Группа бактерий, окисляющих соединения железа (II) в нейтральной или слабощелочной среде

Вторую физиологическую группу железooksисляющих бактерий составляют бактерии, окисляющие соединения железа (II) при нейтральной или слабощелочной реакции среды. Окисление железа в этом случае является процессом неспецифическим и побочным для осуществляющих его микроорганизмов и происходит без использования энергии окисления железа. Физиологическое значение этого процесса - детоксикация H_2O_2 , образующегося в процессе метаболизма у многих бактерий. Как было показано на примере бактерий рода *Leptothrix*, выделение H_2O_2 приводит к ингибированию роста бактерий, особенно при увеличении концентрации органических веществ вплоть до лизиса клеток. Добавление к среде Fe^{2+} , Mn^{2+} , MnO_2 аналогично добавлению каталазы и заметно улучшает рост бактерий и устойчивость культур в результате удаления H_2O_2 .

При этом процесс окисления железа сопровождается накоплением окислов железа (или марганца) на поверхности клеток и присущ обширной группе бактерий, различающихся морфологическими и физиологическими признаками и принадлежащих к разным таксономическим группам. Способность к окислению двухвалентных форм железа и марганца с отложением окислов на поверхности клеток присуща представителям так называемых "классических" железобактерий:

нитчатые

p. Leptothrix (L. cholodnii, L. lopholea, L. ochraceae);

p. Sphaerotilus (S. natans);

p. Toxothrix (T. trichogenes);

p. Crenothrix (C. polyspora).

микоплазмы

p. Metallogenium (M. personatum, M. symbioticum);

p. Gallionella (G. ferruginea);

сем. *Siderocapsaceae* с родами:

p. Siderocapsa (S. hexagonata, S. major, S. monoica, S. quadrata);

p. Siderococcus (S. limoniaticus);

p. Naumaniella (N. catenata, N. neustonica, N. polymorpha);

p. Ochrobium.

Процесс сорбции соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

Процесс сорбции имеет в основе физико-химическую природу в значительной мере обусловлен химическим составом и свойствами поверхностных структур клетки. Он включает связывание ионов железа внеклеточными экзополимерами (капсулы, слизистые слои, чехлы), клеточной стенкой, ЦПМ и в незначительном количестве - некоторыми структурными элементами цитоплазмы (после их транспорта в клетку с участием сидерофоров). Следует отметить, что накопление окислов железа в значительном количестве происходит только на поверхности клеток. Исключения составляют так называемые магнитные спириллы, у которых обнаружено накопление магнетита в цитоплазме.

Из различных видов сорбции ионов металлов клеткой наиболее значимым является сорбция внеклеточными экзополимерами, из которых состоят капсулы, слизистые слои и чехлы клеток микроорганизмов. При этом сорбционные свойства экзополимеров связаны, главным образом, с наличием в их составе кислотных групп (карбоксильных, фосфатных и др.). Это позволяет экзополимерам функционировать в качестве полианионитов, обладающих высоким родством к катионам. Входящие в состав экзополимеров белковые структуры также могут взаимодействовать с металлами путем образования комплексных соединений.

Клеточные стенки бактерий также играют существенную роль в сорбции ионов металлов. При этом наиболее активно ионы металлов сорбируются клеточными стенками грамположительных бактерий, что связано с наличием в их составе большого количества кислотных группировок анионных гетеро- полимеров - тейхоевых и тейхуроновых кислот. Эти компоненты клеточной стенки активно взаимодействуют с ионами металлов, находящимися в растворе.

Микробиологические методы очистки воды

Процесс сорбции соединений железа с участием микроорганизмов на очистных сооружениях

Накопление металлов микроорганизмами приводит к значительному их концентрированию клетками по отношению к среде. Коэффициент накопления железа и марганца, например, может достигать $10^5 - 10^6$, что на два-три порядка выше, чем для других тяжелых металлов. При этом количество накопленных на поверхности клеток оксидов железа может в десятки раз превышать вес самих клеток.

Железоокисляющие бактерии, образующие слизистые поверхностные структуры или выделяющие экзополисахариды, играют важную роль в формировании плотных пленок обрастаний на твердых субстратах, которые, в свою очередь, концентрируют металлы из водной среды, образуя слои окислов металлов и локальные анаэробные зоны.

Выводы о роли соединений железа в жизнедеятельности микроорганизмов-деструкторов загрязнений сточных вод

Обобщая данные о роли соединений железа в жизнедеятельности микроорганизмов-деструкторов загрязнений сточных вод, необходимо отметить, что роль эта велика и неоднозначна. Железо, с одной стороны, является необходимым элементом питания, так как входит в состав важнейших биологически активных соединений клетки и активно поглощается микроорганизмами.

Количественные потребности в железе различны. Для большинства бактерий оно является микроэлементом и содержание $[Fe] > 10^{-7}$ М (т.е., не менее 5,6 мг/дм³) является оптимальным и стимулирующим рост микроорганизмов. Повышенную потребность в железе имеют бактерии, относящиеся к физиологической группе железooksисляющих бактерий, для которых окислительно-восстановительные реакции железа являются источником энергии (ацидофильная подгруппа) или для которых реакции ионов Fe с H_2O_2 являются защитным биохимическим приспособлением (нейтральная подгруппа). К последней подгруппе примыкают и многие известные популяции бактерий-деструкторов, использующих железо в неспецифических биологических реакциях детоксикации H_2O_2 .

С другой стороны, при превышении оптимальных для микроорганизмов концентраций, железо может быть и токсичным элементом, входящим в группу техногенных "тяжелых металлов", удаление которых является проблемой в очистке сточных вод.

Также неоднозначным является и присутствие популяций, метаболизирующих соединения железа в сооружениях очистки сточных вод. При этом их отрицательная роль - участие в обрастаниях и возбуждении коррозии металла и бетона, а также в мобилизации соединений железа из осадков - является превалирующей.

Микробиологические методы очистки воды