

УДК: 579.811.2/3+577.[12+151]

ДИСИМІЛЯЦІЙНА СУЛЬФАТРЕДУКЦІЯ У БАКТЕРІЙ РОДУ *DESULFOVIBRIO* ОЗЕРА «ЯВОРІВСЬКЕ» ЗА РІЗНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ

Мороз О. М., Грицишин Г. Р., Звір Г. І., Кулачковський О. Р.

Дисиміляційна сульфатредукція у бактерії роду *Desulfovibrio* озера «Яворівське» за різних умов культивування. — О. М. Мороз, Г. Р. Грицишин, Г. І. Звір, О. Р. Кулачковський. — Виявлено, що зростання концентрації акцептора (сульфатів) до 10,5 мМ та донора електронів (лактату натрію) до 12 г/л та збільшення кількості клітин під час засіву до 3 г/л у середовищі культивування сульфатвідновлювальних бактерій сприяло активізації процесу дисиміляційної сульфатредукції. Клітини сульфатвідновлювальних бактерій виявилися високочутливими до гідроген сульфід. Значне пригнічення їх росту виявлено вже за концентрації 3 мМ гідроген сульфід у середовищі. У середовищі культивування клітин штаму *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 утворювалися сульфідні не лише свинцю, цинку, нікелю, кобальту, заліза, міді та кадмію, але і магнію, марганцю та ртуті. Продемонстровано, що при культивуванні *Desulfovibrio* sp. Yav-8 у середовищі Кравцова-Сорокіна із збільшенням втричі вмістом сульфат-іонів та у шість разів лактату натрію при густині засіву 3 г/л відносна кількість зв'язаних гідроген сульфідом Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} та Cd^{2+} , внесених на початку культивування у концентрації 2 мМ, становила 95,9–99,5%.

Ключові слова: сульфатвідновлювальні бактерії, дисиміляційна сульфатредукція, *Desulfovibrio desulfuricans*, гідроген сульфід, сульфати, важкі метали.

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

Dissimilatory sulfate reduction in bacteria *Desulfovibrio* genus isolated from «Yavorivske» lake at different cultivation conditions. — O. Moroz, H. Hrytsyshyn, G. Zvir, O. Kulachkovsky. — Concentrations of electron acceptor (sulfates) to 10,5 mM and electron donor (sodium lactate) to 12 g/l and cells quantity during sowing to 3 g/l increasing in cultivation medium of sulfate reducing bacteria promote to activation of dissimilatory sulfate reduction process it was discovered. Sulfate reducing bacteria cells proved to be high sensitive to hydrogen sulfide in medium. At hydrogen sulfide concentration 3 mM in medium growth decreasing was significant was discovered. In cultivation medium of strain *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 created sulfides not only of lead, zinc, nickel, cobalt, iron, copper and cadmium, but magnesium, manganese and mercury. During *Desulfovibrio* sp. Yav-8 cultivation in Kravtsov-Sorokin medium with increased by 3 fold quantity of sulfate ions and by 6 fold sodium lactate at cells density during sowing 3 g/l the relative quantity of binding by hydrogen sulfide Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} and Cd^{2+} , added on cultivation start at 2 mM concentration, was 95,9–99,5% it was demonstrated.

Key words: sulfate reducing bacteria, dissimilatory sulfate reduction, *Desulfovibrio desulfuricans*, hydrogen sulfide, sulfates, hard metals.

Address: Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevsky Str., 4, Lviv 79005, Ukraine, e-mail: moroz_oksana@yahoo.com

Вступ

У водоймах з високим вмістом сульфатів активно розвиваються сульфатвідновлювальні бактерії, які володіють унікальною метаболічною властивістю – здатністю переносити водень від органічного субстрату на сульфат як кінцевий акцептор електронів і відновлювати останній до сірководню, що є небезпечним фактором забруднення довкілля [2].

Сульфати у високих концентраціях часто зустрічаються у затоплених кар'єрах сіркових родовищ (озеро «Яворівське» [9]), стоках нафтопереробних, целюлозно-паперових, харчових підприємств. На територіях діючих та недіючих шахт, полігонів побутових та промислових відходів утворюються кислі дренажні води, що містять, крім сульфатів, важкі метали [11]. Сульфатвідновлювальні бактерії привертають увагу дослідників як потенційні агенти очищення стічних і дренажних вод, забруднених важкими

металами і сульфатами. Вони можуть використовувати ряд металів із змінною валентністю (Cr (VI), U (VI), Tc (VI), Pd (II) і ін.) як акцептори електронів і при цьому переводити їх у менш токсичні малорозчинні форми. З іншого боку, гідроген сульфід, утворений бактеріями в процесі дисиміляційної сульфатредукції, осаджує багато металів (Cu (II), Cd (II), Ni (II), Pb (II), Zn (II)) у формі сульфідів або є сильним відновлюючим агентом, який сприяє редукції металів до більш відновлених форм. Утворення сульфідів металів – основний механізм, за рахунок якого сульфатвідновлювальні бактерії видаляють важкі метали з розчину [11, 13, 14]. Оскільки хімічні методи очищення сульфат- і металовмісних стоків дорогі і мало-ефективні, мікробні процеси є більш перспективними, особливо при застосуванні метаболічної активності сульфатвідновлювальних бактерій [11, 12].

Метою роботи було дослідити умови утворення максимальної кількості гідроген сульфід сульфатвід-

новлювальними бактеріями, виділеними з водойми Яворівського сіркового родовища і проаналізувати можливість їх застосування для очистки водного середовища від сульфатів та важких металів.

Матеріал і методи

Об'єктами дослідження були сульфатвідновлювальні бактерії: *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 [10], *Desulfovibrio sp. Yav-6* і *Desulfovibrio sp. Yav-8* [8], виділені з водойми Яворівського сіркового родовища.

Бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна такого складу (г/л): $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ – 0,5; NaH_2PO_4 – 0,3; K_2HPO_4 – 0,5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$ – 2,0. Перед висівом у середовище вносили 0,05 мл стерильного розчину $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ (1%), для доведення рН середовища до 7,2 використовували стерильний 10 н розчин NaOH [5]. Клітини бактерій вирощували впродовж 10 діб у термостаті при температурі 30°С за анаеробних умов у пробірках, об'ємом 25 мл, доверху заповнених середовищем. Розчини солей важких металів та сульфід натрію стерилізували окремо і вносили в середовище у відповідних концентраціях.

Біомасу визначали за мутністю суспензії клітин шляхом її фотометрування на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 340 нм у кюветі з оптичним шляхом 3 мм і розраховували за формулою: $C, \text{ г/л} = (E_{340} \times n) / 0,19$, де E_{340} – екстинкція при 340 нм; n – фактор розведення; 0,19 – коефіцієнт перерахунку, отриманий за калібрувальною кривою залежності екстинкції від сухої маси клітин.

Культивування бактерій проводили в пробірках за анаеробних умов, густина засіву – 0,05 г/л. В окремих експериментах для засіву використовували біомасу 1, 2, 3 г/л (контроль: 0,05 г/л). На 2, 4, 5, 6, 7 та 10 доби культивування визначали біомасу, концентрації сульфатів турбідиметричним методом [1], гідроген сульфід у йодометричним [6] та ацетату титриметричним [1]. Клітини осаджували при 6000 об/хв впродовж 15 хвилин, клітини відділяли, а у супернатанті визначали вміст сульфатів, гідроген сульфід та ацетату.

Досліджували вплив різних концентрацій іонів сульфату на ріст і утворення гідроген сульфід сульфатвідновлювальними бактеріями. Для цього клітини культур *Desulfovibrio sp. Yav-6*, *Desulfovibrio sp. Yav-8* і штаму *D. desulfuricans* Ya-11 висівали у середовище Кравцова-Сорокіна, яке містило різні концентрації іонів сульфату. Концентрацію іонів сульфату у складі $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ у середовищі було збільшено у 3 (10,407 мМ), 5 (17,345 мМ) та 10 (34,687 мМ) разів (пропорційно для кожної сполуки), порівняно із стандартним вмістом $[\text{SO}_4^{2-}]$ у середовищі Кравцова-Сорокіна, який становить 3,469 мМ (сумарно у трьох вище перелічених компонентах). Густина засіву – 0,05 г/л. На 10 добу культивування визначали біомасу та концентрацію гідроген сульфід.

Для дослідження впливу різних концентрацій лактату натрію на утворення гідроген сульфід клітини штаму *D. desulfuricans* Ya-11 та культур

Desulfovibrio sp. Yav-6 і *Desulfovibrio sp. Yav-8* висівали у середовище Кравцова-Сорокіна, яке містило різні концентрації лактату натрію. Вміст лактату натрію у середовищі було збільшено у 2 (4 г/л), 4 (8 г/л), 6 (12 г/л), 8 (16 г/л) та 10 (20 г/л) разів, порівняно із стандартним вмістом цієї сполуки у середовищі Кравцова-Сорокіна, який становить 2 г/л. Густина засіву – 0,05 г/л. На 10 добу культивування визначали біомасу та концентрацію гідроген сульфід.

Вивчали чутливість клітин штаму *D. desulfuricans* Ya-11 до гідроген сульфід, який вносили у середовище Кравцова-Сорокіна у вигляді стерильного розчину $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ у концентраціях: 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10 мМ. Густина засіву становила 0,2 г/л. Після 10 діб росту визначали біомасу.

Визначали рівень зв'язування іонів важких металів продукованими клітинами штаму *D. desulfuricans* Ya-11 або культури *Desulfovibrio sp. Yav-8* гідроген сульфідом. Для цього, бактерії вирощували впродовж 10 діб у присутності солей важких металів: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, ZnCl_2 , NiCl_2 , CoCl_2 , CuCl_2 , $\text{FeCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Їх додавали до середовища у концентраціях: 0,3; 0,5; 0,7; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 мМ. Для засіву використовували суспензію добової культури мікроорганізмів концентрацією 0,05 г/л, що становить близько 10^8 КУО/мл, або у окремих експериментах – 3 г/л. Контрольними були пробірки з середовищем і клітинами, до яких не додавали солей важких металів. Утворення гідроген сульфід і металосульфідів також вивчали, культивуючи клітини культури *Desulfovibrio sp. Yav-8* у середовищі Кравцова-Сорокіна із збільшеним втричі (10,407 мМ) вмістом іонів сульфату та у шість разів лактату натрію (12 г/л). Вміст металосульфідів визначали ваговим методом після їх осадження центрифугуванням впродовж 20 хв при 6 тис. об/хв. Відносну кількість (%) зв'язаного гідроген сульфідом металу розраховували, виходячи із співвідношення концентрацій утвореного металосульфід і металу, внесеного до середовища на початку культивування бактерій, приймаючи її за 100%.

Проводили якісне визначення можливості утворення металосульфідів після взаємодії солей важких металів із гідроген сульфідом бактерійного походження. Для цього клітини штаму *D. desulfuricans* Ya-11 культивували впродовж 10 діб у середовищі Кравцова-Сорокіна, яке містило $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, ZnCl_2 , NiCl_2 , CoCl_2 , $\text{FeCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, CuCl_2 , $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, MnSO_4 , HgNO_3 у концентрації 4 мМ.

Проводили статистичну обробку результатів [4].

Результати досліджень та їх обговорення

Мікробна сульфатредукція важлива не лише для мінералізації металів у осадах водних екосистем, але і для розщеплення органічної речовини у присутності сульфатів [11]. Вивчення закономірностей здійснюваної сульфатвідновлювальними бактеріями дисимільційної сульфатредукції є актуальним для розробки ефективних біоремедіаційних схем на основі використання метаболічної активності сульфатвідновлюва-

льних бактерій, спрямованих на очистку забруднених металами стічних вод, які містять органіку у поєднанні з сульфатами.

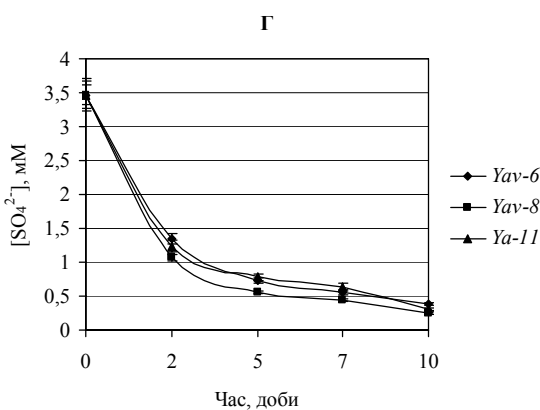
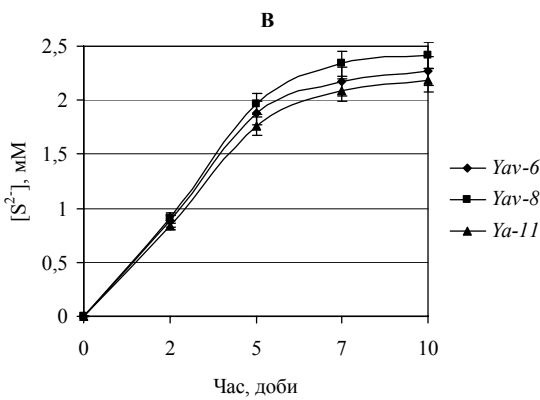
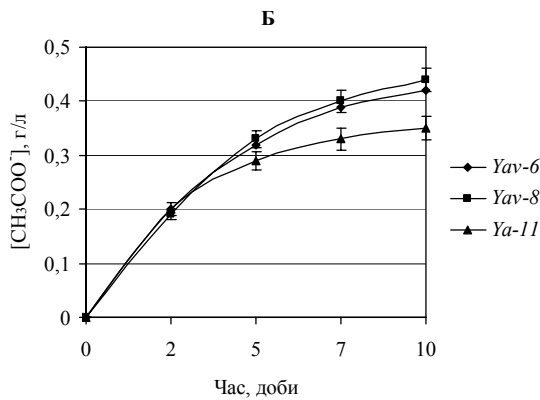
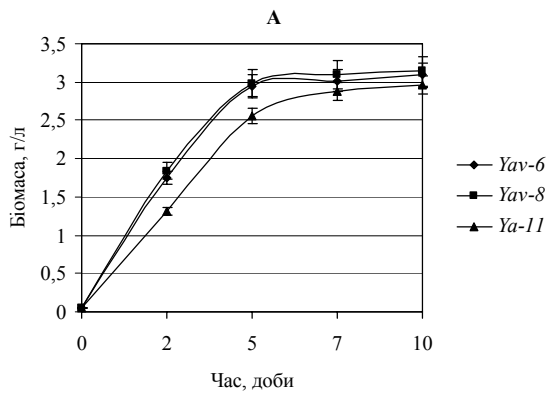


Рис. 1. Біомаса (А), нагромадження ацетату (Б), утворення гідроген сульфїду (В) та відновлення сульфатів (Г) під час росту сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі Кравцова-Сорокіна.

Під час росту сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі Кравцова-Сорокіна, клітини, відновлюючи сульфати, активно утворювали гідроген сульфїд (до 2,41 мМ) та, засвоюючи лактат, нагромаджували ацетат (до 0,44 г/л) (рис. 1).

Якщо концентрацію іонів сульфату як акцептора електронів дисиміляційної сульфатредукції у середовищі культивування збільшували втричі (10,5 мМ), у п'ять (17,4 мМ) чи десять (34,7 мМ) разів, спостерігали покращення як росту, так і продукування гідроген сульфїду клітинами сульфатвідновлювальних бактерій (рис. 2).

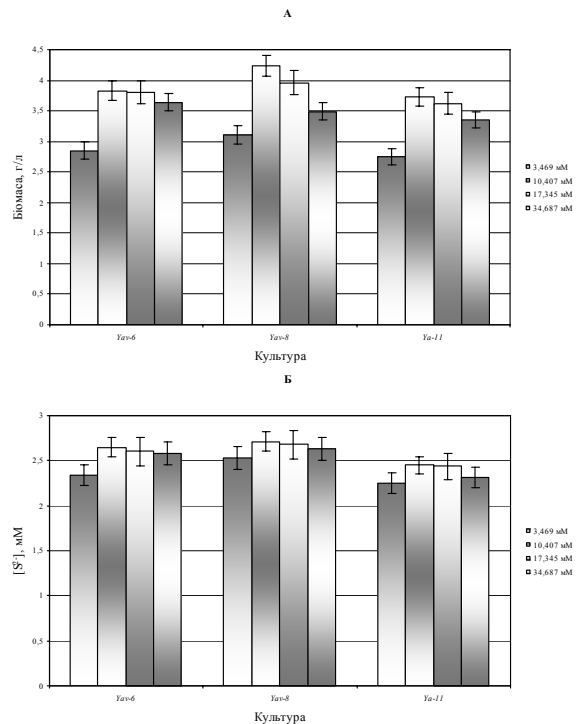


Рис. 2. Біомаса (А) та утворення гідроген сульфїду (Б) культурами сульфатвідновлювальних бактерій після 10 дїб росту у середовищі Кравцова-Сорокіна з різним вмістом сульфат-іонів.

Стимуляція процесу сульфатредукції не відбувалася пропорційно до зростання концентрації іонів сульфату у середовищі. Найбільша кількість гідроген сульфїду – 2,71 мМ при біомасі – 4,24 г/л, виявлена на 10 добу культивування *Desulfovibrio sp. Yav-8* у середовищі, яке містило 10,5 мМ [SO₄²⁻]. Штам *D. desulfuricans Ya-11* за концентрації 10,5 мМ іонів сульфату у середовищі утворював 2,45 мМ гідроген сульфїду при біомасі – 3,73 г/л. Підвищення концентрації сульфат-іонів у середовищі до 17,4 та 34,7 мМ (у п'ять та десять разів) не супроводжувалось подальшим зростанням біомаси та стимуляцією утворення клітинами гідроген сульфїду. Можливо, процес дисиміляційної сульфатре-

дукції обмежують інші фактори, такі як наявність у середовищі донора електронів.

Зростання вмісту лактату натрію у середовищі – у два (4 г/л), чотири (8 г/л), шість (12 г/л), вісім (16 г/л) та десять (20 г/л) разів – стимулювало процес сульфатредукції, здійснюваний сульфатвідновлювальними бактеріями (рис. 3). Як і у випадку із збільшенням вмісту сульфатів у середовищі, так і зростання вмісту лактату не приводило до пропорційного зростання сульфатредукції. Найбільша кількість гідроген сульфідну (2,85 мМ) та біомаса (3,66 г/л) виявлені при культивуванні культури *Desulfovibrio sp. Yav-8* у середовищі, яке містило 12 г/л лактату натрію. Штам *D. desulfuricans Ya-11* за концентрації лактату натрію 12 г/л у середовищі утворював 2,74 мМ гідроген сульфідну при біомасі – 3,51 г/л. Підвищення концентрації лактату натрію до 16 та 20 г/л у середовищі культивування не сприяло збільшенню вмісту гідроген сульфідну та росту культур сульфатвідновлювальних бактерій. Таким чином, зростання концентрації акцептора електронів (сульфатів) до 10,5 мМ та донора електронів (лактату натрію) до 12 г/л у середовищі культивування сульфатвідновлювальних бактерій сприяло активізації процесу дисиміляційної сульфатредукції. Зростання кількості гідроген сульфідну було незначним, можливо, у зв'язку з його токсичністю для бактерій.

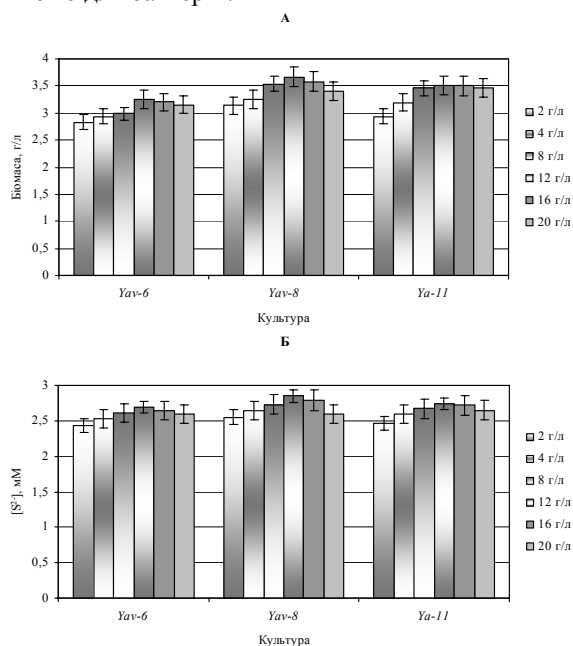


Рис. 3. Біомаса (А) та утворення сірководню (Б) культурами сульфатвідновлювальних бактерій після 10 діб росту у середовищі Кравцова-Сорокіна з різним вмістом лактату натрію.

При збільшенні кількості клітин під час засіву до 3 г/л теж виявлено несуттєве зростання росту, утворення гідроген сульфідну та відновлення сульфатів клітинами бактерій (рис. 4). Якщо при густині засіву 0,05 г/л клітини *D. desulfuricans Ya-11* продукували 2,86 мМ гідроген сульфідну, то при 3 г/л – 3,31 мМ. Отже, припустили, що основним

лімітуючим фактором для підвищення ефективності сульфатредукції є негативний вплив гідроген сульфідну на метаболічну активність бактерій.

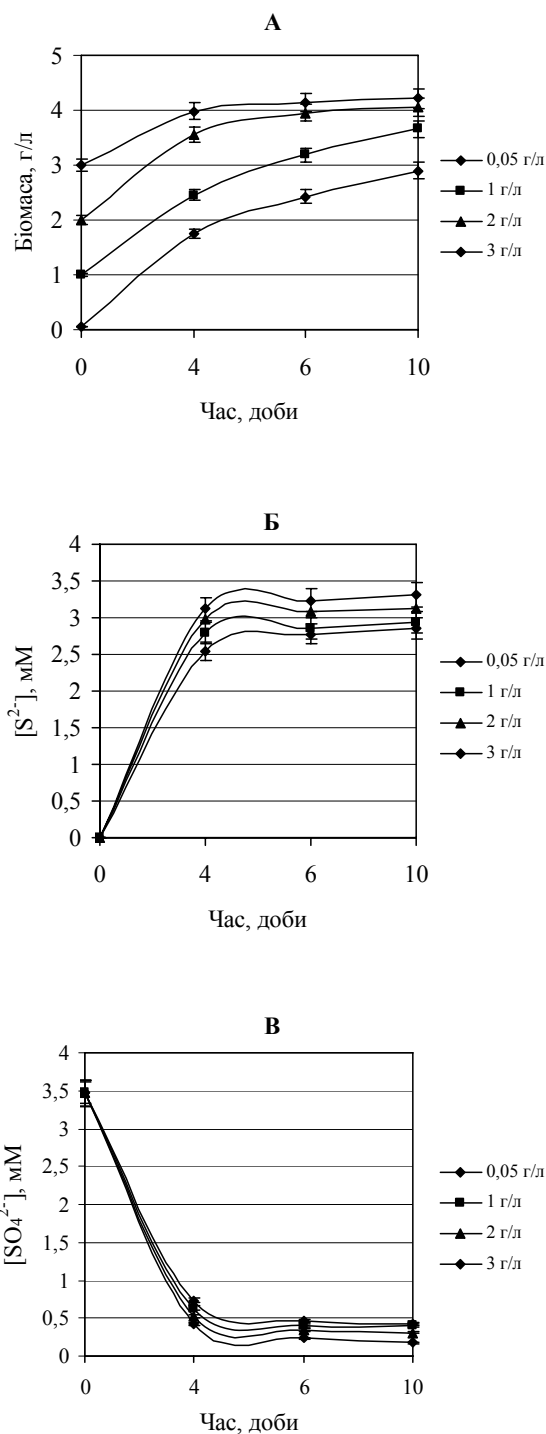


Рис. 4. Біомаса (А), утворення гідроген сульфідну (Б) та відновлення сульфат-іонів (Б) *D. desulfuricans Ya-11* в процесі культивування у середовищі Кравцова-Сорокіна з різною кількістю клітин при засіві.

вивчали чутливість *D. desulfuricans Ya-11* до різних концентрацій гідроген сульфідну, який додавали у середовище культивування у вигляді розчину Na₂S · 9 H₂O (рис. 5). Клітини сульфатвідновлювальних бактерій виявилися високочутливими до гідроген сульфідну.

фіду. Значне пригнічення їх росту виявлено вже за концентрації 3 мМ гідроген сульфід у середовищі.

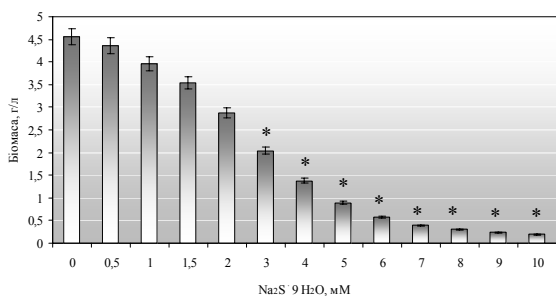


Рис. 5. Біомаса *D. desulfuricans* Ya-11 після 10 діб росту у середовищі Кравцова-Сорокіна з різним вмістом гідроген сульфід. Густина клітин при засіві – 0,2 г/л. Примітка: * – $p \leq 0,05$.

Одним із способів усунення токсичного для бактерій гідроген сульфід із середовища є його взаємодія з іонами важких металів, результатом якої є утворення нерозчинних сульфідів металів, які випадають у осад. З іншого боку, токсичність іонів важких металів у високих концентраціях негативно впливає на розвиток і метаболічну активність сульфатвідновлювальних бактерій [7]. Визначали рівень зв'язування іонів важких металів гідроген сульфідом, продукованим клітинами. Для цього, бактерії *D. desulfuricans* Ya-11 вирощували у присутності солей важких металів: $Pb(NO_3)_2$, $ZnCl_2$, $NiCl_2$, $CoCl_2$, $CuCl_2$, $FeCl_2 \cdot 4 H_2O$, $CdCl_2 \cdot H_2O$. Їх додавали до середовища у концентраціях: 0,3–3 мМ. Для засіву використовували суспензію добової культури мікроорганізмів концентрацією 0,05 г/л. Контрольними були пробірки з середовищем і клітинами, до яких солі важких металів не додавали.

Як показали наші попередні результати, за наявності у середовищі 0,3–1,5 мМ іонів металів ефективність їхнього зв'язування сірководнем сягає 100%. За концентрації Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} та Cd^{2+} 2–3 мМ спостерігається зниження інтенсивності відновлення сульфатів. Процент зв'язування металів утвореним гідроген сульфідом, кількість якого недостатня для взаємодії із всією кількістю іону металу, внесеного на початку культивування, не перевищує 72% [3]. Так, наприклад, при внесенні у середовище 1,5 мМ $NiCl_2$, за 10 діб клітини утворювали 1,86 мМ гідроген сульфід (контроль: 2,43 мМ), якого виявилось достатньо для повного (на 100%) зв'язування наявного іону металу (рис. 6). Нікель за концентрації 2 мМ інгібував процес відновлення сульфатів, тому клітини продукували лише 1,46 мМ гідроген сульфід, а відносна кількість зв'язаного гідроген сульфідом Ni^{2+} становила всього 72%.

Клітини *Desulfovibrio* sp. Yav-8 вирощували у присутності 2 мМ солей важких металів: $Pb(NO_3)_2$, $ZnCl_2$, $NiCl_2$, $CoCl_2$, $CuCl_2$, $FeCl_2 \cdot 4 H_2O$, $CdCl_2 \cdot H_2O$ і без металів (контроль). Для засіву використовували суспензію клітин концентрацією 0,05 г/л. Ефективність зв'язування металів гідроген сульфідом сягала

66,3–72,6% (табл. 1). При культивуванні *Desulfovibrio* sp. Yav-8 у середовищі Кравцова-Сорокіна із збільшеним втрічі вмістом сульфат-іонів (10,5 мМ) та у шість разів лактату натрію (12 г/л) при густині засіву 3 г/л відносна кількість зв'язаних гідроген сульфідом Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} та Cd^{2+} , внесених на початку культивування у концентрації 2 мМ, становила 95,9–99,5% (табл. 2).

У середовищі культивування клітин штаму *D. desulfuricans* Ya-11 утворювалися сульфідні не лише свинцю, цинку, нікелю, кобальту, міді, заліза та кадмію, але і магнію, марганцю та ртуті (рис. 7).

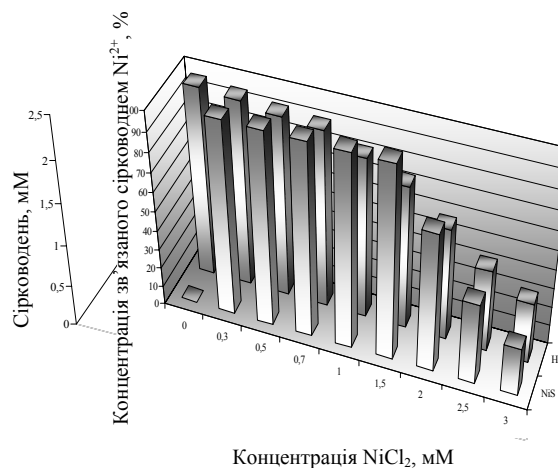


Рис. 6. Утворення гідроген сульфід та сульфід нікелю при культивуванні *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі з різним вмістом $NiCl_2$.



Рис. 7. Утворення сульфідів металів після 10 діб росту *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Кравцова-Сорокіна, яке містило $Pb(NO_3)_2$ (1), $ZnCl_2$ (2), $NiCl_2$ (3), $CoCl_2$ (4), $FeCl_2 \cdot 4 H_2O$ (5), $CuCl_2$ (6), $CdCl_2 \cdot H_2O$ (7), $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ (8), $MnSO_4$ (9), $HgNO_3$ (10) у концентрації 4 мМ.

Таким чином, підвищення інтенсивності процесу дисиміляційної сульфатредукції у сульфатвідновлювальних бактерій, виділених із забруднених як сполуками сірки, так і важкими металами техногенних водних середовищ, важливе для оцінки ефективності їх потенційного використання у біотехнологічних процесах очистки вод, збагачених органічними сполуками, від іонів важких металів, сірководню і сульфатів.

Таблиця 1. Утворення гідроген сульфідів і металосульфідів після 10 діб росту *Desulfovibrio sp. Yav-8* у середовищі Кравцова-Сорокіна (густина засіву 0,05 г/л) з солями важких металів у концентрації 2 мМ.

Іони металів	Концентрація гідроген сульфідів, мМ	Біомаса, г/л	Концентрація металосульфідів, мМ	Відносна кількість зв'язаного металу, %
Контроль	2,584±0,006	3,045±0,007	0	0
Pb ²⁺	1,357±0,003	1,493±0,005	1,348±0,005	67,40±0,03
Zn ²⁺	1,396±0,008	1,416±0,003	1,374±0,008	68,70±0,06
Ni ²⁺	1,462±0,002	1,554±0,007	1,451±0,004	72,55±0,01
Co ²⁺	1,338±0,001	1,620±0,009	1,326±0,002	66,30±0,01
Cu ²⁺	1,371±0,005	1,990±0,004	1,364±0,004	68,20±0,02
Fe ²⁺	1,393±0,007	1,915±0,003	1,387±0,009	69,35±0,04
Cd ²⁺	1,438±0,004	2,106±0,009	1,426±0,003	71,30±0,01

Таблиця 2. Утворення гідроген сульфідів і металосульфідів після 10 діб росту *Desulfovibrio sp. Yav-8* у середовищі, що містило 10,407 мМ сульфат-іонів та 12 г/л лактату натрію (густина засіву 3 г/л), з солями важких металів у концентрації 2 мМ.

Іони металів	Концентрація гідроген сульфідів, мМ	Біомаса, г/л	Концентрація металосульфідів, мМ	Відносна кількість зв'язаного металу, %
Контроль	3,256±0,002	4,195±0,003	0	0
Pb ²⁺	1,941±0,001	2,181±0,001	1,935±0,007	96,75±0,03
Zn ²⁺	1,982±0,005	2,153±0,009	1,976±0,002	98,80±0,05
Ni ²⁺	1,961±0,004	2,214±0,015	1,959±0,001	97,95±0,02
Co ²⁺	1,925±0,003	2,233±0,003	1,918±0,009	95,90±0,07
Cu ²⁺	1,962±0,008	2,428±0,007	1,960±0,005	98,00±0,02
Fe ²⁺	1,995±0,003	2,339±0,008	1,989±0,007	99,45±0,01
Cd ²⁺	1,965±0,001	2,556±0,006	1,957±0,008	97,85±0,06

Висновки

Виявлено, що зростання концентрацій акцептора (сульфатів) до 10,5 мМ, донора електронів (лактату натрію) до 12 г/л та збільшення густини засіву до 3 г/л у середовищі культивування сульфатвідновлювальних бактерій, стимулювало процес дисиміляційної сульфатредукції. Показано, що клітини *D. desulfuricans* *Ya-11* виявилися високочутливими до гідроген сульфідів – за його концентрації 3 мМ у середовищі виявлено значне пригнічення росту бактерій. У середовищі куль-

тивування бактерій утворювалися сульфідів не лише свинцю, цинку, нікелю, кобальту, заліза, міді та кадмію, але і магнію, марганцю та ртуті. Продемонстровано, що при культивуванні *Desulfovibrio sp. Yav-8* у середовищі Кравцова-Сорокіна із збільшеним вмістом сульфат-іонів та у шість разів лактату натрію при густині засіву 3 г/л відносна кількість зв'язаних гідроген сульфідом Pb²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺ та Cd²⁺, внесених на початку культивування у концентрації 2 мМ, сягала 99,5%.

1. Бабко А.К., П'ятиницький І.В. Кількісний аналіз. – К.: Вища школа, 1974. – 243 с.
2. Галушка А., Перетятко Т., Гудзь С.П. Бактерії циклу сірки та їхня роль у природі // Вісник Львів. Ун-ту. Серія біологічна. – 2007. – Вип. 43. – С. 61–77.
3. Гудзь С.П., Перетятко Т.Б., Мороз О.М., Гнатуш С.О., Клим І.Р. Роль сульфатвідновлювальних бактерій у регулюванні рівня сульфатів, сірководню та важких металів у техногенних водоймах // Мікробіол. журн. – 2011. – 14 с. (в друці).
4. Деркач М.П., Гуменський Р.Я., Чабан М.С. Курс варіаційної статистики. – К.: Вища школа, 1977. – 208 с.
5. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. Роль мікроорганізмів в вищелачиванні металів із руд. – М.: Наука, 1972. – 215 с.
6. Крешков А.И. Основы аналитической химии. Теоретические основы / Качественный анализ: Книга первая, изд. 4-е, перераб. – М.: Химия, 1976. – 472 с.
7. Мороз О.М., Гудзь С.П., Подопрігора О.І., Клим І.Р., Борсукевич Б.М., Деркач М.Б., Парасюк О.В., Гнатуш С.О. Вплив важких металів на ріст та відновлення сульфатів *Desulfovibrio desulfuricans* // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. Серія біологія. – Вип. 26. – 2009. – С. 193–202.
8. Мороз О.М. Закономірності утворення сірководню сульфатвідновлювальними бактеріями водойми кар'єру Яворівсько-

- го сіркового родовища // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Серія біологія. – 2010. – Вип. 27. – С. 1–9.
9. Мороз О.М., Колісник Я.І., Подопрігора О.І., Клим І.Р., Гудзь С.П., Борсукевич Б.М., Гнатуш С.О. Мікрофлора води озера "Яворівське" // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. Серія біологія. – 2008. – Вип. 24. – С. 131–138.
10. Перетятко Т.Б., Гнатуш С.О., Гудзь С.П. Сульфатвідновлювальні бактерії водойми Яворівського сіркового родовища // Мікробіол. журн. – 2006. – Т. 68, № 5. – С. 87–93.
11. Франк Ю.А., Лушиников С.В. Биотехнологический потенциал сульфатредуцирующих бактерий // Экология и промышленность. – 2006. – № 1. – С. 10–13.
12. Boonstra J., van Lier R., Janssen G., Dijkman H., Buisman C.J.N. Biological treatment of acid mine drainage / Biohydrometallurgy and Environment toward the Mining of the 21st Century / Amils R. and Ballester A. eds. – Amsterdam: Elsevier, 1999. – P. 559–567.
13. Poulson S.R., Colberg P.J.S., Drever J.I. Toxicity of heavy metals (Ni, Zn) to *Desulfovibrio desulfuricans* // Geomicrobiology J. – 1997. – V. 14. – P. 41–49.
14. Tebo B.M., Obratsova A.Y. Sulfate-reducing bacterium growth with Cr (VI), U (VI), Mn (IV) and Fe (III) as electron acceptors // FEMS Microbiology Letters. – 1998. – V. 162. – P. 193–198.

Отримано: 14 червня 2010 р.

Прийнято до друку: січня 2011 р.