

УДК 579.266/68(477)

СІРКОМЕТАБОЛІЗУЮЧІ БАКТЕРІЇ РОЗДІЛЬСЬКОГО СІРКОВИДОБУВНОГО КАР'ЄРУ В ПРОЦЕСІ ЙОГО ЗАТОПЛЕННЯ

С.П. Гудзь, С.О. Гнатуш, О.І. Подопрігора, І.Р. Клим, О.М. Мороз

Сіркометаболізуючі бактерії Роздільського сірковидобувного кар'єру в процесі його затоплення. – С.П. Гудзь, С.О. Гнатуш, О.І. Подопрігора, І.Р. Клим, О.М. Мороз. – Досліджено динаміку змін концентрацій сполук сірки та кількісного складу сульфатвідновлювальних та сіркоокиснюючих бактерій у воді кар'єру Роздільського державного гірничо-хімічного підприємства "Сірка". Показано, що вміст сульфатів у воді, по мірі затоплення кар'єру, постійно зростає. Концентрація сірководню у поверхневих шарах води нижча, ніж на глибині 20-30 м, але значно перевищує гранично допустиму концентрацію. Вміст сірководню у воді корелює з кількістю сульфатвідновлювальних і сіркоокиснюючих бактерій.

Ключові слова: сульфатвідновлювальні та сіркоокиснюючі бактерії, сульфати, сірководень, вода

Адреса: Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна
E-mail: microbio@franko.lviv.ua

Sulfur metabolizing bacteria from Rozdil sulfur mining open pit during it flooding. – S.P. Gudz, S.O. Hnatysh, O.I. Podopryhora, I.R. Klym, O.M. Moroz. – The dynamics of changing of sulfur compounds concentrations and quantity composition of sulfate reducing and sulfur oxidizing bacteria in open pit water of Rozdil State Mining Chemical Enterprise "Sulfur" was investigated. Quantity of sulfates in water during the open pit flooding constantly increases was shown. Hydrogen sulfide concentration increases with depth of water layer to 20-30 m. Hydrogen sulfide concentration decreases in surface water layers, but it is still considerable high than limit permissible. Hydrogen sulfide quantity correlates with quantity of sulfate reducing and sulfur oxidizing bacteria in water.

Key words: sulfate reducing and sulfur oxidizing bacteria, sulfates, hydrogen sulfide, water

Address: Ivan Franko National University of L'viv, Hrushevsky Str., 4, Lviv 79005, Ukraine
E-mail: microbio@franko.lviv.ua

Наприкінці ХХ століття у видобутку сірки сталися суттєві зміни. Гірничовидобувні підприємства, що проектувалися в 50-60-ті роки і передбачали відкритий спосіб видобування сірки з застосуванням техніки великої потужності, стали нерентабельними. Виникла необхідність ліквідації гірничих об'єктів та відновлення ландшафту навколо найбільших сірчанних кар'єрів: Роздільського, Подороженського і Яворівського.

Техногенні об'єкти та Роздільське ДГХП займають площу понад 22 км², які потребують рекультиваци [1].

Сьогодні роботи з ліквідації сірчанних кар'єрів і рекультиваци земель із-за фінансової скрути практично припинені. З залишкової ємності кар'єру постійно відкачують мінералізовану сірководневу воду, яку скидають у р. Дністер. У результаті навколишнє середовище забруднюється сірководнем та іншими сполуками. Крім того, на території нагромаджуються відходи виробництва фосфорної кислоти – фосфогіпс, в якому містяться залишки фосфорної, кремнефтористої, плавикової і сірчаної кислот.

Розроблено ряд проектів з вирішення проблем Роздільського сіркового родовища. Одним із них є затоплення кар'єру, що розпочалося у 2002 році. Глибина затоплення кар'єру на даний час досягла 30 м і буде збільшена до 43 м. Мікробіологічні процеси, що відбуваються у цьому водоймищі, не досліджуються, і наслідки затоплення залишаються непередбачуваними. Достатньо сказати, що посилення процесів відновлення сульфатів призведе до підвищення вмісту сірководню, що в свою чергу посилить забруднення середовища цією небезпечною отруйною речовиною.

Індикатором екологічного стану водойм може служити розвиток тих чи інших груп мікроорганізмів та їх функціональний стан. У водоймах з високим вмістом сульфатів такими індикаторами можуть бути сульфатвідновлювальні бактерії, унікальною метаболічною властивістю яких є здатність переносити водень від органічного субстрату на сульфат як кінцевий акцептор електронів і відновлювати останній до сірководню, що є головним продуктом відновлення сульфатів і небезпечним фактором забруднення довкілля [10].

Донорами водню для відновлення сульфатів сульфатвідновлювальними бактеріями є прості органічні сполуки, що утворюються в процесі розщеплення біомаси іншими бактеріями. Таким чином, концентрація сульфатів у середовищі і наявність органічних сполук визначають сульфатвідновлювальну здатність бактерій і рівень сірководню у середовищі.

Окиснення сполук сірки з різним ступенем відновлення – зворотний до сульфатредукції процес, який в природних умовах здійснюється сіркоокиснюючими бактеріями - хемолітоавтотрофними мікроорганізмами, які можуть існувати в мінеральному середовищі за рахунок енергії, яка виділяється при окисненні сірки та її відновлених сполук [5]. Найбільш відомими організмами, які беруть участь в окисненні сполук сірки в природі є *Thiobacillus thioparus* та *Thiobacillus ferrooxidans* [2]. *T. thioparus* відіграє важливу роль в утворенні епігенетичних місцезароджень сірки, а *T. ferrooxidans* – здатний окиснювати відновлені сполуки сірки та закисного заліза [5, 8].

Метою даної роботи було дослідити зміни хімічного складу води в процесі затоплення Роздільського сірководобувного кар'єру і вивчити розповсюдження у ній сульфатвідновлювальних та безбарвних сіркоокиснюючих бактерій.

Матеріал та методи

Зразки мулу для аналізу відбирали з його товщі на глибині 2-4 см. Зразки води відбирали батометром з різних глибин (10; 20; 30 м).

Сульфатвідновлювальні бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна такого складу, г/л дистильованої води: $\text{Na}_2\text{SO}_4 \times 10\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; NaH_2PO_4 – 0,3; K_2HPO_4 – 0,5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; молочнокислий натрій - 2,0; агар – 15-20; водопровідна вода – 50 мл; рН - 7,2 [5].

Таблиця 1. Вміст сульфатів, сірководню та рН води кар'єру Роздільського сіркового родовища

Вода	Одиниці вимірювання	Роки			ГДК
		2003	2004	2005	
рН		6,5±0,05	6,4±0,04	6,5±0,03	6,7-8,6
SO_4^{2-}	мг /мл	0,218±0,005	0,234±0,008	0,249±0,003	0,500
H_2S	мг/л	4,9±0,02*	3,7±0,01*	3,5±0,01*	<0,3

Примітка. * - $p \leq 0,05$

Як показують дані таблиці 2, кількість сульфатвідновлювальних бактерій у мулі затоплюваного кар'єру за три роки формування водою зростала і у 2005 році досягла рівня $(6,0 \pm 0,10) \cdot 10^5$ клітин на грам мулу, що у 2,4 рази перевищує цей показ-

ник на середовищі Бейринка такого складу, г/л дистильованої води: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 5; NaHCO_3 – 1,0; NH_4Cl – 0,1; $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – сліди; рН – 9,2-9,4 [5].

Зразки мулу та води готували для посіву як описано в літературі [9, 11]. Кількісний підрахунок мікроорганізмів здійснювали методом граничних розведень, використовуючи таблицю МакКреді [11].

Концентрацію сульфатів визначали турбідиметричним методом, сульфід-іону – йодометричним, рН води - потенціометричним методом [6, 7]. Статистичну обробку результатів проводили за [4].

Результати досліджень та їх обговорення

Головним джерелом сірководню в природі є процес дисиміляційної сульфатредукції, що здійснюється сульфатвідновлювальними бактеріями. Інтенсивність цього процесу залежить від концентрації іону SO_4^{2-} та органічних сполук у середовищі [3]. Вміст сульфатів у воді, що наповнює кар'єр, за три останні роки постійно зростає і складає на 2005 рік $0,249 \pm 0,003$ мг/мл, перевищуючи на 13% показник попереднього року, що, очевидно, обумовлене поступленням у кар'єр вод, багатих сульфатами і, можливо, дефіцитом органічних сполук – донорів електронів, необхідних для відновлення сульфатів бактеріями (табл. 1). Важливо відмітити, що концентрація сульфатів все ж не перевищує їх гранично допустиму концентрацію (ГДК) у воді [5]. На рівні норми теж залишається і рН води кар'єру Роздільського ДГХП, яке на протязі досліджуваного періоду майже не змінилося. Вміст сірководню у воді затоплюваного кар'єру протягом періоду з 2003 по 2005 рік дещо зменшується, однак ще є значно вищим за ГДК. Слід враховувати, що сірководень, який утворюється бактеріями, постійно розводиться водами, що надходять у кар'єр.

Спостерігається певна закономірність розподілу сульфатів на різних глибинах (див. табл. 2). Найбільша їх кількість виявлена в поверхневих шарах води, із збільшенням глибини – вміст сульфатів зменшується.

Таблиця 2. Поширення сульфатвідновлювальних бактерій у водах кар'єру Роздільського сіркового родовища в процесі його затоплення

Глибина відбору проб мул, см; вода, м	pH	H ₂ S, мг/л	Сульфати, мг/г мулу, мг/мл води	Кількість сульфат- відновлювальних бактерій, кл/ г мулу, мл води
2003				
Мул, 3,0	7,1±0,02	-	0,138±0,002	(2,5±0,03)·10 ⁵
Вода, 0	6,5±0,05	4,9±0,02	0,218±0,005	(1,2±0,02)·10 ²
10,0	6,1±0,06	7,5±0,01	0,163±0,009	(1,5±0,01)·10 ³
2004				
Мул, 3,0	7,2±0,08	-	0,141±0,004	(3,5±0,04)·10 ⁵
Вода, 0	6,4±0,04	3,7±0,01	0,234±0,008	(0,9±0,01)·10 ³
10,0	6,3±0,03	6,3±0,01	0,172±0,005	(2,0±0,05)·10 ⁴
20,0	6,0±0,05	10,2±0,02	0,170±0,006	(3,5±0,04)·10 ⁴
2005				
Мул, 3,0	7,1±0,03	-	0,142±0,004	(6,0±0,10)·10 ⁵
Вода, 0	6,5±0,03	3,5±0,01	0,249±0,003	(2,0±0,07)·10 ³
10,0	6,2±0,04	6,1±0,04	0,189±0,007	(3,0±0,03)·10 ⁴
20,0	6,0±0,03	10,3±0,03	0,186±0,009	(3,5±0,04)·10 ⁴
30,0	5,9±0,08	12,2±0,05	0,183±0,004	(4,5±0,02)·10 ⁴

У воді із збільшенням глибини відбору проби кількість сульфатвідновлювальних бактерій зростає (див. табл. 2). Так, у зразках води, відібраних із поверхні у 2003 році, було виявлено $(1,2 \pm 0,02) \cdot 10^2$ клітин на мл води, а на глибині 10 м кількість бактерій зросла на порядок. У зразках мулу, відібраних у 2003 році було виявлено $(2,5 \pm 0,03) \cdot 10^5$ клітин на грам. Кількість сірководню в поверхневих шарах становила $4,9 \pm 0,02$ мг/л.

У 2004 році глибина кар'єру досягла позначки 20 м. Кількість сульфатів у мулі та воді незначно зростала. Кількість сульфатвідновлювальних бактерій у пробах води, відібраних з різних глибин, та в мулі збільшується. Слід відмітити, що вміст

сірководню в поверхневих шарах води зменшився порівняно з 2003 роком і становив $3,7 \pm 0,01$ мг/л.

Глибина кар'єру в 2005 році була 30 м. У нижній частині водного шару створюються анаеробні умови, що призводить до покращення умов розвитку сульфатвідновлювальних бактерій. На глибині 10 м у воді їх виявлено $(3,0 \pm 0,03) \cdot 10^4$ клітин на мл води, що в 1,5 раза більше, ніж у 2004 році. Із збільшенням глибини відбору проб води зростає кількість сульфатвідновлювальних бактерій. На глибині 30 м у воді їх виявлено $(4,5 \pm 0,02) \cdot 10^4$ клітин на мл води.

Кількість безбарвних сіркоокиснюючих бактерій у кар'єрі протягом трьох досліджуваних років також зростає (табл. 3).

Таблиця 3. Кількість безбарвних сіркоокиснюючих бактерій у воді кар'єру Роздільського сіркового родовища

Відбір проб, глибина, м	pH води	Кількість SO ₄ ²⁻ , мг/мл води	Кількість безбарвних сіркоокиснюючих бактерій, кл/ мл води
2003			
Вода, 0	6,5±0,05	0,218±0,005	(1,2±0,03)·10 ⁴
5,0	6,2±0,09	0,185±0,005	(1,1±0,02)·10 ²
10,0	6,1±0,06	0,163±0,009	(0,2±0,01)·10 ¹
2004			
Вода, 0	6,4±0,04	0,234±0,008	(1,7±0,03)·10 ⁴
5,0	6,4±0,01	0,193±0,003	(3,0±0,05)·10 ³
10,0	6,3±0,03	0,172±0,005	(0,9±0,01)·10 ²
20,0	6,0±0,05	0,170±0,006	0
2005			
Вода, 0	6,5±0,03	0,249±0,003	(2,0±0,03)·10 ⁵
5,0	6,3±0,03	0,221±0,007	(3,3±0,04)·10 ³
10,0	6,2±0,04	0,189±0,007	(1,1±0,01)·10 ²
20,0	6,0±0,03	0,186±0,009	0
30,0	5,9±0,08	0,183±0,004	0

Так, у 2003 році у поверхневих шарах води їхня кількість становила $(1,2 \pm 0,03) \cdot 10^4$ клітин на мл, у 2005 році кількість безбарвних сіркоокиснюючих бактерій збільшилась майже у 17 разів. Із збільшенням глибини відбору проб кількість безбарвних сіркоокиснюючих бактерій значно зменшується. У 2003 році на глибині 5 м було виявлено $(1,1 \pm 0,02) \cdot 10^2$ клітин у 1 мл, а на глибині 10 м – лише $(0,2 \pm 0,01) \cdot 10^1$ клітин. За кожний наступний рік глибина кар'єру збільшується приблизно на 10 м. На найбільших глибинах безбарвних сіркоокиснюючих бактерій не виявлено.

Розповсюдження сіркоокиснюючих бактерій у водоймах веде до зниження сірководню в них. Дані таблиці 3 показують, що протягом трьох років формування водойми кількість сіркоокиснюючих бактерій у верхніх горизонтах води постійно зростає. Очевидно, саме завдяки їхній життєдіяльності відбувається зниження концентрації сір-

ководню, що утворюється в анаеробній зоні водойми за участю сульфатвідновлювальних бактерій.

Висновки

Таким чином, трьохрічні спостереження за штучною водоймою на місці Роздільського кар'єру показують, що в ній відбувається формування специфічного мікробіоценозу, в якому постійно зростає кількість сульфатвідновлювальних бактерій, здатних у процесі анаеробного дихання відновлювати сульфати до сірководню та безбарвних сіркоокиснюючих бактерій, які його утилізують. Концентрація сірководню буде визначати можливі напрямки використання водойми в господарських цілях.

1. Гайдин А.М. Сірка: вчора, сьогодні, завтра. - Львів: Камінь, 2001. – С. 9-68.
2. Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Экология водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1977. – 287 с.
3. Гудзь С., Гнатюш С., Перетятко Т., Паляниця Б., Коструба М., Подопрігора О., Клим І. Динаміка змін титру сульфатвідновлюючих бактерій та вмісту сульфатів і сірководню у водах кар'єру Яворівського сіркового родовища в процесі його затоплення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер.біол. – 2004. – Вип. 37. – С. 185-189.
4. Деркач М.П., Гумецький 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 микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. – М.: Наука, 1972. – С. 191-220.
6. Крешков А.П. Основы аналитической химии. – 1961. – Т. 2. – С. 252-259.
7. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия природных и сточных вод. – М.: Химия, 1984. – 312 с.
8. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Хоулт Дж. - М.: Мир, 1997. – 429 с.
9. Разумов С.А. Методы микробиологических исследований воды. – М.: Мин. строит. предпр. тяжел. индустрии ВОДГЕО, 1947. – 342 с.
10. Разумов А.С. Микробиальный планктон воды // Тр. Всес. гидробиол. общ. – 1962. – Т.12. – С. 60-190.
11. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. 3-е изд. – М.: Агропромиздат, 1987. – 239 с.

Отримано: 20 січня 2007 р.

Прийнято до друку: 1 лютого 2007 р.