УДК 628.31:628.35

© И. И. Иваненко, канд. техн. наук, доцент
(Санкт-Петербургский государственный
архитектурно-строительный университет)
E-mail: i5657@mail.ru

DOI 10.23968/1999-5571-2017-14-3-155-159

© I. I. Ivanenko, PhD in Sci. Tech., Associate Professor
(Saint Petersburg State University of Architecture
and Civil Engineering)
E-mail: i5657@mail.ru

РЕДОКС-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПРИ ДЫХАНИИ БАКТЕРИЙ

REDOX-SEQUENCE AT BACTERIAL RESPIRATION

Показана способность коллекционных штаммов аэробных бактерий различных видов использовать химические элементы с переменной валентностью в качестве терминальных акцепторов электронов. Установлено, что восстановление Cr (VI) и Mn (IV) могут осуществлять бактерии, не восстанавливающие нитрат, в том числе относящиеся к облигатно-аэробным. Высказано предположение, что биохимические окислительно-восстановительные реакции подчиняются закономерностям, характерным для химических реакций: в первую очередь восстанавливаются те элементы, у которых значение стандартного редокс-потенциала (E_0) выше.

Ключевые слова: очистные сооружения, аэробные бактерии, окислительно-восстановительные реакции, электрохимическая редукция, облигатно-аэробные бактерии.

The article substantiates the ability of collection strains of aerobic bacteria of various species and genera to use variable-valence chemical elements as terminal electron acceptors. It has been established that reduction of Cr (VI) and Mn (IV) can be effected by non-nitrate reducing bacteria, including those that are obligate-aerobic. It is suggested that the biochemical oxidation-reduction reactions are subject to the electrochemical regularities of reduction. At first, those variable-valence elements are restored, in which the value of the standard reduction potential (E_0) is higher.

Keywords: waste treatment facilities, aerobic bacteria, oxidation-reduction reactions, electrochemical reduction, obligate-aerobic bacteria.

Способность к аэробному дыханию, т. е. к использованию кислорода в качестве конечного (терминального) акцептора электронов, характерна для многих живых организмов. Однако бактерии, кроме кислорода, могут использовать неорганические вещества с элементами, имеющими переменную валентность, в их окисленной форме, и в этом случае они могут дышать и аэробно, и анаэробно [1, 3, 5, 6].

В тех случаях, когда популяция бактерий имеет возможность выбора терминального акцептора электронов, осуществляется следующая последовательность их использования [2, 10–14]:

- кислород (как энергетически наиболее выгодный окислитель);
- окисленные соединения азота;
- окисленные соединения переменновалентных элементов, в том числе металлов;
- окисленные соединения серы;
- низкомолекулярные органические соединения;
- карбонаты.

Граница деления бактерий на облигатно-аэробные и анаэробно-дышащие находится между кислородом и окисленными соединениями азота [4]. В соответствии с таким делением бактерии, которые не восстанавливают нитрат, не могут использовать другие элементы (химические элементы с переменной валентностью) в качестве терминальных акцепторов электронов и относятся к облигатным аэробам.

В статье приводятся результаты исследований способности аэробных бактерий различных таксономических групп использовать неорганические вещества с химическими элементами переменной валентности в качестве терминальных акцепторов электронов при дыхании. Установлены диапазоны окислительно-восстановительного потенциала среды (E_0), при которых происходит восстановление некоторых таких элементов.

Были проведены два опыта. В первом опыте изучался рост аэробных бактерий при ограниче-

нии поступления кислорода, во втором — исследована способность денитрифицирующих бактерий изменять окислительно-восстановительный потенциал при их культивировании в питательной среде (глюкоза и нитрат).

Культивирование бактерий в ходе исследований первого опыта осуществлялось без предварительного удаления растворенного кислорода из раствора. Предполагалось, что если культура является аэробом и при дыхании способна, кроме кислорода, использовать другие терминальные акцепторы электронов, то в замкнутой системе она должна самостоятельно, используя растворенный кислород, переключиться на другие (альтернативные) акцепторы электронов и, соответственно, в принудительном создании анаэробных условий не нуждается. Необходимо лишь ограничить доступ кислорода из атмосферного воздуха в среду культивирования. А этого можно достичь путем нанесения слоя насыщенных углеводов на поверхность водного раствора.

При изучении способности отдельных штаммов анаэробных денитрифицирующих псевдомонад расти за счет аэробного окисления насыщенных углеводов в зависимости от толщины их слоя над культуральной средой выяснилось, что под слоем вазелинового масла (0,5 см) происходит интенсивный рост и размножение бактериальных клеток, которые контролировались по оптической плотности среды. Оптическая плотность суспензии на четвертые сутки возросла в 10 раз — от 0,02 до 0,2 ед. При увеличении толщины слоя углеводов до 2 см рост микроорганизмов был незначителен. Оптическая плотность суспензии увеличивалась в два раза в первые сутки роста бактерий, оставалась неизменной в течение следующих суток и снижалась в результате автолиза клеток после четырех суток культивирования. Таким образом, диффузии кислорода из воздуха в раствор через слой насыщенных углеводов вазелинового масла при толщине слоя в 2 см не происходит.

Во втором опыте была исследована способность денитрифицирующих бактерий изменять окислительно-восстановительный потенциал при их культивировании в питательной среде с глюкозой и нитратом (а в ряде опытов — с нитритом) как терминальными акцепторами элек-

тронов, а также установлены диапазоны E_0 , при которых происходит редукция последних в элементарный азот.

Восстановление окисленного азота этими культурами происходит в диапазоне значений редокс-потенциала от +180 до -100 мВ [3, 4]. В опытах установлено, что восстановление Cr (VI) этими же культурами происходит в диапазоне от +400 до +30 мВ — в области протекания аэробных процессов. Следовательно, Cr (VI) восстанавливается при более высоких значениях E_0 , чем окисленные формы азота. Учитывая это, можно предположить, что редукция Cr (VI) возможна аэробными бактериями, которые не восстанавливают нитрат, в том числе и облигатно-аэробными. Проведенные исследования подтвердили такую возможность. Не восстанавливающие нитрат бактерии родов *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Rhodococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Azotobacter* sp., *Mycobacterium* sp. используют Cr (VI) в качестве терминального акцептора электронов. Это подтверждается тем, что процесс сопровождается более высоким приростом их биомассы в среде с кислородом и бихроматом, чем в среде с одним лишь растворенным кислородом.

Таким образом, термин «облигатно-аэробные бактерии», которые используют в качестве терминального акцептора электронов только кислород, требует уточнения. В литературе описана возможность этих бактерий редуцировать другой элемент с переменной валентностью — Mn (IV). Показано, что не восстанавливающие нитрат бактерии, перечисленные выше, используют Mn (IV) в качестве терминального акцептора электронов [7, 8]. При одновременном присутствии в среде нитрата и хромата восстанавливающие нитрат денитрификаторы *Pseudomonas fluorescens* var *pseudo-iodinum* используют нитрат только после редукции Cr (VI), а не редуцирующий нитрат штамм *P. fragi* восстанавливает Cr (VI) и Mn (IV), не изменяя при этом концентрации нитрата. Аналогичная последовательность реакции наблюдалась у редуцирующих нитрат бактерий родов *Bacillus subtilis* и *B. cereus*: сначала восстанавливается Cr (VI), затем NO_3^- .

Опытами установлено, что аэробно дышащие бактерии, которые не восстанавливают нитрат, в том числе и облигатно-аэробные, способны использовать элементы с переменной валент-

ностью, в частности Mn (IV) и Cr (VI), в качестве терминальных акцепторов электронов, и, по-видимому, в действительности облигатно-аэробных бактерий не существует, а восстановление Mn (IV) и Cr (VI) происходит раньше, чем окисленных соединений азота.

Бактерии, которые были исследованы, имеют окислительный метаболизм, а биохимические реакции, в которых они участвуют, аналогичны химическим окислительно-восстановительным реакциям, каждая из которых характеризуется стандартным окислительно-восстановительным потенциалом E_0 . Осуществление ее возможно только при соответствующем значении этого потенциала, который характеризует процессы, происходящие в культуральной среде, тогда как сама реакция осуществляется внутри клетки на ее мембранах, где локализованы переносчики электронов дыхательной цепи, и потенциал на мембране должен соответствовать стандартному потенциалу соответствующей реакции.

В таблице, составленной нами по ряду наблюдений, а также исследований по литературным источникам, приведены значения стандартных

потенциалов электрохимических реакций восстановления некоторых элементов [9–14]. Приведенные в таблице данные полностью соответствуют последовательности реакций, которые наблюдаются при дыхании бактерий, что описано в научной литературе, а также подтверждено полученными нами данными. Так, стандартный потенциал восстановления кислорода (таблица, реакция 3), которое имеет место в аэробном процессе, равняется 1228 мВ; первая и вторая стадия денитрификации (таблица, реакции 8 и 7) осуществляются при значениях E_0 880 и 780 мВ; редукция Mn (IV) — 1228, Cr (VI) — 1333 мВ. Таким образом, можно заключить, что аэробные бактерии, которые не восстанавливают нитрат, способны восстанавливать Mn (IV) и Cr (VI).

Известно [11], что редукция Fe (III) культурой *Alteromonas pulrifaciens* MR-1 в среде (таблица, реакция 9) начинается только после полного восстановления Mn (IV). В то же время бактерии, редуцирующие Mn (IV) и Fe (III), являются конкурентоспособными с сульфатвосстанавливающими [12].

В присутствии в среде таких двух терминальных акцепторов электронов, как U (VI) и S (VI), сульфатредуцирующие бактерии *Desulfovibrio vulgaris* и *Clostridium sp.* в чистой и бинарной культурах восстанавливают сульфат (таблица, реакция 16) лишь после полной редукции U (VI) (таблица, реакция 13) [13].

Учитывая величины стандартных потенциалов реакций, можно утверждать, что восстанавливать Fe (III) могут бактерии, которые осуществляют стадию денитрификации, а штаммы, не восстанавливающие нитрат, в том числе и облигатно-аэробные, не могут.

Из приведенных сведений видно, что биохимические окислительно-восстановительные реакции подчиняются тем же закономерностям, что и химические, а последовательность использования бактериями элементов с переменной валентностью при совместном их присутствии в среде зависит от величины стандартного потенциала соответствующей реакции (E_0). В первую очередь редуцируются те элементы, значение E_0 которых выше.

Таким образом, полученные результаты позволяют утверждать:

- не восстанавливающие нитрат бактерии, в том числе и облигатно-аэробные, способны

Значения стандартных потенциалов некоторых реакций

Номер реакции	Реакция	E_0 , мВ
1	$\text{Au}^{3+} + 3e^- \rightarrow \text{Au}^0$	1498
2	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6e^- \rightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	1333
3	$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1228
4	$\text{MnO}_2 + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	1228
5	$\text{SeO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2\text{SeO} + \text{H}_2\text{O}$	1150
6	$\text{ClO}^- + \text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightarrow \text{Cl}^- + 2\text{OH}^-$	880
7	$2\text{NO}_2 + 2e^- \rightarrow 2\text{HNO}_2^-$	880
8	$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + e^- \rightarrow \text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	780
9	$\text{Fe}^{3+} + e^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$	771
10	$\text{H}_2\text{SeO}_3 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightarrow \text{Se}^0 + 3\text{H}_2\text{O}$	741
11	$\text{ToO}^{4+} + 2\text{H}^+ + e^- \rightarrow \text{ToO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	700
12	$\text{ClO}_4^- + 4\text{H}_2\text{O} + 8e^- \rightarrow \text{Cl}^- + 8\text{OH}^-$	580
13	$\text{UO}_2^{2+} + 2e^- \rightarrow \text{UO}_2$	450
14	$2\text{NO}_2 + 4\text{H}_2\text{O} + 6e^- \rightarrow \text{N}_2 + 8\text{OH}^-$	410
15	$\text{SO}_4^{2-} + 8\text{H}^+ + 6e^- \rightarrow \text{S}^0 + 4\text{H}_2\text{O}$	357
16	$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	170

переходить в определенных условиях к анаэробному дыханию, и, по-видимому, облигатно-аэробных бактерий в действительности не существует;

- при изучении анаэробного дыхания бактерий необходимо учитывать стандартные редокс-потенциалы соответствующих реакций, прежде чем принудительно создавать анаэробные условия культивирования;

- биохимическое восстановление элементов с переменной валентностью подчиняется закономерностям химической редукции, а бактерии с окислительным метаболизмом можно разделить по диапазонам потенциалов, в пределах которых они способны использовать элементы с переменной валентностью в качестве терминальных акцепторов электронов;

- в процессе эволюции возникли анаэробные бактерии, и только после появления в атмосфере свободного кислорода они приобрели способность к аэробному дыханию. В то же время бактерии при недостатке кислорода способны менять тип дыхания и переходить к анаэробному типу. С появлением в атмосферном воздухе кислорода, после возникновения фотосинтеза анаэробные бактерии потенциально были способны использовать его как терминальный акцептор электронов, так как значение E_0 восстановления кислорода такое же, как восстановления $Mn(IV)$ — 1228 мВ. Таким образом, аэробизм у бактерий является, по-видимому, вторичным по отношению к анаэробизму;

- использование металлов в качестве акцепторов электронов открывает возможность применения этих реакций при разработке схем по очистке промышленных сточных вод.

Библиографический список

1. Воронов Ю. В., Яковлев С. В. Водоотведение и очистка сточных вод: учебник для вузов. М.: АСВ, 2006. 704 с.
2. Zehnder A. J., Svensson B. H. Life without oxygen: What can and what cannot? // *Experientia*. 1986. Vol. 42. № 11–12. Pp. 1197–1205.
3. Дмитренко Г. Н. Влияние нитратов и нитритов на изменение окислительно-восстановительного потенциала в культуре бактерий // *Химия и технология воды*. 2001. Т. 23. № 3. С. 329–336.

4. Софарова О. В., Чувашов А. С. Динамика осаждения активного ила в аэротенке на синтетические водоросли типа «ерш» // *Инженерное оборудование населенных мест и зданий: материалы Всерос. науч.-практ. конф.* Иркутск: ИрГТУ, 2013.

5. Жмур Н. С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками. М.: АКВАРОС, 2003. 512 с.

6. Патент РФ № 94028293/13, 10.05.1997. Жмур Н. С., Лапшин О. М. Способ подавления бактериального нитчатого вспухания активного ила // Патент России № 028252. 1997.

7. Куликов Н. И. Интенсификация процессов очистки сточных вод от ксенобиотиков пространственной сукцессии закрепленных микроорганизмов // *Материалы I Всесоюз. конф. по микробиологии очистки сточных вод*. Киев: Наукова думка, 1982. С. 29–31.

8. Кульков В. Н., Солопанов Е. Ю., Евтеева И. В., Разум А. С. Распределение активного ила в аэротенке с центральным расположением мелкопузырчатого пневматического аэратора // *Инженерное оборудование населенных мест и зданий: материалы Всерос. науч.-практ. конф.* Иркутск: ИрГТУ, 2009. С. 17–31.

9. Дмитренко Г. Н., Шум О. А. Диссимиляционное восстановление $Mn(IV)$ аэробными бактериями // *Химия и технология воды*. 2002. Т. 24. № 1. С. 80–86.

10. Антропов Л. И. Теоретическая электрохимия. М.: Высш. школа, 1975. 568 с.

11. Myers C. R., Nelson K. H. Microbial reduction of manganese oxides: Interactions with iron and sulfur // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1988. № 52. P. 2727–2732.

12. Nelson K. H., Saffarini G. I. Iron and manganese in anaerobic respiration: environmental significance, physiology and regulation // *Ann. Review of Microbiology*. 1994. № 48. Pp. 311–343.

13. Spear J. R., Figueroa L. A., Honeyman B. D. Modeling reduction of uranium $U(VI)$ under variable sulfate concentrations by sulfate-reducing bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. Vol. 66. № 9. Pp. 3711–3721.

14. Убайдуллаева А. К. Роль гетеротрофных бактерий в восстановлении элементов с переменной валентностью: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Алматы, 1993. 19 с.

References

1. Voronov Yu. V., Yakovlev S. V. *Vodootvedenie i ochistka stochnykh vod. Uchebnik dlya vuzov* [Water disposal and sewage treatment. Textbook for higher education institutions]. Moscow, ASV Publ., 2006, 704 p.
2. Zehnder A. J., Svensson B. H. Life without oxygen: What can and what cannot? *Experientia*, 1986, vol. 42, no. 11–12, pp. 1197–1205.

3. Dmitrenko G. N. *Vliyanie nitratov i nitritov na izmenenie okislitel'no-vosstanovitel'nogo potentsiala v kul'ture bakteriy* [Influence of nitrates and nitrites on change of oxidation-reduction potential in culture of bacteria]. *Khimiya i tekhnologiya vody – Chemistry and technology of water treatment*, 2001, vol. 23, no. 3, pp. 329–336.
4. Sofarova O. V., Chuvashov A. S. *Dinamika osazhdeniya aktivnogo ila v aehrotenke na sinteticheskie vodorosli tipa «ersh»* [Dynamics of sedimentation of the active silt in an aerotanka on synthetic sea weed of the "barbed nail" type]. *Trudy Vseros. nauch.-prakt. konf. «Inzhenernoe oborudovanie naselennykh mest i zdaniy»* [Proc. of All-Russia sci. - pract. conf. "Engineering equipment of the inhabited places and buildings"]. Irkutsk, IrGTU Publ., 2013.
5. Zhmur N. S. *Tekhnologicheskie i biokhimicheskie protsessy ochestki stochnykh vod na sooruzheniyakh s aehrotenkami* [Technological and biochemical processes of sewage treatment at constructions with aerotanks]. Moscow, AKVAROS Publ., 2003, 512 p.
6. Zhmur N. S., Lapshin O. M. *Patent RF no. 94028293/13, 10.05.1997. Sposob podavleniya bakterial'nogo nitchatogo vspukhaniya aktivnogo ila* [Patent RF no. 94028293/13, 10.05.1997. Technique of suppression of bacterial hair inflation of the active silt]. Patent of Russia, no. 028252, 1997.
7. Kulikov N. I. *Intensifikatsiya protsessov ochestki stochnykh vod ot ksenobiotikov prostranstvennoy suktsessiya zakreplennykh mikroorganizmov* [Intensification of processes of sewage treatment from xenobiotic compounds of spatial succession of fixed microorganisms]. *Trudy I Vsesoyuz. konf. po mikrobiologii ochestki stochnykh vod* [Proc. of the 1-st All-Russia conf. on microbiology of sewage treatment]. Kiev, Naukova Dumka Publ., 1982, pp. 29–31.
8. Kul'kov V. N., Soloponov E. Yu., Evteeva I. V., Razum A. S. *Raspredelenie aktivnogo ila v aehrotenke s tsentral'nym raspolozheniem melkopuzyrchatogo pnevmaticheskogo aehratora* [Distribution of active silt in the aerotank with the central layout of the fine-bubble pneumatic aerator]. *Trudy Vseros. nauch.-prakt. konf. «Inzhenernoe oborudovanie naselennykh mest i zdaniy»* [Proc. of All-Russia sci.-pract. conf. "Engineering equipment of the inhabited places and buildings"]. Irkutsk, IrGTU Publ., 2009, pp. 17–31.
9. Dmitrenko G. N., Shum O. A. *Dissimilyatsionnoe vosstanovlenie Mn (IV) aehrobnymi bakteriyami* [Dissimilation reduction of Mn (IV) by aerobic bacteria]. *Khimiya i tekhnologiya vody – Chemistry and technology of water treatment*, 2002, vol. 24, no. 1, pp. 80–86.
10. Antropov L. I. *Teoreticheskaya ehlektrokimiya* [Theoretical galvanic-chemistry] Moscow, Vyssh. Shkola Publ., 1975, 568 p.
11. Myers C. R., Nelson K. H. Microbial reduction of manganese oxides: Interactions with iron and sulfur. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1988, no. 52, pp. 2727–2732.
12. Nelson K. H., Saffarini G. I. Iron and manganese in anaerobic respiration: environmental significance, physiology and regulation. *Ann. Review of Microbiology*, 1994, no. 48, pp. 311–343.
13. Spear J. R., Figueroa L. A., Honeyman B. D. Modeling reduction of uranium U (VI) under variable sulfate concentrations by sulfate-reducing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, vol. 66, no. 9, pp. 3711–3721.
14. Ubaydullaeva A. K. *Rol' geterotrofnykh bakteriy v vosstanovlenii ehlementov s peremennoy valentnost'yu*. Avtoref. dis. kand. biol. nauk [The role the heterotrophic bacteria in reduction of elements with variable valence. Author's thesis of PhD in Sci. Bio.]. Almaty, 1993, 19 p.