

Bakteryjne przemiany żelaza w łupku miedzionośnym – biowietrzenie minerałów oraz mineralizacja biologicznie indukowana

Agnieszka Daszczyńska, Renata Matlakowska

Zakład Geomikrobiologii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, e-mail: rmatlakowska@biol.uw.edu.pl

Streszczenie

W łupku miedzionośnym z monokliny przedsudeckiej występują bakterie autotroficzne i heterotroficzne, które oddziałują na minerały żelaza na drodze enzymatycznej i nieenzymatycznej. Do pierwszej grupy należą bakterie dysymilacyjnie utleniające i redukujące minerały żelaza, a zatem wykorzystujące te związki jako odpowiednio donory i akceptory elektronów. Drugi rodzaj przemian związków żelaza przebiega przy udziale bakterii wytwarzających specyficzne i niespecyficzne metabolity zewnątrzkomórkowe, takie jak siderofory, kwasy organiczne i nieorganiczne oraz tzw. związki redoks aktywne. Aktywność wszystkich rodzajów bakterii prowadzi do wietrzenia pierwotnych minerałów żelaza i jednocześnie indukuje powstawanie minerałów wtórnych.

Występowanie i geochemiczne właściwości żelaza

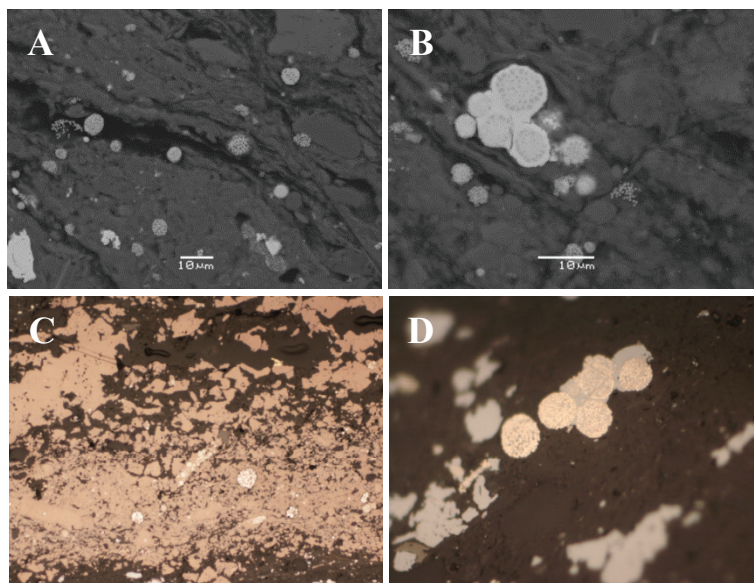
Żelazo występuje we wszystkich geosferach Ziemi. Jest czwartym z kolei najbardziej rozpowszechnionym pierwiastkiem w skorupie ziemskiej, którego udział procentowy wynosi ok. 5% (Kabata Pendias i Pendias, 1999). Żelazo wchodzi w skład tlenków, siarczków, węglanów i krzemianów, a najbardziej znane minerały żelaza to: magnetyt (Fe_3O_4), hematyt (Fe_2O_3), getyt ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), limonit ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), chalkopiryt (CuFeS_2), bornit (Cu_5FeS_4), piryt (FeS_2), greigit (Fe_3S_4), syderyt (FeCO_3) oraz ferryhydrit ($\text{Fe}_5\text{HO}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).

Największe koncentracje żelaza stanowią skały osadowe zawierające utlenione związki żelaza, takie jak: żelaziste formacje wstęgowe zbudowane głównie z tlenków żelaza przedzielonych cienkimi warstwami kwarcu; lateryty złożone z wodorotlenków żelaza i glinu; tzw. red beds zawierające hematyt oraz rudy darniowe, czyli skały o dużej zawartości limonitu. Innym złożem bogatym w utlenione żelazo są występujące na dnie oceanów konkracje żelazisto-manganowe. Znaczące koncentracje zredukowanych związków żelaza, głównie pirytu, występują także w skałach łupkowych (Tourtelot, 1979).

Łupek miedzionośny z monokliny przedsudeckiej zawiera średnio 0,8–1% masowych żelaza. Głównymi pierwotnymi minerałami żelaza w łupku są piryt, chalkopiryt i bornit, a także glinokrzemiany (np. illit) (Piestrzyński i Bachajczuk, 1996) (rycina 1).

Żelazo jest bardzo reaktywnym pierwiastkiem chemicznym. Występuje głównie na II lub III stopniu utlenienia, ale w zależności od fizyczno-chemicznych warunków środowiska, czyli m.in. pH, potencjału redoks i stężenia tlenu, może zmieniać swój stopień utlenienia. Metal ten stabilnie występuje na II stopniu utlenienia jedynie w warunkach beztlenowych i mikrotlenowych, a w obecności tlenu jest stabilny tylko w środowisku o odczynie kwaśnym. W środowisku wilgotnym, o pH powyżej 5 i przy dostępie tlenu żelazo(II) z łatwością utlenia się do żelaza(III). W roztworach o odczynie neutralnym lub lekko zasadowym żelazo w formie utlenionej

tworzy nierozpuszczalne wodorotlenki ($\text{Fe}(\text{OH})_3$), oksywodorotlenki ($\text{FeO}(\text{OH})$) lub tlenki (Fe_2O_3 , $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$). W środowisku kwaśnym i przy dostępie tlenu żelazo jest rozpuszczone i występuje w formie jonu Fe^{2+} lub Fe^{3+} .



Rycina 1. Piryty framboidalne w łupku miedzionośnym z monokliny przedsudeckiej (A, B – obraz z mikroskopu skaningowego; C, D – obraz w świetle odbitym; pow. 10× i 40×)

Biologiczne znaczenie żelaza

Żelazo należy do grupy mikroelementów, co oznacza, że większość bakterii potrzebuje tego pierwiastka w komórce w stężeniu milimolarnym (Madigan i Martinko, 2015). Wyjątkiem są bakterie należące do rodzaju *Lactobacillus*, a także gatunki *Borrelia burgdorferi* oraz *Treponema pallidum*, które nie potrzebują żelaza w ogóle oraz bakterie magnetotaktyczne np. *Magnetospirillum magnetotacticum* i *Magnetobacterium bavaricum*, które wymagają znacząco więcej żelaza niż inne bakterie i kumulują ten metal w stężeniu nawet do 4% suchej masy ich komórek w postaci magnetytu lub greigitu w magnetosomach.

Żelazo jest ważnym składnikiem wielu białek i enzymów, które biorą udział w szeregu procesów metabolicznych, np. transporcie, magazynowaniu i aktywacji tlenu cząsteczkowego, aktywacji i rozkładzie nadtlenu, redukcji rybonukleotydów i azotu cząsteczkowego oraz transferze elektronów.

Dodatkowo, dla wielu bakterii zredukowane związki żelaza(II) są donorem elektronów i źródłem energii, natomiast utlenione związki żelaza(III) są końcowym akceptorem elektronów.

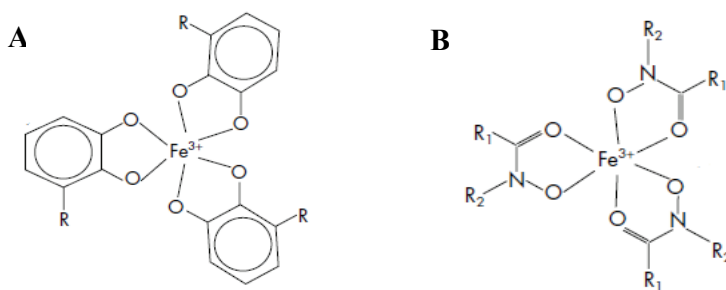
Strategie pobierania i asymilacji żelaza przez bakterie

Mikroorganizmy wykształciły w toku ewolucji dwie strategie pobierania żelaza (Konhauser, 2007). Gdy w ich otoczeniu stężenie tego metalu wynosi ok. 0,01 mmol/dm³, uruchamiany jest

tw. system niskiego powinowactwa. Polega on na swobodnej dyfuzji jonów tego pierwiastka przez błony komórkowe bakterii do cytoplazmy. W warunkach stresowych, spowodowanych niedoborem żelaza w środowisku bytowania bakterii, działa tzw. system wysokiego powinowactwa. Mechanizm ten opiera się na aktywnym transporcie jonów tego metalu do wnętrza komórki z wykorzystaniem sideroforów.

Siderofory (gr. nośniki jonów żelaza) to związki organiczne o niskiej masie cząsteczkowej (ok. 500–2000 Da), wykazujące duże powinowactwo do jonów Fe^{3+} . Związki te są wytwarzane przez bakterie tlenowe i fakultatywne beztlenowce, a także grzyby i rośliny. Dotychczas opisano kilkaset sideroforów, które podzielono na podstawie budowy chemicznej i rodzaju grup chelatujących żelazo na trzy klasy. Pierwszą klasę reprezentują siderofory katecholowe, posiadające pierścień benzenowy z dwiema grupami hydroksylowymi w pozycji *orto*, np. enterobaktyna wytwarzana przez *Escherichia coli* (rycina 2A). Druga klasa sideroforów to pochodne kwasu hydroksamowego, czyli pochodne kwasów karboksylowych, w których grupa hydroksylowa jest zastąpiona przez resztę hydroksyloaminy ($-\text{NHOH}$) (rycina 2B). Przykładem jest defferroksamina B, którą produkują promieniowce oraz ferrichrom wytwarzany przez grzyby np. z rodzaju *Aspergillus*. Wyodrębniono także klasę, do której należą pochodne kwasów wielokarboksylowych. Zgodnie z nazewnictwem w cząsteczce takiego sideroforu występuje kilka grup karboksylowych wiążących jony, np. stafyloferyna wytwarzana przez *Staphylococcus* sp. Wyróżnia się również siderofory o budowie mieszanej, posiadające w strukturze wiele różnych grup funkcyjnych – hydroksamowe, katecholowe i karboksylowe, np. piowerdyna produkowana przez *Pseudomonas aeruginosa*.

Żelazo(III) w kompleksie z sideroforem jest pobierane do komórki, a następnie redukowane przez cytoplazmatyczne reduktazy żelazowe. Proces ten określanym jest mianem asymilacyjnej redukcji Fe(III) i wiąże się z wbudowywaniem żelaza w enzymy lub kofaktory. Reduktazy żelazowe można znaleźć we wszystkich organizmach z wyjątkiem małej grupy bakterii kwasu mlekowego, które jak wspomniano wcześniej nie potrzebują żelaza do prawidłowego wzrostu i funkcjonowania.

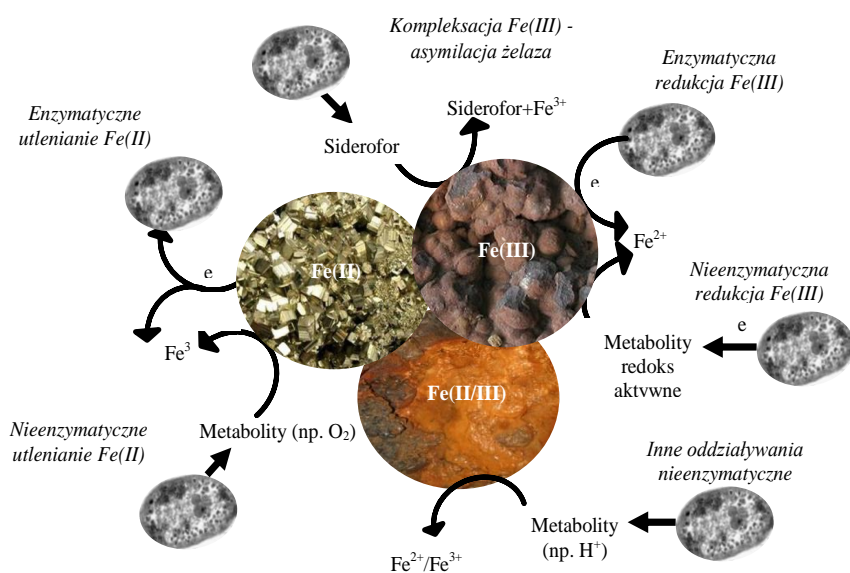


Rycina 2. Kompleks Fe(III) -siderofor katecholowy (A) i hydroksamowy (B) (R, R1, R2 – podstawnik)

Bakteryjne przemiany związków żelaza

Bakterie oddziałują zarówno na rozpuszczone związki żelaza, jak i minerały tego pierwiastka. Bakteryjne oddziaływania są związane z metabolizmem związków żelaza i mogą mieć charakter enzymatyczny lub nieenzymatyczny. Pierwsze dotyczą wspomnianego wcześniej wykorzystania związków żelaza jako źródła energii i donora lub akceptora elektronów,

natomiast drugie dotyczą przede wszystkim rozpuszczania minerałów żelazowych za pośrednictwem metabolitów w celu asymilacji tego pierwiastka. Oddziaływania bakterii ze związkami żelaza przedstawiono na rycinie 3. Ponadto, mikroorganizmy indukują abiotyczne transformacje związków żelaza poprzez modyfikację warunków fizyczno-chemicznych środowiska będącą wynikiem ich procesów metabolicznych. Bakteryjne procesy transformacji związków żelaza zachodzą w warunkach tlenowych oraz beztlenowych, zarówno w środowiskach wodnych, jak i lądowych, w tym w podziemnych warstwach litosfery. Przemiany enzymatyczne są przeprowadzane przez wyspecjalizowane rodzaje bakterii, natomiast przemiany nieenzymatyczne są związane z procesami metabolicznymi bakterii reprezentujących różne typy pokarmowe; są to zarówno bakterie chemolito-, jak i chemoorgano-, auto- i heterotroficzne, tlenowe i beztlenowe.



Rycina 3. Bakteryjne transformacje związków żelaza

W łupku miedzionośnym z monokliny przedsudeckiej wykryto bakterie reprezentujące wszystkie ww. rodzaje oddziaływań bakterii z żelazem. Bakterie przeprowadzające procesy dysymilacyjnego utleniania i redukcji wykrywane były przede wszystkim w osadach występujących na powierzchni łupka, złożonych z minerałów takich jak jazyt, hematyt czy ferryhydrit (rycina 4). Przypuszcza się, że osady te mogły powstać przy udziale bakterii utleniających piryt lub inne pierwotne minerały żelazowe występujące w łupku miedzionośnym. Bakterie oddziałujące z żelazem, w tym z minerałami żelaza, w sposób nieenzymatyczny za pośrednictwem metabolitów (m.in. sideroforów lub kwasów) występują powszechnie zarówno na powierzchni łupka, jak i w różnego rodzaju osadach naskalnych i wodach kopalnianych. Ta grupa bakterii jest reprezentowana przez różne typy taksonomiczne, ale głównie są to tlenowe bakterie heterotroficzne degradujące kopalną materię organiczną występującą w łupku miedzionośnym.



Rycina 4. Wybrane osady występujące na powierzchni łupka miedzionośnego, w których zidentyfikowano bakterie dysymilacyjnie utleniające i redukujące związki żelaza (kopalnia miedzi Lubin)

Dysymilacyjne utlenianie żelaza przez bakterie

Zredukowane związki żelaza(II) mogą być dla bakterii źródłem energii i elektronów. Biologiczne procesy dysymilacyjnego utleniania żelaza zachodzą w środowiskach: (1) tlenowych o odczynie kwaśnym; (2) tlenowych lub mikrotlenowych o odczynie neutralnym oraz (3) bez-tlenowych o odczynie neutralnym i są przeprowadzane przez cztery fizjologiczne grupy bakterii: (1) kwasofilne tlenowe chemolitotrofy, (2) neutrofilne tlenowe chemolitotrofy, (3) anoksygenne beztlenowe fotolitotrofy, (4) neutrofilne beztlenowe bakterie redukujące azotany (Hedrich i wsp., 2011; Johnson, 2012; Ilbert i Bonnefoy, 2013).

Proces utleniania żelaza(II) w warunkach tlenowych przez bakterie kwaso- i neutrofilne przebiega zgodnie z reakcją: $2\text{Fe}^{2+} + 0,5\text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow 2\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$. W środowisku kwaśnym Fe^{3+} występuje w formie rozpuszczonej, natomiast w środowisku o odczynie powyżej 5 wytrąca się w formie wodorotlenków lub tlenków: $\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+$.

Utlenienie Fe(II) do Fe(III) w warunkach tlenowych, gdzie tlen pełni rolę końcowego akceptora elektronów, jest reakcją o dodatnim bilansie energetycznym, jednakże zysk energetyczny jest niski w porównaniu z innymi typami utleniania ($\Delta G^0 = -66 \text{ kJ}/2e^-$; pH 2). Z tego powodu bakterie żelazowe utleniają duże ilości tego pierwiastka, aby pozyskać energię do efektywnego wzrostu. Z danych literaturowych wynika, że bakterie utleniają ok. 50 moli żelaza, aby zasymilować 1 mol węgla.

Bakteriami utleniającymi żelazo(II) w środowiskach beztlenowych są fototrofy anoksygenne oraz bakterie redukujące azotany. Fotoautotroficzne utlenianie związków żelaza nie jest procesem dostarczającym energii. Bakterie anoksygenne wykorzystują jony Fe^{2+} jako donor elektronów podczas procesu asymilacji CO_2 : $24\text{Fe}^{2+} + 6\text{CO}_2 + 66\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 24\text{Fe}(\text{OH})_3 + 48\text{H}^+$. Bakterie redukujące azotany wykorzystują związki organiczne jako źródło węgla, natomiast azotany jako akceptor elektronów. Proces utleniania żelaza z jednoczesną redukcją azotanów przebiega wg reakcji: $10\text{FeCO}_3 + 2\text{NO}_3^- + 24\text{H}_2\text{O} \rightarrow 10\text{Fe}(\text{OH})_3 + \text{N}_2 + 10\text{HCO}_3^- + 8\text{H}^+$.

W łupku miedzionośnym z monokliny przedsudeckiej wykryto bakterie należące do wszystkich czterech ww. grup fizjologicznych. Wśród bakterii kwasofilnych utleniających Fe(II) zasiedlających łupki miedzionośny zidentyfikowano Gram-ujemne bakterie należące do typu *Proteobacteria* i *Nitrospira* oraz Gram-dodatnie bakterie należące do typu *Firmicutes* (tabela 1).

Tabela 1. Bakterie dysymilacyjnie utleniające zredukowane związki żelaza występujące w łupku miedzionośnym należące do czterech grup fizjologicznych

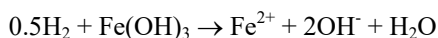
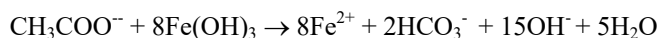
Typ	Klasa	Rząd	Rodzina	Rodzaj (gatunek)
Bakterie kwasofilne				
<i>Nitrospirae</i>	<i>Nitrospira</i>	<i>Nitrospirales</i>	<i>Nitrospiraceae</i>	<i>Leptospirillum</i> (<i>ferrooxidans</i>)
<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Acidithiobacillales</i>	<i>Acidithiobacillaceae</i>	<i>Acidithiobacillus</i> <i>Acidithiobacillus</i> (<i>ferrivorans</i>)
	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhodospirillales</i>	<i>Acetobacteraceae</i>	<i>Acidiphilium</i>
	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Ferroales</i>	<i>Ferrovaceae</i>	<i>Ferrofum</i>
<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Alicyclobacillaceae</i>	<i>Alicyclobacillus</i>
Bakterie neutrofilne				
<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Gallionellales</i>	<i>Gallionellaceae</i>	<i>Ferriphaselus</i> (<i>ammicola</i>)
				<i>Gallionella</i>
		<i>Burkholderiales</i>	-	<i>Sideroxydans</i> (<i>lithotrophicus</i>) <i>Leptothrix</i>
Bakterie fototroficzne anoksygenne				
<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhodobacterales</i>	<i>Rhodobacteraceae</i>	<i>Rhodovulum</i> <i>Rhodobacter</i>
Bakterie redukujące azotany				
<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Rhodocyclales</i>	<i>Rhodocyclaceae</i>	<i>Dechloromonas</i> <i>Azospira</i>

W badanych próbkach łupka miedzionośnego wykryto Gram-ujemne *Acidithiobacillus ferrooxidans* i *A. ferrivorans* (*Acidithiobacilia*), *Leptospirillum ferrooxidans* (*Nitrospira*), *Acidiphilium*

lium sp. (*Alphaproteobacteria*) i *Ferrovum* sp. (*Betaproteobacteria*). Spośród bakterii Gram-dodatnich w łupku miedzionośnym zidentyfikowano jedynie bakterie z rodzaju *Alicyclobacillus* sp. (*Bacilli*). Do bakterii neutrofilnych utleniających Fe(II) występujących w łupku miedzionośnym zaliczają się Gram-ujemne bakterie *Galionella* sp. oraz *Leptothrix* sp., *Ferriphaselus amnicola* oraz *Sideroxydans lithotrophicus* (*Betaproteobacteria*) (tabela 1). Wśród bakterii anoksygennych utleniających Fe(II) występujących w łupku miedzionośnym zidentyfikowano bakterie purpurowe niesiarkowe reprezentowane przez dwa rodzaje *Rhodovulum* i *Rhodobacter* (*Alphaproteobacteria*). Bakteriami denitryfikacyjnymi występującymi w łupku miedzionośnym są fakultatywnie beztlenowe *Azospira* sp. i *Dechloromonas* sp. (*Betaproteobacteria*) (tabela 1).

Dysymilacyjna redukcja żelaza przez bakterie

Utlonione żelazo(III) może być wykorzystane przez bakterie jako końcowy akceptor elektronów. Proces ten zachodzi w warunkach beztlenowych i jest to tzw. oddychanie żelazowe. Dysymilacyjna redukcja żelaza przebiega według reakcji:



Proces redukcji żelaza jest związany z produkcją energii, aczkolwiek zysk energetyczny uzyskany w jego wyniku jest mniejszy niż z oddychania tlenowego. Dysymilacyjna redukcja żelaza, podobnie jak oddychanie siarkowe, jest jednym z najstarszych ewolucyjnie procesów dostarczających energię (Ehrlich and Newman, 2009).

Bakteriami zdolnymi do oddychania żelazowego zidentyfikowanymi w łupku miedzionośnym są Gram-ujemne, beztlenowe bakterie z rodzaju *Geobacter*, *Pelobacter* i *Desulfuromonas* (*Deltaproteobacteria*) oraz bakterie z rodzaju *Shewanella* (*Gammaproteobacteria*) i *Ferribacterium limneticum* (*Betaproteobacteria*) (tabela 2).

Tabela 2. Bakterie dysymilacyjnie redukujące utlenione związki żelaza występujące w łupku miedzionośnym

Typ	Klasa	Rząd	Rodzina	Rodzaj (gatunek)
<i>Proteobacteria</i>	<i>Deltaproteobacteria</i>	<i>Desulfuromonadales</i>	<i>Geobacteraceae</i>	<i>Geobacter</i>
			<i>Desulfuromonadaceae</i>	<i>Desulfuromonas</i>
			<i>Desulfuromonadaceae</i>	<i>Pelobacter</i>
	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Alteromonadales</i>	<i>Shewanellaceae</i>	<i>Shewanella</i>
<i>Betaproteobacteria</i>		<i>Rhodocyclales</i>	<i>Rhodocyclaceae</i>	<i>Ferribacterium (limneticum)</i>

Nieenzymatyczne przemiany związków żelaza

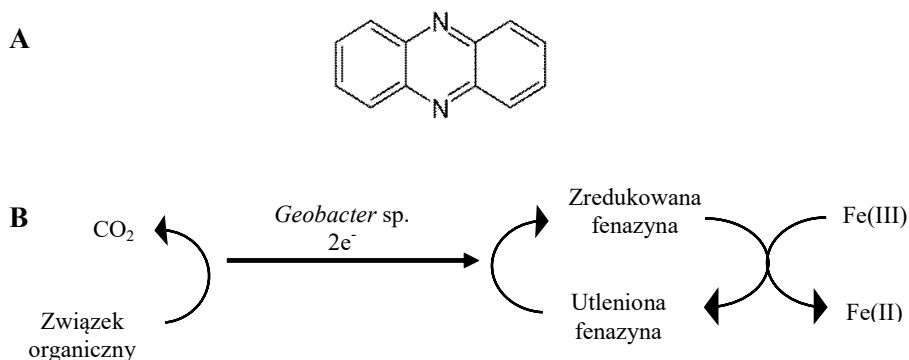
Bakterie produkują szereg metabolitów, które powodują wietrzenie minerałów żelazowych. Oprócz opisanych wcześniej specyficznych związków zdolnych do kompleksowania jonów żelaza (siderofory), mikroorganizmy wytwarzają szereg niespecyficznych niskocząsteczkowych i wielkocząsteczkowych związków organicznych i nieorganicznych. Do tych związków należą różnego rodzaju uboczne produkty przemiany materii, np. kwasy organiczne (kwas cytrynowy, szczawiowy, humusowe) oraz nieorganiczne (np. kwas siarkowy, węglowy). Są one wytwarzane w wyniku wszystkich przemian katabolicznych zachodzących w komórce. Dodatko-

wo, bakterie produkują związki zewnątrzkomórkowe np. barwniki i surfaktanty, które także mogą powodować transformację związków żelaza (Ehrlich i Newman, 2009).

W zależności od charakteru chemicznego związków produkowanych przez mikroorganizmy procesy transformacji żelaza przebiegają w różny sposób. Związki posiadające w swojej budowie grupy kompleksujące (m.in. $-\text{NH}_3$, $-\text{NH}$, $=\text{CO}$, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$) powodują kompleksowanie Fe^{3+} z minerałów zawierających żelazo. Prowadzi to do biowietrzenia minerałów na drodze kompleksolizy. Protony wodorowe występujące w kwasach łączą się z anionami tlenu lub podstawiają się na miejsce kationów metali w minerałach żelaza, natomiast aniony karboksylowe reagują z jonami naładowanymi dodatnio. Biowietrzenie minerałów pod wpływem kwasów nazywamy kwasolizą. Związki, takie jak melanina i fenazylna czy kwasy humusowe są zdolne do redukcji Fe^{3+} (redoksoliza nieenzymatyczna). Wszystkie wspomniane wyżej związki są odpowiedzialne za rozpuszczanie minerałów i mobilizację żelaza, które może być asymilowane przez mikroorganizmy.

Z łupka miedzionośnego z monokliny przedsudeckiej wyizolowano kilkadziesiąt bakterii heterotroficznych zdolnych do produkcji sideroforów (Mielnicki, 2010; Włodarczyk i wsp., 2015). Wśród izolatów dominują bakterie z rodzaju *Pseudomonas* i *Acinetobacter*, ale także *Ochrobactrum* sp., *Brevundimonas* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Paracoccus* sp., *Sinorhizobium* sp., *Shewanella* sp., *Sphingobium* sp., *Sphingobacterium* sp., *Bacillus* sp. i *Alcaligenes* sp. Siderofory produkowane przez te izolaty reprezentują wszystkie trzy typy sideroforów, ale dominują siderofory hydroksamowe. Wykazano, że siderofory produkowane przez bakterie kompleksują żelaza rozpuszczone, a także kompleksują żelazo występujące w łupku miedzionośnym (Włodarczyk i wsp., 2015).

Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* spp. wyizolowane z łupka miedzionośnego produkują fenazylnę. Jest to heterocykliczny wielopierścieniowy związek chemiczny z grupy barwników azynowych o szkielecie węglowym antrachinonu, zawierający dwa heteroatomy azotu (rycina 5A). Związek ten może pełnić rolę przenośnika elektronów z komórki na zewnątrz akceptor, np. hematyt, prowadząc do jego redukcji (rycina 5B).



Rycina 5. Redukcja Fe(III) za pośrednictwem fenazylny; (A) wzór strukturalny fenazylny; (B) mikrobiologicznie zredukowana fenazylna abiotycznie redukuje Fe(III)

Rolę zewnętrznych przenośników elektronów mogą pełnić także wielkocząsteczkowe związki organiczne, takie jak kwasy humusowe zawierające chinony. Związki te redukują Fe(III) same ulegając utlenieniu w wyniku czego następuje ich regeneracja i mogą ponownie służyć

jako przekaźniki. Innym ważnym metabolitem jest wytwarzany przez bakterie utleniające Fe(II) jon żelazowy Fe(III), który jest silnym utleniaczem. Proces utlenienia pirytu przez Fe(III) przedstawia reakcja: $\text{FeS}_2 + \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \rightarrow 3\text{FeSO}_4 + 2\text{S}$.

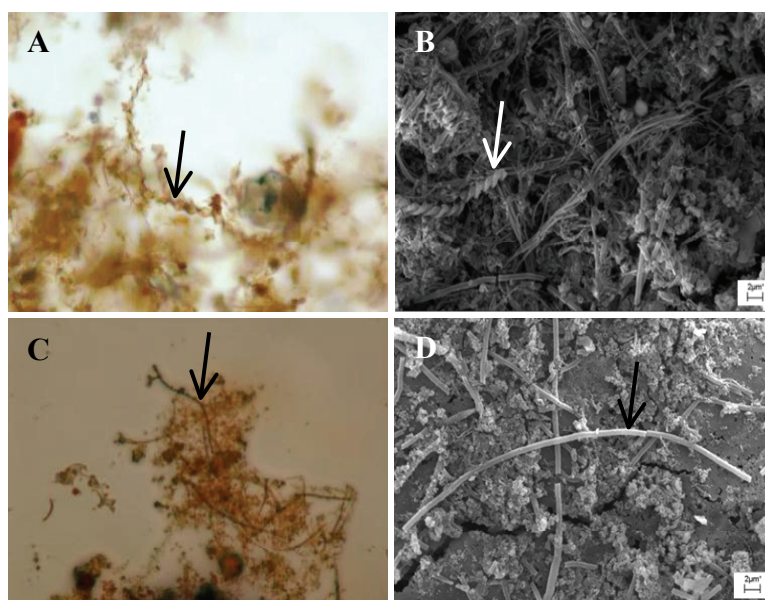
Bakterie heterotroficzne degradujące kopalną materię organiczną występującą w łupku miedzionośnym produkują różnego rodzaju kwasy organiczne, takie jak kwas heksanowy, kwas oktanowy, kwas tetradekanowy, kwas 1,2-benzenodikarboksylowy (Włodarczyk i wsp., 2016; Stasiuk i wsp., 2017). Wykazano, że związki te mogą powodować rozpuszczanie minerałów występujących w łupku, w tym również minerałów żelazowych. Bakterie heterotroficzne rozkładające kopalną materię organiczną mogą wytwarzać również kwas węglowy, a bakterie chemolitotroficzne utleniające zredukowane związki siarki lub siarkę pierwiastkową produkują kwas siarkowy.

Ciekawym przykładem metabolitu jest kwas mrówkowy wytwarzany przez bakterie utleniające metan. Bakterie te zidentyfikowano również w łupku miedzionośnym (Włodarczyk i wsp., 2018). Kwas mrówkowy może redukować Fe(III): $2\text{Fe}^{3+} + \text{HCOOH} \rightarrow 2\text{Fe}^{2+} + 2\text{H}^+ + \text{CO}_2$ i jest kolejnym przykładem nieenzymatycznego czynnika pochodzenia biologicznego.

Biologicznie indukowana mineralizacja żelaza

Bakterie utleniające i redukujące związki żelaza mogą indukować powstawanie minerałów wtórnych, które są produktem ubocznym procesów mikrobiologicznych lub efektem oddziaływań pośrednich.

Bakterie utleniające żelazo w warunkach mikrotlenowych, o odczynie neutralnym indukują powstawanie wodorotlenku żelaza, który wytrąca się na powierzchni ich komórek. Proces ten obrazuje reakcja chemiczna: $\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+$.



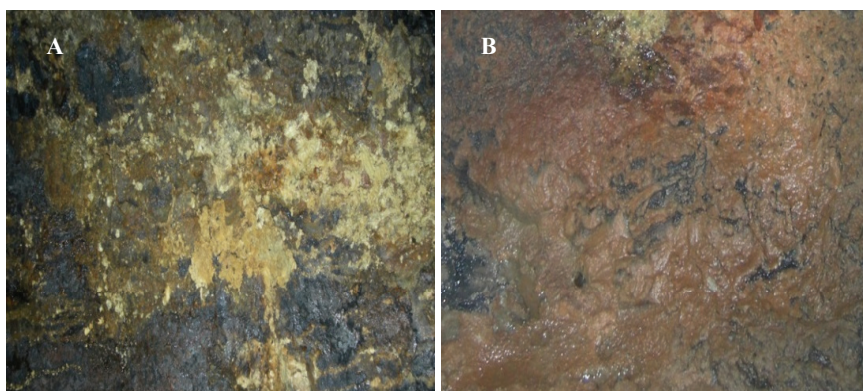
Rycina 6. Komórki bakterii *Galionella* sp. (A, B) i *Leptothrix* sp. (C, D) (strzałka) inkrustowane wodorotlenkiem żelaza (A, C – mikroskopia optyczna; B, D – skaningowa mikroskopia elektronowa) (kopalnia Lubin)

Na rycinie 6AB przedstawiono charakterystyczne spiralnie skręcone struktury powstałe w wyniku inkrustracji wodorotlenkiem żelaza śluzowatej nóżki *Galionella* sp., natomiast efektem wytrącania Fe(III) na powierzchni nitkowatych komórek bakterii *Leptothrix* sp. są charakterystyczne rurki (rycina 6CD). Duże nagromadzenie tych bakterii, zarówno żywych jak i martwych, może prowadzić do powstawania osadów bogatych w żelazo(III) (rycina 7).



Rycina 7. Osad denny bogaty w wodorotlenek żelaza, powstały przy udziale bakterii utleniających, zredukowane związki żelaza (kopalnia miedzi Lubin)

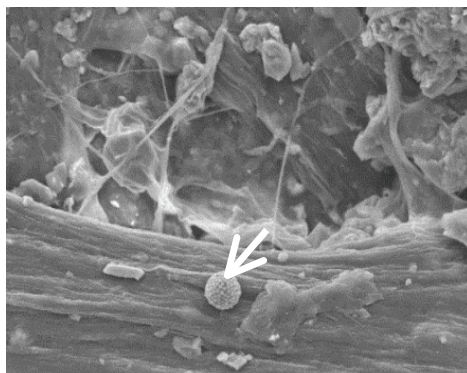
Ponadto żelazo(III) może reagować z siarczanami powstałymi w wyniku utlenienia zredukowanych związków siarki lub siarki pierwiastkowej – proces ten prowadzi do powstania jarozytów: $M^+ + 3Fe^{3+} + 2SO_4^{2-} + 6H_2O \rightarrow MFe_3(SO_4)_2(OH)_6 + 6H^+$ ($M = H^+, Na^+, K^+, NH_4^+$). Wodorotlenek żelaza(III) może przekształcić się także abiotycznie do hematytu lub getytu wg reakcji: $Fe(OH)_3 \rightarrow Fe_2O_3 \times 3H_2O$ (Konhauser, 2007). Jarozyty, podobnie jak hematyt, obserwowane są na powierzchni skały łupkowej (rycina 8).



Rycina 8. Osady naskalne zawierające jarozyt (A) i hematyt (B) (kopalnia miedzi Lubin)

Bakterie wytwarzające żelazo(II), jak również bakterie wytwarzające wodorotlenek żelaza(III) w warunkach beztlenowych w obecności bakterii redukujących siarczany wytwarza-

jących siarkowodor mogą także indukować wytwarzanie mono- i disiarczków wg reakcji: $\text{Fe}^{2+} + \text{HS}^- \rightarrow \text{FeS} + \text{H}^+$ lub $6\text{Fe}(\text{OH})_3 + 9\text{HS}^- \rightarrow 6\text{FeS} + 3\text{S}^0 + 9\text{H}_2\text{O} + 9\text{OH}^-$. Reakcja monosiarczków z siarkowodorem lub siarką pierwiastkową może prowadzić do powstania pirytu (FeS_2) lub greigitu (Fe_3S_4): $\text{FeS} + \text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{FeS}_2 + \text{H}_2$ / $3\text{FeS} + \text{S}^0 \rightarrow \text{Fe}_3\text{S}_4$. Piryty framboidalne prawdopodobnie powstałe przy udziale bakterii w wyniku powyższej przedstawionych reakcji są obserwowane na powierzchni mat mikroorganizmów w wodach kopalnianych (rycina 9).



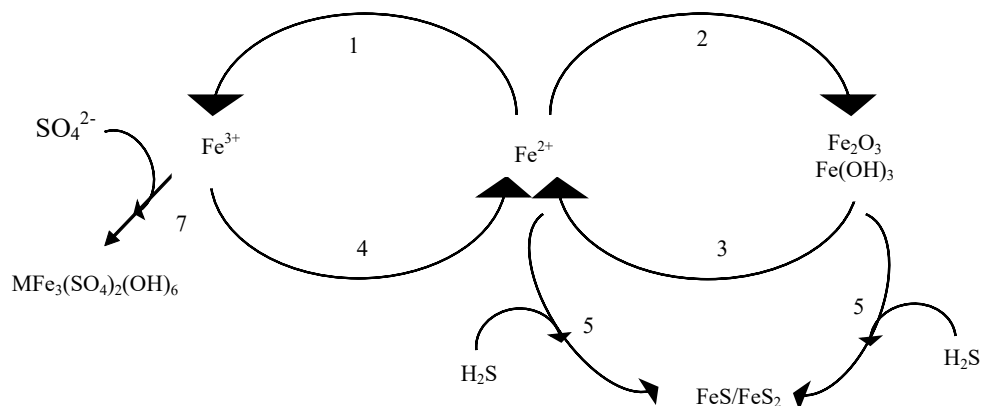
Rycina 9. Piryt framboidalny (strzałka) powstały współcześnie w wyniku aktywności bakterii (kopalnia miedzi Polkowice-Sieroszowice)

Podsumowanie – udział mikroorganizmów w obiegu żelaza

Bakteryjne przemiany związków żelaza składają się na obieg tego pierwiastka w podziemnym środowisku kopalnianym (rycina 10). Bakterie występujące w łupku miedzionośnym odgrywają ważną rolę w przemianach biogeochemicznych żelaza, w tym zarówno w procesach wietrzenia pierwotnych minerałów żelaza, jak również tworzenia minerałów wtórnych zawierających ten pierwiastek.

Mikroorganizmy utleniające zredukowane związki żelaza przyczyniają się do wietrzenia pierwotnych minerałów (np. piryt, bornit, chalkopiryt), a jednocześnie biorą udział w tworzeniu osadów bogatych w ten pierwiastek (np. ferryhydryt lub hematyt). Jedną z istniejących teorii zakłada, że wspomniane na wstępie wstęgowe formacje żelaziste pochodzące z wczesnego proterozoiku (ok. 2,5–1,7 mld lat temu) mogły powstać w wyniku bezpośredniej oksydacji żelaza przez fototrofy anoksygenne i bakterie utleniające żelazo z jednoczesną redukcją azotanów. Również kongrecje żelazowo-manganowe występujące na dnach oceanicznych powstają prawdopodobnie przy udziale bakterii utleniających związki żelaza. Podobnie bakterie redukujące związki żelaza powodują wietrzenie minerałów żelazowych (np. hematyt), a jednocześnie indukują tworzenie minerałów wtórnych (np. piryt). Bakterie heterotroficzne degradujące kopalną materię organiczną występującą w łupku miedzionośnym produkują szereg metabolitów, które także oddziałują z minerałami żelazowymi prowadząc do ich wietrzenia.

Opisane procesy przyczyniają się do redystrybucji żelaza w podziemnym środowisku kopalnianym, w tym mobilizacji z pierwotnych minerałów występujących w łupku miedzionośnym do osadów naskalnych, wód podziemnych i osadów dennych.



Rycina 10. Biogeochemiczny obieg żelaza w podziemnym środowisku kopalnianym monokliny przedsudeckiej.
 1 – utlenienie Fe(II) w warunkach tlenowych, odczyn kwaśny; 2 – utlenienie Fe(II) w warunkach mikroaerobowych lub beztlenowych, odczyn neutralny lub zasadowy; 3, 4 – redukcja Fe(III) w warunkach beztlenowych;
 5 – reakcja Fe(II) z H₂S powstałym przy udziale bakterii redukujących siarczany w warunkach beztlenowych;
 7 – reakcja Fe(III) z SO₄²⁻

Podziękowania

Badania prowadzono w ramach projektu OPUS finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (2012/07/B/NZ8/01904). Autorki dziękują KGHM Polska Miedź S.A. za umożliwienie prowadzenia badań w podziemnych kopalniach miedzi oraz pomoc w ich realizacji. Autorki dziękują również Panu dr. Krzysztofowi Nejbertowi (Wydział Geologii Uniwersytetu Warszawskiego) za pomoc w wykonaniu zdjęć prezentowanych na rycinie 1.

Literatura

- EHRlich H.L., NEWMAN D.K., 2009. *Geomicrobiology*, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- HEDRICH S., SCHLÖMANN M., JOHNSON D.B., 2011. *The iron-oxidizing proteobacteria*, *Microbiology* 157, 1551–1564.
- ILBERT M., BONNEFOY V., 2013. *Insight into the evolution of the iron oxidation pathways*, *Biochimica et biophysica Acta* 1827, 161 – 175.
- JOHNSON D.B., 2012. *Geomicrobiology of extremely acidic subsurface environments*, *FEMS Microbiol. Ecol.* 81, 2–12.
- KABATA-PEDNIAS A., PENDIAS H., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*, Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa, Polska, 329–334.
- KONHAUSER K., 2007. *Introduction to Geomicrobiology*. Blackwell Publishing.
- MADIGAN M.T., MARTINKO J.M., 2015. *Brock biology of microorganisms*, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA.
- MIELNICKI S., 2010. *Różnorodność mikroorganizmów hodowlanych w kopalni miedzi Lubin oraz charakterystyka sideroforów bakteryjnych i ich rola w mobilizacji metali*.
- PIESTRZYŃSKI A., BOCHAJCZUK J., 1996. *Monografia KGHM Polska Miedź, Cuprum*, Lubin CBPM.
- TOURTELOT, HA., 1979. *Black shale - its deposition and diagenesis*, *Clays and Clay Minerals* 27, 313–321.
- STASIUK R., WŁODARCZYK A., KARCZ P., JANAS M., SKŁODOWSKA A., MATLAKOWSKA R., 2017. *Bioweathering of fossil organic matter and organic carbon mobilization from subsurface*

- organic-rich Kupferschiefer black shale – long-term laboratory studies*, Environmental Microbiology Reports, doi: 10.1111/1758-2229.12559.
- WŁODARCZYK A., STASIUK R., SKŁODOWSKA A., MATLAKOWSKA R., 2015. *Extracellular compounds produced by bacterial consortium promoting elements mobilization from polymetallic Kupferschiefer black shale (Fore-Sudetic Monocline, Poland)*, Chemosphere 122, 273–279.
- WŁODARCZYK A., SZYMAŃSKA A., SKŁODOWSKA A., MATLAKOWSKA R., 2016. *Determination of factors responsible for the bioweathering of copper minerals from organic-rich copper-bearing Kupferschiefer black shale*, Chemosphere, 148, 416–425.
- WŁODARCZYK A., LIRSKI M., FOGTMAN A., KOBŁOWSKA M., BIDZIŃSKI G., MATLAKOWSKA R., 2018. *The oxidative metabolism of fossil hydrocarbons and sulfide minerals by the lithobiontic microbial community inhabiting deep subterrestrial Kupferschiefer black shale*, Front. Microbiol. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00972.