

1. Wstęp

Wykorzystanie oddziaływań drobnoustrojów na substancje mineralne nabiera znaczenia praktycznego. Ługowanie metali z rud umożliwia otrzymywanie roztworów, na przykład miedzi lub uranu, z których można odzyskiwać te metale w procesach hydrometalurgicznych. Takie ługowanie metali z mineralów nierozpuszczalnych powodują głównie bakterie siarkowe zdolne do utleniania jonów żelaza w środowisku kwaśnym.

Można wyróżnić szereg typów oddziaływań drobnoustrojów na związki metali. Dotychczas jednak, w praktycznym wykorzystaniu przemysłowym, najbardziej zaawansowane są procesy biometalurgiczne ługowania metali. Warte są jednak omówienia inne, potencjalne możliwości wykorzystania oddziaływań drobnoustrojów na związki metali. Dotyczą one zdolności nagromadzenia jonów metali na powierzchni komórek mikroorganizmów, akumulacji wewnątrzkomórkowej lub zmiany postaci związku metalu w procesach precypitacji.

Poznanie mechanizmów powodujących mikrobiologiczną solubilizację lub akumulację związków metali, może być przydatne w opracowaniu biotechnologicznych procesów ługowania lub usuwania z roztworu i odzysku niektórych metali ważnych gospodarczo. Może to również dotyczyć dekontaminacji roztworów zawierających substancje promieniotwórcze.

2. Mechanizmy mikrobiologicznej solubilizacji związków metali

Szczególną rolę w procesach mikrobiologicznego ługowania metali ze związków nierozpuszczalnych wykazują autotroficzne, acydoofile utleniające żelazo bakterie siarkowe *Thiobacillus ferrooxidans*. Mają też one obecnie istotne znaczenie praktyczne i ekonomiczne w procesach biotechnologicznych.

T. ferrooxidans uzyskuje energię dla wzrostu z utleniania jonów żelaza lub siarki. Żelazo występujące w postaci dwuwartościowego jonu żelazawego (Fe^{2+}) w wyniku biologicznego utleniania do jonu żelazowego (Fe^{3+}) dostarcza energii metabolicznej tym chemoautotrofom. Mogą one również wykorzystywać siarczki (S^{2-}), tiosiarczany ($S_2O_3^{2-}$) lub czterotlioniany ($S_4O_6^{2-}$) utleniane zwykle do siarczanów (SO_4^{2-}). Bakterie te wiążą z otoczenia autotroficznie węgiel z dwutlenku węgla.

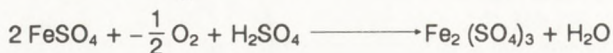
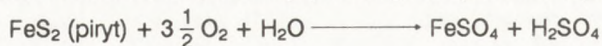
Ostatnio pojawiły się możliwości wykorzystania termofilnych bakterii *Leptospirillum ferrooxidans* w procesach bakteryjnego ługowania. Również niektóre gatunki rodzaju *Sulfolobus* wykazują właściwości przydatne w ługowaniu metali. Wśród innych bakterii aktywnych w tych procesach ważny jest udział *Thiobacillus thiooxidans*, które mają zdolność utleniania siarki elementarnej oraz prostych nieorganicznych związków siarki z wykorzystaniem ich w procesach metabolizmu i wzrostu biomasy. Wykazano też rolę mieszanych populacji bakterii siarkowych w mikrobiologicznym ługowaniu metali. Współdziałanie *T. ferrooxidans* i *T. thiooxidans* w ługowaniu wielu rud jest bardziej efektywne od działania wyłącznie bakterii utleniających żelazo.

W środowisku silnie zakwaszonym, w którym zwykle zachodzi ługowanie, występują również drobnoustroje heterotroficzne: bakterie i grzyby. Wykorzystują one dla wzrostu małe stężenia substancji organicznych, zawartych przypadkowo lub pochodzących z metabolizmu bakterii autotroficznych. Dotychczas jednak nie określono roli tych mikroorganizmów heterotroficznych w procesach ługowania.

Wśród mechanizmów bakteryjnego ługowania metali można umownie wyróżnić ługowanie pośrednie lub bezpośrednie.

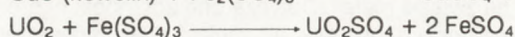
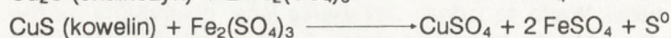
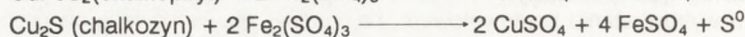
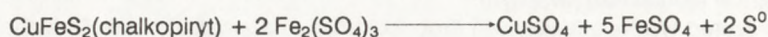
3. Ługowanie pośrednie

Działanie pośrednie, które drobnoustroje mogą wywierać w procesie ekstrakcji jonów metali z rud, głównie siarczkowych, wynika z odtwarzania jonu żelazowego, działającego jako utleniacz. *T. ferrooxidans* powoduje przebieg dwu podstawowych reakcji:

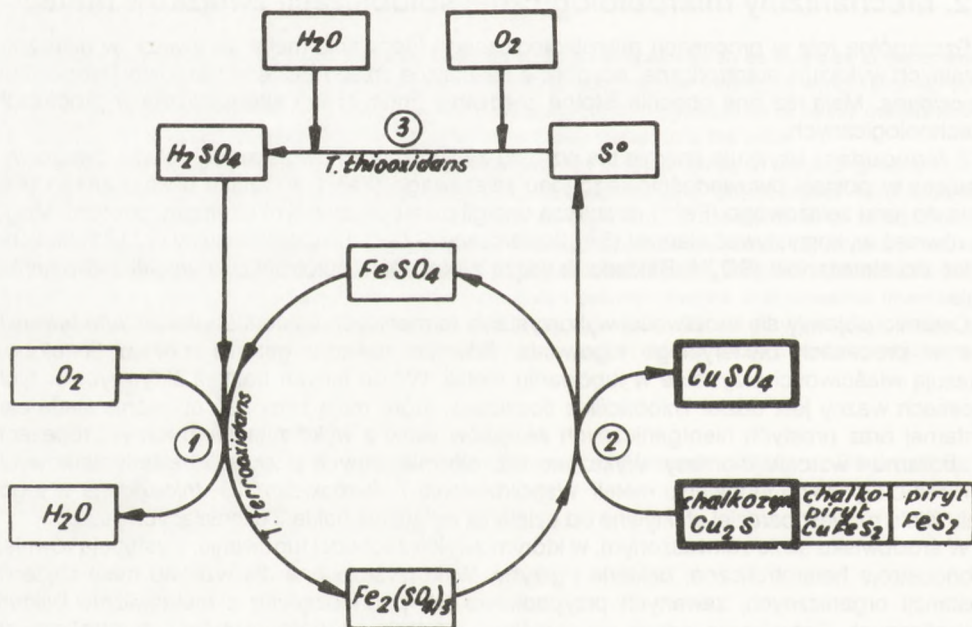
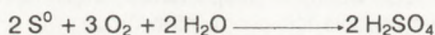


W warunkach zakwaszenia poniżej pH 4 bakterie te mogą uzyskiwać energię z utleniania jonu żelazowego.

Jon żelazowy (Fe^{3+}) jest efektywnie działającym utleniaczem wielu mineralów siarczkowych, na przykład miedzi lub związków uranu na niższym stopniu utleniania.



Mechanizm pośredniego ługowania zależy zatem od biologicznej regeneracji siarczanu żelazowego. Siarka elementarna (S^0) nagromadzająca się w wyniku przebiegających reakcji może ulegać utlenieniu do kwasu siarkowego przez bakterie rodzaju *Thiobacillus*.

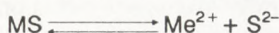


Rys.1. Schemat mikrobiologicznego ługowania miedzi z rud siarczkowych przez bakterie rodzaju *Thiobacillus*.

Tworzący się kwas siarkowy utrzymuje niskie pH. Zapobiega to hydrolizie i wytrąceniu jonu żelazowego. Jest również dogodny dla rozwoju bakterii siarkowych. Utlenienie siarczynu żelazowego do żelazowego w obecności tych bakterii przebiega około milion razy szybciej niż w środowisku jałowym. Schemat procesów przebiegających podczas pośredniego ługowania siarczków metali (na przykładzie chalkozynu) przez bakterie rodzaju *Thiobacillus* przedstawia rys. 1.

4. Ługowanie bezpośrednie

W mechanizmie bezpośredniego ługowania uwzględnia się enzymatyczny atak bakterii na podlegające utlenieniu komponenty mineralu. Substrat siarczkowy musi ulegać rozтворzeniu przed utlenieniem metabolicznym. Może to nastąpić wskutek dysocjacji:



Układ enzymatyczny drobnoustrojów powoduje utlenienie siarczku do siarczynu. Może również przebiegać utlenienie jonu metalu. Obie te reakcje mogą być źródłem energii dla niektórych mikroorganizmów. W wyniku tych reakcji zostaje przesunięta równowaga dysocjacji, co powoduje dalsze roztwarzanie siarczku. Teoretycznie proces ten powinien przebiegać do całkowitego rozтворzenia mineralu. W praktyce jednak reakcje uboczne hamują procesy dysocjacji lub wywołują inhibicję aktywności bakterii. Powoduje to tylko częściowe utlenienie mineralu siarczkowego.

Możliwy jest również enzymatyczny atak drobnoustroju na atomową strukturę mineralu. Wymaga to jednak ścisłego kontaktu komórki z siarczkiem metalu. Mechanizm usunięcia jonów metalu lub siarki ze struktury kryształu nie jest jednak poznany. Dowody przebiegu tego procesu pochodzą z badań syntetycznych siarczków metali wolnych od żelaza, ujawnionych w badaniach elektronowo-mikroskopowych kryształów po ataku mikrobiologicznym. Obecność żelaza w układach naturalnych poddawanych ługowaniu prawdopodobnie powoduje równoczesny przebieg mechanizmów pośredniej i bezpośredniej ekstrakcji jonów metali z rud. Mechanizm pośredniego ługowania jest jednak bardziej efektywny.

5. Zastosowanie mikrobiologicznych przemian związków metali

Zadawalające pod względem praktycznym przykłady biotechnologicznych przemian związków metali są związane z biohydrometalurgią w zachodnich stanach USA. Znaczna część produkcji miedzi z tych obszarów pochodzi z ługowania przyzmy ubogich rud miedzianych. Złóża takie zasiedlają bakterie rodzaju *Thiobacillus*, głównie *T. ferrooxidans* oraz acydofilne drobnoustroje heterotroficzne. Przebiegające reakcje mikrobiologiczne i chemiczne powodują ługowanie jonów miedzi i innych metali towarzyszących. Po perkolacji przez złożę roztwór ługujący zbierany u dołu przyzmy, jest poddawany procesom hydrometalurgicznym, na przykład cementacji metalicznym żelazem w celu odzysku miedzi. Stosuje się również ługowanie podziemne (*in situ*) w odpowiednio perforowanych złożach rudy, które umożliwia wymuszona przez pompowanie cyrkulacja roztworu ługującego. Ługowanie miedzi wykorzystuje się również w praktyce wydobywczej ZSSR, Japonii, Hiszpanii i Meksyku. Poważne zainteresowanie rozwojem takiego sposobu wydobycia obserwuje się w Chile, Peru i Jugosławii. Produkcję przemysłową uranu drogą ługowania mikrobiologicznego prowadzi się w Kanadzie.

Osiągnięcia w ługowaniu miedzi i uranu doprowadziły do zainteresowania się metodami odzyskiwania metali szlachetnych lub o znaczeniu strategicznym z rud ubogich. Siarczki srebra, kobaltu, molibdenu, niklu i innych pierwiastków podlegają ługowaniu w obecności *T. ferrooxidans*. Złoto, srebro i platynowce często występują w postaci rozproszonej w pirycie. Powoduje to utrudnienie w odzyskiwaniu tych metali za pomocą metod konwencjonalnych, na przykład

przez traktowanie cyjankiem. Można jednak zastosować wstępne mikrobiologiczne ługowanie pirytu, które spowoduje uwolnienie ziaren metali szlachetnych z masy pirytu. Złóża węgla kamiennego lub brunatnego również zawierają siarczki metali, głównie pirit, który można utlenić z użyciem bakteryjnego ługowania. Mikrobiologiczne odsiarczanie węgla stanowi potencjalną, ekonomicznie interesującą metodę zapobiegania ekologicznym skutkom emisji dwutlenku siarki z procesów spalania zasilanego węgla.

6. Akumulacja metali przez mikroorganizmy

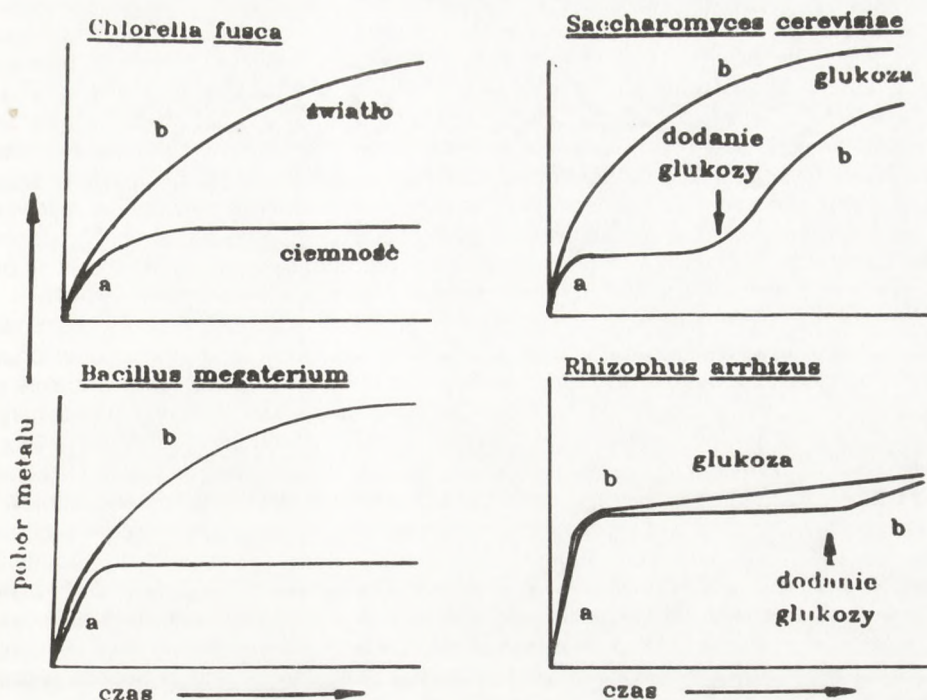
Różne drobnoustroje: bakterie i promieniowce, drożdże i grzyby strzępkowe, sinice i glony – wykazują zdolności nagromadzenia metali ciężkich i radionuklidów z otaczającego środowiska. Interesujące jest, że również martwe komórki mikroorganizmów mogą wiązać jony tych metali. Również wydzielane metabolity drobnoustrojowe reagują z metalami. W akumulacji metali przez drobnoustroje uczestniczą reakcje fizykochemiczne typu chemisorpcji, jonowymiiany i kompleksowania. Działają też mechanizmy poboru jonów, zależne od energii metabolicznej związane z transportem przez błony biologiczne, kompartmentacją komórki oraz precypitacją lub kompleksowaniem przez wydzielane metabolity.

W poborze jonów metali przez biomasę drobnoustrojów można wymienić dwie fazy. Pierwsza z nich, występująca również w komórkach martwych, przebiega w warunkach niezależnych od procesów metabolicznych i polega na sorpcji przez grupy czynne związków występujących w powierzchniowych warstwach komórki. Faza ta ma szybki przebieg w odróżnieniu od następnej – powolnego nagromadzenia metalu. Jej przebieg zależny od energii metabolicznej jest związany z transportem przez zespół ścianowo-błonowy komórki i akumulację wewnątrzkomórkową. Pojawianie się tych faz można wykazać w obserwacjach dynamiki akumulacji metali przez zawieszinę bakterii heterotroficznych, drożdży lub glonów w obecności substratu energetycznego, który umożliwia wzrost, w porównaniu z przebiegiem w warunkach bezwzrostowych (rys. 2).

Niekiedy akumulację wewnątrzkomórkową ułatwiają czynniki działające toksycznie, które mogą wpływać na dyfuzję jonów przez zwiększenie przepuszczalności błon biologicznych zespołu ścianowo-błonowego komórki. Nie zawsze jednak ujawniają się dwufazowe przebiegi akumulacji. Nie wykazuje ich na przykład dynamika nagromadzenia ołowiu, uranu lub toru przez różne drobnoustroje, w której przewaga procesów sorpcji powierzchniowej maskuje fazę akumulacji wewnątrzkomórkowej. W wielu przypadkach akumulacji jonów metali przez żywe i martwe komórki głównie uczestniczą procesy powierzchniowe z małym udziałem poboru wewnątrzkomórkowego. Komórki żywe mogą też ujawniać jedną lub obie fazy akumulacyjne. Zależy to od przebiegu procesów metabolicznych narzuconych przez warunki substratowe i obecność związków, które mogą kompleksować lub wytrącać związki metali.

Procesy mikrobiologicznej akumulacji metali z roztworów można podzielić na trzy grupy: sorpcję jonów metali na powierzchni komórek, wewnątrzkomórkowy pobór metali oraz chemiczną przemianę wskutek działania czynników biologicznych. Transport jonów metali do komórki drobnoustrojów może natomiast przebiegać wskutek działania kilku mechanizmów: (i) transport przez nośniki specyficzne, głównie jonów metali pokarmowo istotnych; (ii) transport jonów metali skompleksowanych ze specyficznymi niskomolekularnymi ligandami (sideroforami) wydzielanymi przez komórkę i przenoszonymi przez receptory błonowe; (iii) niespecyficzny transport jonów metali skompleksowanych z substratem pokarmowym, służącym jako nośnik molekularny z wykorzystaniem mechanizmu transportu substratu. Wymienione procesy transportowe mogą działać równocześnie lub niezależnie od siebie.

Procesy bioakumulacji metali są przedmiotem zainteresowań aplikacyjnych. Wynika to z możliwości wykorzystania biomasy drobnoustrojów do usuwania z wody lub odpadów przemysłowych metali ciężkich i radionuklidów niebezpiecznych dla środowiska biologicznego.



Rys.2. Uproszczony przebieg poboru jonów metalu przez różne drobnoustroje (a) w warunkach bezwzrostowych oraz (b) w warunkach zależnych od metabolizmu (Gadd, 1989).

Umożliwia to detoksykację, a niekiedy odzysk wartościowych metali. Wyczerpywanie się istniejących zasobów mineralnych narzuca konieczność zwiększenia efektywności ich eksploatacji oraz wielokrotnego użycia już wydobytych metali. Można spodziewać się, że procesy opierające się na wykorzystaniu drobnoustrojów okażą się bardziej ekonomiczne od dotychczas stosowanych, konwencjonalnych metod metalurgicznych. Niektóre z tych procesów wchodzi już do praktyki biometalurgii. Wiele jednak możliwości wynikających z oddziaływań drobnoustrojów na metale nie zostało jeszcze wykorzystanych w biotechnologii.

7. Powierzchniowa i zewnątrzkomórkowa sorpcja metali

Warstwa zewnętrzna komórek większości mikroorganizmów wykazuje ładunek elektroujemny. Wynika to z obecności ujemnie naładowanych grup funkcyjnych ściany lub błony zewnętrznej komórek. Ligandy organiczne oraz naładowane grupy fosforanowe (PO_4^{3-}), karboksylowe (COO^-), sulfhydrylowe (SH^-) lub hydroksylowe (OH^-) biopolimerów są odpowiedzialne za chemisorpcję i wiązanie dodatnio naładowanych jonów metali z roztworu. Ten proces sorpcyjny charakteryzuje się szybkim i odwracalnym przebiegiem, a także jest niezależny od temperatury i energii metabolicznej komórki.

Skład biopolimerów ściany komórkowej mikroorganizmów gramododatnich jest gatunkowo zróżnicowany, podobnie jak błony zewnętrznej bakterii gramoujemnych i ich zespołu ścianowo-błonowego. Grupy karboksylowe kwasu glutaminowego w peptydoglikanie (mureinie) ściany komórkowej bakterii gramododatnich mogą działać jako główne miejsca wiązania jonów metali.

Kwasy teichowe i teichuronowe tej ściany, zawierające grupy fosforanowe, mogą również wiązać metale. Bardziej złożona budowa zespołu ścianowo-błonowego i jego chemiczne zróżnicowanie u bakterii gramujemnych powoduje, że za główne miejsce wiążące jony metali uważa się grupy czynne polipeptydów inkrustujących struktury błonowe oraz białek perioplazmatycznych.

Na powierzchni komórek drożdży umiejscowione są reaktywne grupy wysokocząsteczkowych polifosforanów, odpowiedzialne za akumulację jonów metali. Grupy karboksylowe białek mogą również uczestniczyć w tym procesie. Stwierdzono, że liczne gatunki grzybów strzępkowych działają efektywnie jako biosorbenty metali. Uważa się, że na powierzchni mycelium, podobnie jak w przypadku bakterii lub drożdży, występują grupy czynne biopolimerów odpowiedzialne za wiązanie jonów metali. Mogą one również ulegać kompleksowaniu przez chitynę oraz inne wielocukry (mannan i glukan) występujące w ścianie tych mikroorganizmów.

Liczne bakterie i sinice wytwarzają na powierzchni komórki śluzową warstwę otoczkową. Otoczki wielocukrowe wskutek obecności składników kwaśnych mają wyraźny anionowy charakter, podobnie jak otoczki polipeptydowe wytwarzane głównie przez gramododatnie gatunki bakterii (z rodzaju *Bacillus*). Wśród biopolimerów otoczkowych występują polisacharydy często podstawione grupami fosforanowymi, kwasy uronowe i pochodne glukozoaminy. Biopolimery te mogą kompleksować kationy metali. Taką akumulację przez polimery zewnątrzkomórkowe uważa się za proces bierny, nie wymagający bezpośredniej aktywności drobnoustrojów.

Biosorpcja jonów metali jest procesem fizykochemicznym, który zachodzi między kationami metali i reaktywnymi grupami zjonizowanymi zewnętrznych struktur komórkowych. Proces ten można porównać do zjawisk chemisorpcji i jonowymiany. Zależy on od czynników wpływających na przebieg chemicznych oddziaływań między grupami czynnymi (ligandami) i jonami metali. Szczególną zdolność biosorpcji wykazują więc bakterie gramododatnie, które dysponują w warstwie zewnętrznej ścianą komórkową zbudowaną z mureiny bogatej w miejsca wiążące kationy metali. Zdolność tę mogą zwiększać biopolimery otoczkowe.

8. Przemiany metali wskutek aktywności metabolicznej drobnoustrojów

Jony metali mogą ulegać przemianom metabolicznym, które prowadzą do ich wytrącenia w postaci związków trudno rozpuszczalnych, związania w postaci chelatów lub przemiany w związki lotne.

Aktywność drobnoustrojów powoduje wytwarzanie anionów nieorganicznych, które mogą być aktywne w procesach akumulacji. Wytwarzanie siarkowodoru przez bakterie redukujące siarczany może spowodować wytrącenie nierozpuszczalnych siarczków licznych metali ciężkich. Wykorzystanie bakterii rodzaju *Desulfovibrio* do produkcji H_2S może mieć istotne znaczenie aplikacyjne w oczyszczaniu wód odpadowych zawierających metale ciężkie.

Wytrącanie metali może być również powodowane przez drobnoustroje o wzmożonej aktywności nietypowej fosfatazy kwaśnej, jaką wytwarzają niektóre szczepy bakterii rodzaju *Citrobacter*. Indukcyjnie wytwarzana fosfataza w obecności β -glicerofosforanu powoduje odszczepienie nieorganicznego fosforanu, który wytrąca na powierzchni komórki warstwę nierozpuszczalnego fosforanu ołowiu lub uranu. Metoda ta jednak nie sprawdza się dla większości drobnoustrojów syntetyzujących typową fosfatazę kwaśną. Ponadto β -glicerofosforan może kompleksować, na przykład uranyl, co utrudnia precypitację związków uranu.

Niektóre drobnoustroje powodują metylację metali (lub metaloidów), przeprowadzając je w postać lotną. Takiej metylacji podlega rtęć, selen, arsen, cyna, ołów i kadm. Można również spodziewać się metylacji platyny, palladu, złota i talu. Przydatność aplikacyjna procesów biometylacji jest wątpliwa ze względu na trudności związane z operacjami tych związków lotnych i ich wysoką toksycznością. Samoistnie natomiast przebiegająca metylacja związków rtęci w osadach dennych może powodować problemy ekologiczne.

Procesy redukcyjne mikroorganizmów prowadzą do zmiany wartościowości jonów metali lub wytrącania metalu w postaci wolnej. Jon rtęciowy (Hg^{2+}) transportowany do komórki, może ulec redukcji do wolnej rtęci (Hg^0) wskutek działania reduktazy rtęciowej. Bakteryjna redukcja związków żelaza wynika z reakcji transportu elektronów. Również redukcja manganu jest związana z działalnością mikroorganizmów. W tym jednak przypadku proces wiąże się z wpływem wydzielanych pośrednich produktów metabolizmu przez komórkę drobnoustroju. Redukcji drobnoustrojowej podlega również selen, tellur, wanad, arsen i molibden.

9. Mechanizmy wewnątrzkomórkowej akumulacji metali

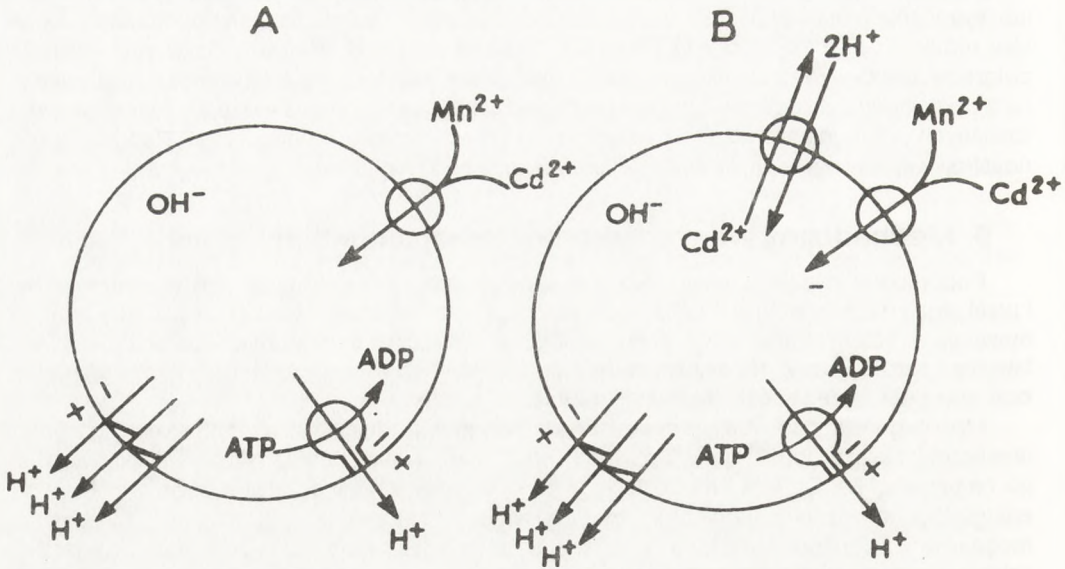
Pobór jonów metali do wnętrza komórki drobnoustroju jest zależny od energii metabolicznej i przebiega znacznie wolniej od procesów sorpcji powierzchniowej. Może podlegać przy tym hamowaniu w niższej temperaturze, przez niedobór substratów energetycznych lub obecność inhibitorów i rozpręgaczy. Na szybkość tego poboru wpływa również stan fizjologiczny komórek oraz charakter i skład substratów wzrostowych.

Mikroorganizmy pobierają jony niektórych metali niezbędnych dla wzrostu i aktywności metabolicznej. Należą do nich jony Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ i Na^+ . Niezbędne są też pierwiastki śladowe, jak na przykład Fe, Cu, Mn, Zn i Co. Układy transportujące te jony działają w sposób zależny od energii biochemicznej i temperatury oraz wykazują zróżnicowaną specyficzność. Systemy te mogą również transportować jony innych metali niż mikroelementy niezbędne. Pomimo wysokiej selektywności mechanizmów transportu jonów, możliwa jest substytucja przez jon o zbliżonych właściwościach. Kadm, na przykład może być pobierany przez liczne bakterie, grzyby i glony z wykorzystaniem układu transportu dwuwartościowego jonu manganu. Aniony chromianu (CrO_4^{2-}), selenianu (SeO_4^{2-}), wanadynianu (VO_4^{2-}), wolframianu (WO_4^{2-}) lub molibdenianu (MoO_4^{2-}) mogą podlegać transportowi do komórki niektórych mikroorganizmów z wykorzystaniem układu transportu siarczanu (SO_4^{2-}). W innych przypadkach substancja taka może dotyczyć układu transportującego fosforany.

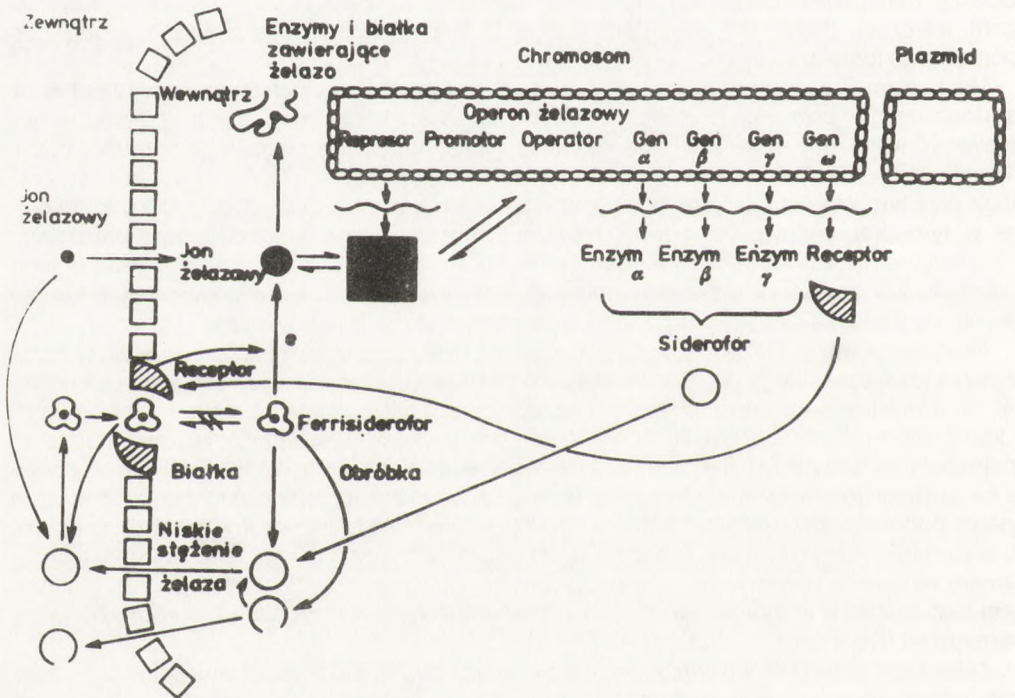
Mechanizmy transportu zaangażowane w akumulacji metali ciężkich przez drobnoustroje nie są dostatecznie poznane. Ogólnie, w przypadku bakterii gramoujemnych, przewiduje się możliwość wędrówki jonów przez poriny błony zewnętrznej do przestrzeni perioplazmatycznej, z której ulegają transportowi specyficznemu przez błonę cytoplazmatyczną do wnętrza komórki. Mogą przy tym współdziałać „pompy protonowe”. Bezpośredni udział ATPazy błony komórkowej w tym procesie nie jest pewny, możliwy natomiast udział potencjału membranowego w przepływie transportowanych jonów. Transport można ograniczyć przez zniesienie tego potencjału lub zwiększyć przez hiperpolaryzację wynikającą z działania jonoforów. Może też ujawnić się działanie dyfuzji wymuszonej przez gradient stężenia jonów metalu.

Akumulacja metali ciężkich przez żywe komórki może podlegać efektom wywołanym przez działania toksyczne. Mogą one doprowadzić do zwiększonej przepuszczalności błony komórkowej, co powoduje udostępnienie wewnątrzkomórkowych miejsc wiązania metali, niedostępnych w komórkach nie uszkodzonych. W niektórych przypadkach wykazano powiązania pomiędzy opornością na toksyczne działanie metali i transportem. Szczepy *Staphylococcus aureus* podatne na działanie jonów kadmu (Cd^{2+}) nagromadzają ten metal transportowany do komórki przez system poboru jonów manganu (Mn^{2+}). Powoduje to wewnątrzkomórkową akumulację kadmu do stężeń toksycznych. Szczepy odporne dysponują zależnym od energii metabolicznej mechanizmem wydalania kadmu w antyportcie z protonem, co chroni przed nadmiernym nagromadzeniem tego metalu w komórce. Taki mechanizm oporności jest w przypadku *S. aureus* kodowany plazmidowo (rys. 3).

Żelazo jest pierwiastkiem niezbędnym dla organizmów. W środowisku występuje często deficyt żelaza spowodowany trudną rozpuszczalnością związków żelazowych, powstających wskutek hydrolizy. Liczne drobnoustroje wydzielają siderofory – związki chelatujące jony żelazo-



Rys. 3. Transport Cd^{2+} u szczepów bakterii *Staphylococcus aureus* (A) wrażliwych i (B) opornych na działanie kadmu. Pobór Cd^{2+} następuje przez mechanizm transportu Mn^{2+} . Plazmidowo zależna oporność na kadm wynika z antyportu Cd^{2+} i protonu (Tynecka i in., 1981).



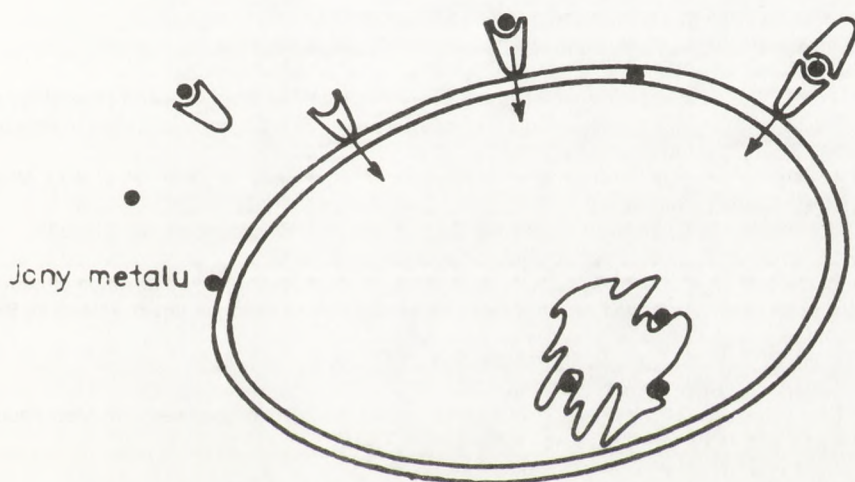
Rys.4. Schemat pobierania żelaza przez bakterie z udziałem wydzielanego sideroforu (Neilends, 1982).

we (Fe^{3+}). Siderofory te stanowią zróżnicowaną grupę połączeń, które można zwykle zaliczyć – ze względu na strukturę miejsca wiążącego jon metalu w cząsteczce, do typu katecholowego lub hydroksamowego. Niektóre mikroorganizmy wytwarzają analogiczne związki chelatujące dla poboru niklu, miedzi lub aluminium.

Kompleks sideroforu z żelazem trójwartościowym o dużej trwałości, utworzony w środowisku otaczającym komórkę drobnoustroju, jest przez tę komórkę pobierany przez specyficzne receptory błonowe. Po uwolnieniu ze struktury sideroforu, żelazo jest wykorzystywane wewnątrzkomórkowo. Sideroforowy pobór żelaza przez komórkę stanowi układ regulacyjny (rys. 4). Stres wywołany przez niedobór żelaza powoduje uruchomienie syntezy sideroforu i receptorów błonowych. Umożliwia to wewnątrzkomórkowy pobór żelaza. W przypadku pokrycia zapotrzebowania na żelazo represor unieczynnia operon żelazowy.

U drobnoustrojów występuje również możliwość niespecyficznego poboru niektórych metali. Jony metalu lub metaloidu mogą tworzyć w środowisku otaczającym komórkę kompleksy z substratem pokarmowym, na przykład z glukozą lub fruktozą. Może to być również substrat degradowany indukcyjnie, jak pirokatechina przez niektóre szczepy rodzaju *Pseudomonas*. Substraty takie mogą pełnić rolę cząsteczki nośnikowej dla jonów metali wprowadzanych do komórki przez system transportu specyficzny dla poboru substratów (rys. 5).

Jony skompleksowane z substratem



Rys.5. Uproszczony schemat mechanizmu niespecyficznego transportu i akumulacji jonów metali przez komórkę bakterii (Chmielowski, Kłapcińska, 1984).

Taki układ transportowy może działać w komórce obok innych, równocześnie występujących mechanizmów akumulacji jonów metali.

Losy jonów metali ciężkich pobranych wewnątrzkomórkowo są zróżnicowane. Niektóre drobnoustroje dysponują składnikami komórkowymi o wysokiej specyficzności wiązania metali. Należy do nich niskodrobinowe białko metalotioneiny bogatej w cysteinę. Może ono wiązać kadm, cynk lub miedź wewnątrzkomórkowo. Niektóre metale lokują się w sposób uprzywilejowany w zespoleniu ścianowo-błonowym bakterii gramujemnych lub w wakuolach komórek droź-

dży. Lokalizacja ta może również nastąpić w ziarnistościach cytoplazmatycznych, na przykład w polifosforanach. Wytwarzanie tych ciał obserwuje się u niektórych grzybów w wyniku działania metali ciężkich. W procesie akumulacji jonów tych metali obserwuje się również wiązanie przez kwasy nukleinowe jądra komórkowego lub nukleoidu. Powoduje to skutki genetyczne. Ogólnie, można spodziewać się, że lokalizacja akumulowanych metali i ich przemieszczanie się w komórce zależy od stałych kompleksowania przez elementy budulcowe.

W rozpatrywaniu problemów praktycznego wykorzystania drobnoustrojów do akumulacji i odzyskiwania metali bierze się pod uwagę ilości metalu, które biomasa może związać. Wielkości te wahają się od kilku miligramów na gram suchej masy do kilku procent zawartości w biomacie. Biotechnologiczne wykorzystanie mikrobiologicznej akumulacji metali zależy również od łatwości odzysku metalu z biomasy. Pożądane są niedestruktywne metody tego odzysku umożliwiające regenerację i wielokrotne użycie biomasy w cyklach biosorpcji i desorpcji metalu. Destruktywne odzyskiwanie skumulowanego metalu może nastąpić przez spalanie i uzyskiwanie koncentratu popiołowego, który nadaje się do przeróbki pirometalurgicznej. Można również posłużyć się wymywaniem metali z biomasy przez stężone kwasy lub zasady. Dotychczas jednak nie wykorzystano w pełnej skali technicznej możliwości, które stwarzają procesy mikrobiologicznej akumulacji metali.

Literatura

- Bierley C. L., (1982), *Scient. Amer.*, 247, 44–54.
- Chmielowski J., Kłapcińska B., (1984), *Postępy Mikrobiol.*, 22, 63–88.
- Chmielowski J., Kłapcińska B., (1986), *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 1099–1103.
- Chmielowski J., (1990), *Wiss. Zeitschr. THLM.*, 32, 364–372.
- Gadd G. M., (1986), The uptake of heavy metals by fungi and yeast: the chemistry and physiology of the process and applications for biotechnology, in: Eccles H., Hunt S., (ed.), *Immobilization of ions by biosorption*, Horwood, Chichester.
- Gadd G. M., (1989), Accumulation of metals by microorganisms and algae, in: Rehm H. I., (ed.), *Microbial processes*, VCH Verlag, Weinheim.
- Hutchins S. R., Davidson M. S., Bierley J. A., Bierley C. L., (1986), *Ann. Rev. Microbiol.*, 40, 311–336.
- Lundgren D. G., Malouf E. E., (1983), *Adv. Biotech. Processes*, 1, 223–249.
- Macaskie L. E., Dean A. C. R., (1989), Microbial metabolism, desolubilization, and deposition of heavy metals: metal uptake by immobilized cells and application to the detoxication of liquid wastes, in: *Biological waste treatment*, A. R. Liss.
- Neilands J. B., (1982), *Ann. Rev. Microbiol.*, 36, 285–309.
- Olson G. J., Kelly R. M., (1986), *Biotech. Progress*, 2, 1–15.
- Shumate S. E., Strandberg G. W., (1985), Accumulation of metals by microbial cells, in: Moo-Young M., (ed.), *Comprehensive Biotechnology*, vol. 4, Pergamon, Oxford.
- Torma A. E., Banhegyi I. G., (1984), *Trends Biotechnol.*, 2, 13–15.
- Tynecka Z., Gos Z., Zajac J., (1981), *J. Bacteriol.*, 147, 313–319.
- Volesky B., (1987), *Trends Biotechnol.*, 5, 96–101.

Mechanisms of the extraction and accumulation of metals by microorganisms

Summary

The microbial-influenced extraction of metals from insoluble minerals is done through leaching by acidophilic iron oxidizing and sulfur oxidizing bacteria. By convention bacterial leaching has been divided into two approaches. Direct leaching entails an enzymatic attack by the bacteria on the components of the mineral which are susceptible to oxidation. Indirect leaching, in contrast, does not proceed through an attack by the bacteria on the atomic structure of the mineral. Instead the bacteria generate ferric iron by

oxidizing soluble, ferrous iron. Ferric iron in turn, is a powerful oxidizing agent that reacts with other metals, transforming them into soluble, oxidized form in a sulfuric acid solution. In practice the leaching of metals is more complex than this analysis might suggest.

Both living and dead microbial cells are capable of uptake and accumulation of metal ions, also are substances produced or derived from these cells.

The processes for the microbial removal of metal from solution can be divided into three categories: the sorption of metal ions into the surface of a microorganism, the intracellular uptake of metals, and the chemical transformation of metals by biological agents. The transport of metal ions into the living microbial cells can occur via one of the following mechanisms: (i) transport via carriers specific of nutritionally essential ions; (ii) specific transport of metals complexed with specifically exuded low-molecular-weight ligands (siderophores) through the congate membrane receptors; (iii) nonspecific transport of metal ions with substrates serving as carrier molecules through a transport system specific of these substrates. These processes may operate individually or simultaneously.

Adres dla korespondencji:

Jerzy Chmielowski, Katedra Biochemii, Uniwersytet Śląski, ul. Jagiellońska 28,
40-032 Katowice.