

I. Классификация бактерий

Н.А.Красильников выделяет 4 класса: Eubacterial (истинные бактерии)

Actinomycetes (актиномицеты)

Mухobacterial

(миксобактерии)

Spirochaetae

(спирохеты)

В класс Eubacterial входят организмы с неветвящимися клетками, имеющими форму мелких тонких палочек, реже кокки, также нитевидные и спиралевидные формы. Часть эубактерий неподвижные, а часть подвижны. Движение при помощи жгутиков. Грамотрицательные и грамположительные. Некоторые способны формировать эндогенно (внутри клеток) термоустойчивые споры.

I. Порядок Eubacteriales (эубактерии) включает автотроф и гетеротроф.

1. Семейство Pseudomonadaceae- грамотрицательные неспорообразующие палочки с одним полярным жгутиком. Включает: род Pseudomonas, род Halobacterium, род Azotomonas, род Acetomonas.
2. Семейство Bacillaceae- грамположительные и грамотрицательные палочковидные бактерии. Включает: род Bacillus, род Clostridium, род Desulfotomaculum.
3. Семейство Bacteriaceae- неспороносные грамотрицательные палочки с перитрихальным жгутикованием. Включает: род Bacterium, род Agrobacterium, род Erwinia, род Proteus, род Azotobacter.

4. Семейство Spirillaceae- грамотрицательные сильно или слабоизогнутые палочки. Включает: род Vibrio, род Spirosoma, род Renobacter, род Spirillum, род Selenomonas.

5. Семейство Planococcaceae- шаровидные грамположительные подвижные бактерии. Включает: род Planococcus, род Planosarcina.

II. Порядок Ferribacteriales (железобактерии)-

одноклеточные бактерии, обладающие способностью откладывать вокруг клеток соединение Fe; гетеротрофы.

1. Семейство Ferribacteriaceae включает род Gallionella, род Nevskia, род Pasteuria.

2. Семейство Siderocapsaceae включает род Siderocapsa, род Sideromonas, род Ferrobacillus, род Ferribacterium.

III. Порядок Chlamydoxiales (хламидобактерии) –

нитчатые бактерии, гетеротрофы, многие способны откладывать в слизистых чехлах гидраты окиси Fe.

1. Семейство Chlamydoxiaceae включает род Sphaerotilus, род Leptotrix, род Thiothrix, род Crenotrix.

IV. Порядок Thiobacteriales (серобактерии) –

одноклеточные бактерии, которые при окислении сероводорода откладывают внутри клеток капельки серы ; гетеротрофы.

1. Семейство Achromatiaceae включает род Achromatium, род Thiopnusa, род Thiosphaerella, род Thiovulum.

V. *Порядок Hyphomicrobiales (почкующиеся)* – гетеротрофные грамотрицательные неспорообразующие бактерии; клетки обладают протоплазматическими выростами-гифами. Размножаются путём образования почек на концах гиф.

1. Семейство Hyphomicrobiaceae включает род Hyphomicrobium, род Pedomicrobium, род Blastobacter, род Ancalomicrobium.

Класс *Actinomycetes* состоит из организмов, обладающих мицелиарными нитевидными, палочковидными и кокковидными грамположительными клетками. Характерно наличие ветвящегося септированного и несептированного мицелия.

I Порядок Actinomycetales (актиномицеты)-необразующие подвижные клетки, прокариотные микроорганизмы, клетки которых способны к ветвлению и образованию мицелия. Подвижных клеток не образуют.

1) Семейство Actinomycetaceae включает род Actinomyces, род Chainia, род Proactinomyces, род Actinopicnidium.

2) Семейство Micromonosporaceae включает род Micromonospora, род Microbispora, род Micropolyspora, род Fctinobifida, род Promicromonospora.

3) Семейство Streptosporangiaceae включает род Streptosporangium, род Microsporangium, род Actinosporangium, род Elytrosporangium.

II Порядок Actinoplanales (актиномицеты с подвижными клетками) прокариотические микроорганизмы, клетки

которых способны ветвиться и образовывать мицелий. В процессе развития образуются подвижные клетки-споры или фрагменты нитей мицелия.

- 1) Семейство Actinoplanaceae включает род Actinoplanes, род Spirillospora, род Pilimelia, род Ampullariella, род Kitasatoa .
- 2) Семейство Dermatophilaceae включает род Dermatophilus, род Proactinoplanes.
- 3) Семейство Planosporaceae включает род Planospora, род Planobispora, род Sporichtia, род Dactylosporangium .

IV Порядок Coccales (кокки)-бактерии с кокковидными клетками различных размеров и неправильной конфигурации. Спор не образуют. Неподвижные. размножаются делением, перешнуровыванием и почкованием.

Семейство Coccaceae включает род Micrococcus, род Nitrococcus, род Diplococcus, род Streptococcus, род Sarcina, род Staphylococcus.

Класс *Mycobacteriae* представлен палочковидными и кокковидными клетками, обладающие тонкой эластичной клеточной стенкой; благодаря этому при движении они могут изменять свою форму и изгибаться. Движение по типу скольжения. Способны образовывать микроцисты, а также особые плодовые тела.

I Порядок Muxobacterales- грамотрицательные бактерии.

Клетки способны к движению в слизи.

- 1) Семейство Promuxobacteriaceae не образует плодовых тел; включает род Cytophga, род Sporocytophaga, род Flexibacter.
- 2) Семейство Archangiaceae- колонии не имеют правильной формы; включает род Archngium, род Stelangium.
- 3) Семейство Polyangiaceae–плодовые тела сегментированы, ветвятся; включает род Poliagium, род Synangium, род Podangium, род Clondromyces.
- 4) Семейство Sorangiaceae-включает род Sorangium.
- 5) Семейство Мухососсасеae-палочковидные клетки укорачиваются в цистах, включает род Мухососсус, род Chondrococcus, род Angiococcus.

Класс **Spirochaetae** –организмы обладают подвижными, извивающимися клетками спиралевидной формы. Движение при помощи осевой нити.

I Порядок – Spirochaetales

- 1) Семейство Spirochaetaceae включает род Spirochaeta, род Saprospira, род Cristispira, род Borrelia, род Treponema, род Leptospira.

По современным взглядам выделяют ещё 2 класса:

Класс **Microtatiobiotetes** (микротатиобиоты) -входят почковидные и кокковидные грамотрицательные бактерии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами.

I. Порядок Rickettsiales (риккетсии)

- 1) Семейство Rickettsiaceae -паразитируют в клетках животных и растений; включает род Rickettsia, род Coxiella, род Dermacentroxenus.
- 2) Семейство Ehrlichiaceae–паразитируют в лейкоцитах; включает род Ehrlichia, род Cytoecetes .
- 3) Семейство Bartonellaceae - паразитирует в эритроцитах; включает род Bartonella, род Eperythrozoon, род Haemobartonella, род Grahamella

I.I Порядок Chlamydiales (хламидии)

- 1) Семейство Chlamydiaceae включает род Chlamydia

Класс **Mollicutes** (микоплазмы) – сапрофитные и паразитирующие бактерии, клетки которых лишены клеточных стенок.

I Порядок Mycoplasmatales

- 1) Семейство Mycoplasmataceae включает род Mycoplasma, род Thermomycoplasma.
- 2) Семейство Acholeplasmataceae включает род Acholeplasma.

III. Экологические группы микроорганизмов.

Микроорганизмы-это наиболее многочисленные обитатели биосферы, занимающие все доступные для жизни уголки планеты. Благодаря разнообразию условий, в которых могут расти эти существа, наши представления о границах жизни постоянно расширяются.

Развитие микроорганизмов в природе определяется его биологическими особенностями, энергетическим обменом,

способностями к адаптации, границами устойчивости к факторам внешней среды и т. д.

Физико-химические факторы, характеризующие условия среды обитания организмов, разнообразны. К ним относят температуру, кислотность среды, водную активность, гидростатическое давление, солнечную активность, солёность среды, концентрации кислорода и т.д.

Отношение к температуре:

В отличие от теплокровных животных микроорганизмы не могут регулировать свою температуру и их функциональная активность определяется температурой окружающей среды.

Для бактерий существует свой температурный диапазон; который характеризуется тремя кардинальными точками: минимальная температура, ниже которой прекращается рост и развитие бактерий; оптимальная температура, соответствующая наивысшей скорости роста микроба; максимальная температура, выше которой скорость роста бактерий практически снижается до нуля.

По отношению к температуре микроорганизмы подразделяются на несколько групп:

❖ **Мезофиллы**-температурный диапазон которых лежит в пределах 10-47°C, при этом оптимальная температура 30-40°C.

У многих (патогенные бактерии) температурный оптимум близок к температуре тела теплокровных животных (30-37°C)

❖ **Психрофилы**-холодолюбивые-микроорганизмы растут при температуре ниже 20°C (оптимум ниже 15°C), вплоть до отрицательных значений температур. Как правило,

существуют в постоянно холодных условиях и чувствительны даже к небольшому повышению температуры.

- ❖ **Психротрофы-(психроактивные)**-микроорганизмы, растущие при 0°C , в отличие от психрофилов имеют более высокие оптимальную ($25-30^{\circ}\text{C}$) и максимальную (примерно 35°C) температуры роста.
- ❖ **Термофилы** – микроорганизмы, имеющие оптимум развития при температуре выше 50°C . В зависимости от кардинальных температур их подразделяют на ряд групп:
 - термотолерантные (максимум $45-50^{\circ}\text{C}$)
 - факультативные
 - облигатные
 - экстремальные термофилы
 - гипертермофилы (оптимум $80-105^{\circ}\text{C}$, максимум 110°C и выше).

Отношение к кислотности среды:

По отношению к реакции среды выделяют:

- ❖ **Нейтрофилы** – развиваются при значении рН, близком к нейтральному (рН 6-8); многие виды растут или выдерживают более низкие или высокие значения рН, соответственно их относят к ацидотолерантным или алкалотолерантным.
- ❖ **Ацидофилы** – организмы, растущие в кислой среде (рН <6). Среди них выделяют облигатные и факультативные (ацидотолерантные), способные расти и в нейтральных условиях.

- ❖ **Алкалифилы** – предпочитают значения рН 8,5 и выше; выделяют облигатные и факультативные (способные расти в нейтральной среде) виды.

Отношение к солёности:

- ❖ **Негалофильные** (пресноводные) – развиваются в среде с содержанием солей $\leq 0,01\%$ и обычно чувствительны к 3%-й концентрации NaCl.
- ❖ **Галотолерантные** – выдерживают более высокие концентрации и часто обитают в листьях с меняющейся солёностью.
- ❖ **Морские бактерии** – оптимум солёности составляет около 3,5%. Они растут в узком диапазоне концентраций соли: 2,5-5,0% NaCl.
- ❖ **Умеренные галофилы** – растут в диапазоне солёности 5-15%.
- ❖ **Экстремальные галофилы** – развиваются при концентрации NaCl от 12-15% вплоть до насыщенных растворов соли.
- ❖ **Галоалкалифилы** – растущие при высокой концентрации соды и сочетающие в себе свойства экстремальных гало- и алкалифил.

Отношение к кислороду:

- ❖ **Аэробные** – использующие кислород как акцептор электронов при дыхании. Делятся на:
 - *облигатные аэробы* – в качестве акцептора электронов при дыхании используют только O₂.
 - *факультативные аэробы* или факультативные анаэробы могут расти в аэробных, так и в анаэробных условиях и

переключать свой метаболизм с одного способа получения энергии на другой.

❖ **Микроаэрофилы** – нуждаются в низкой концентрации кислорода и часто обладают высоким средством к нему, что позволяет им развиваться в зонах пониженного содержания кислорода.

❖ **Анаэробные** – не нуждаются в кислороде.

Делятся на:

- облигатных – чувствительные к токсическому действию O_2 и часто нуждаются для своего развития в восстановительной обстановке.

- факультативных.

❖ **Аэротолерантные анаэробы** – могут расти в присутствии некоторого количества кислорода, не изменяя при этом анаэробный тип метаболизма.

Отношение к концентрации субстрата:

Микроорганизмы делятся на:

- *копиотрофы* – организмы, растущие при высоких концентрациях питательных веществ.

- *Олиготрофы* – медленно растущие формы, использующие питательные вещества в очень низкой концентрации.

Отношение к типу питания:

❖ **Автотрофы-**

- *Фотоавтотрофы* – источником энергии служит свет.

- *Хемоавтотрофы* – энергию получают при окислении минеральных соединений.

❖ **Гетеротрофы** –

- *Хемоорганогетеротрофы*-необходимы органические соединения как основные источники углерода, а в большинстве и субстраты для получения энергии.
- *Фотогетеротрофы*- бактерии нуждающиеся в готовых органических соединениях, источником энергии является свет.

Отношение к давлению:

- ❖ Пьезофилы (барофилы) – микроорганизмы, рост которых зависит от повышенного давления или стимулируется им.
- ❖ Морские организмы – прекрасно развиваются как при повышенном давлении, так и его отсутствие.

III. Применение бактерий в народном хозяйстве.

Биологическая обработка органических отходов.

Первоначально основной целью очистки стоков было их обеззараживание. Понимание важности качественной очистки сточных вод для охраны природных водоёмов пришло позже. Сегодня проблемной водой считается одной из актуальнейших проблем наступившего века. Стремительный рост населения Земли, развитие промышленности и сельского хозяйства, которые помимо полезной продукции производят большое количество отходов, вырубка лесов и распашка земель ведут к нарушению экологического равновесия и загрязнению водоёмов и грунтовых вод- источников питьевой воды. Для поддержания чистоты мест забора воды (питьевой) необходима качественная очистка сточных вод. Эти проблемы тесно взаимосвязаны, тем более что производство сточных вод

в России достигает в настоящее время 500л в сутки на душу городского населения.

Огромный вклад в загрязнение грунтовых и поверхностных вод вносят свалки твёрдых бытовых и промышленных отходов, сброс навозных стоков, бесконтрольное применение удобрений, а также загрязнение целых территорий нефтью и другими химическими продуктами, выработка полезных ископаемых. С ростом использования бумаги, упаковочных материалов, одноразовой посуды и т.п. количество твёрдых бытовых отходов (ТБО) на душу городского населения в индустриальных странах достигло 300 (Россия), 650 (США) кг в год. Практически единственным методом утилизации ТБО до последнего времени является его захоронение на специальных полигонах и последующая анаэробная деградация спонтанной микробной популяций.

В настоящее время разработаны и развиваются современные технологии по очистке бытовых, промышленных и сельскохозяйственных отходов. Наибольший интерес представляют естественные и самые дешёвые биологические методы очистки, представляющие собой интенсификацию природных процессов разложения органических соединений микроорганизмами в аэробных и анаэробных условиях. Наряду с ними развиваются физико-химические методы фильтрации, осаждения флотации, электрокоагуляции и др., которые применяются для очистки стоков различных видов промышленности с извлечением из них полезных продуктов. Органические отходы в соответствии с источником подразделяются на бытовые, промышленные и сельскохозяйственные, а по физическому состоянию – на жидкие (сточные воды), полужидкие текучие (осадки сточных

вод и полужидкий навоз) и твёрдые (бытовой мусор, подстилочный навоз). Для характеристики отходов используются специальные определения:

Абсолютно сухая масса (АСМ) – для твёрдых или полужидких отходов (%), или **общие взвешенные вещества (ОВВ)** – для сточных вод (г/кг, мг/л) – масса сухих веществ в отходах, определённая при высушивании образца до постоянной массы при 110°C.

Летучие вещества (ЛВ) (г/кг, мг/л) – часть загрязнений, удаляемых сжиганием при 600-650°C, представлены в основном органическими веществами и включают микробную биомассу.

Зольность (г/кг, мг/л) – оставшаяся после сжигания часть – зола (минеральные соли). В сумме зольность и ЛВ дают АСМ.

Химическое потребление кислорода (ХПК) (мг/л) – количество кислородных эквивалентов, необходимое для полного химического окисления органических и неорганических загрязнений до CO₂.

Биологическое потребление кислорода (БПК) (мг/л) – количество кислородных эквивалентов, необходимое для окисления органических и неорганических загрязнений до CO₂ микроорганизмами активного ила при 25°C, за определённое время.

Обработка отходов подразумевает биологическое разложение органических соединений. В случае очистки сточных вод, содержащиеся в них загрязнения, должны быть полностью удалены. По существующим нормам содержания органических веществ в очищенной воде не должно превышать 10 мг/л.

Деградация органических веществ осуществляется микроорганизмами, как в анаэробных, так и аэробных условиях, с разными энергетическими балансами суммарных реакций.

При аэробном биоокислении глюкозы 59% энергии, содержащейся в ней, расходуется на прирост биомассы и 41% составляют тепловые потери.

При анаэробной деградации глюкозы с образованием метана лишь 8% энергии расходуется на прирост биомассы, 89% переходит в метан.

Аэробный процесс: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O +$ микробная биомасса + теплота.

Анаэробный процесс: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3CH_4 + 3CO_2 +$ микробная биомасса + теплота.

Аэробное микробное сообщество представлено разнообразными микроорганизмами, в основном бактериями, окисляющими различные органические вещества в большинстве случаев независимые друг от друга, хотя окисление некоторых веществ осуществляется путём соокисления.

А анаэробная деградация органических веществ осуществляется как многоступенчатый процесс, в котором необходимо участие 4 групп микроорганизмов:

- Гидролитиков
- Бродильщиков
- Ацетогенов
- Метаногенов

В анаэробном сообществе между микроорганизмами существуют тесные и сложные взаимосвязи.

Преимущество аэробного процесса состоит в высокой скорости и использовании веществ в низких концентрациях, недостаток – в образовании большого количества микробной биомассы.

Преимущество анаэробного процесса заключается в относительно незначительном образовании микробной биомассы, возможности обработки концентрированных стоков, а так же в образовании энергоносителя метана. К недостаткам следует отнести невозможности удаления органических загрязнений в низких концентрациях, и для глубокой очистки анаэробную обработку следует использовать в комбинации с последующей аэробной стадией.

Аэробная очистка сточных вод представляет интенсифицированную модель процессов, происходящих в природных водоёмах при попадании в них избытка органических соединений.

Важный природный фактор очистки поверхностных вод – фильтрация через почву и грунт, где микроорганизмами обрастают твёрдые поверхности. В условиях доступа кислорода преобладают аэробные микроорганизмы, в его отсутствие соответственно анаэробные.

Методы очистки вод:

Окислительные пруды (лагуны) и каналы представляют собой простейшие и наиболее дешёвые системы очистки бытовых сточных вод.

Микроорганизмы находятся во взвешенном состоянии и в осадке. Естественная фильтрация через песок и глину в грунтовые воды. Иногда естественного окисления загрязнений и фильтрации воды через почву и грунт используют ***низины (поля орошения, искусственные***

болота). Такая очистка может применяться в местах, где имеется слой глины, залегающий под фильтрационным слоем почвы и песка и предохраняющий грунтовые воды от загрязнения.

Разновидностью окислительных прудов и каналов являются водоёмы, заросшие тростником (камышом). Очищаемая вода медленно течёт через камышовые плавни. Через полые стебли растений кислород поступает в ризосферу, где развивается сложное микробное сообщество, представленное взвешенными и прикреплёнными к корням тростника аэробными и анаэробными микроорганизмами.

Для стабилизации навозных стоков, деградации легкоразлагаемых органических веществ используют длительное выдерживание навоза в *прудах-отстойниках* или закрытых навозо-хранилищах. (В верхней части осуществляется аэробная деградация, а в нижней - анаэробная)

Струйные биофильтры представляют собой ёмкости или наклонные каналы, заполненные пористым материалом (щебень, керамзит и т.п.). Вода поступает сверху, медленно струится между обросшим микробной биоплёнкой наполнителем и собирается внизу. В формировании биоплёнки важную роль играет выделяющая слизь *Joogloea gamigera* и близкие к ней виды.

Открытые окислительные каналы или резервуары, в которых установлены **вращающиеся диски**, изготовленные из синтетических материалов и наполовину погруженные в медленно протекающую воду. Диски обрастают микробной биоплёнкой. Наружний слой плёнки светлый с преобладанием аэробных микроорганизмов, внутренний слой --тёмный с анаэробными микроорганизмами.

Централизованные очистные сооружения в больших городах представляют собой крупные промышленные предприятия, от которых в большей степени зависит функционирование городского хозяйства.

Городские воды включают:

- 1) Бытовые – туалетные и куханные стоки;
- 2) Ливневые – дождевые и снеговые воды;
- 3) Промышленные – стоки различных предприятий.

Сточные воды, поступающие для очистки на станции аэрации российских городов, содержат от 200 до 400 мг/л загрязнений. Присутствует в водах до 10 /л микробных клеток. Доминируют *Pseudomonas Fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Zoogloea ramigera*.

Типовая схема аэробной очистки сточных вод **“процесс активированного ила”** включает 3 или 4 ступеньки:

- 1) Удаление твёрдых включений (механическая обработка, осаждение);
- 2) Биологическое окисление органических загрязнений (микробиологическая обработка, собственно процесс активированного ила);
- 3) Химическое или биологическое удаление неорганических загрязнений (доочистка);
- 4) Обеззараживание (хлорирование, озонирование).

“Процесс активированного ила” происходит в открытом бассейне, аэротенке, содержимое которого перемешивается и снабжается кислородом с помощью мешалок и воздуходувок разных конструкций. Загрязнения окисляются сложным микробным сообществом, при этом удаление органических загрязнений достигает 99% от первоначального.

Обработанная в аэротенке вода и активированный ил, состоящий в основном из микробной биомассы, разделяются в отстойнике, из которого вода направляется для сброса в принимающий водоём или на доочистку (удаление азота и фосфора).

Микробное сообщество активированного ила представлено *Zoogloea ramigera* и близкие виды *Leucothrix* и *Thiothrix*, *Paracoccus*, *Caulobacter*, *ritrobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*.

Типы органических отходов и методы их биологической обработки.

Табл. 1

Физическое состояние	Типы отходов	ХПК мг/л	Вид обработки	Преимущество
Жидкое (состояние воды)	Городские	200 – 500	Аэробная *	Глубокая очистка
	Промышленные	300 – 50000	То же Анаэробная **	То же отсутствие избыточного ила

	Навозные стоки при гидросмывной уборке	1000 – 3000	Аэробная Выдерживание в отстойниках Анаэробная	Очистка воды. Дешевизна, удобрение. Нет избыточного ила, удобрение.
Полужидкое (текущее)	Осадки сточных вод	4000 – 6000	Анаэробная	Метан, отсутствие запаха
	Навоз при самотечной уборке	2000 – 7000	То же	Метан, удобрения отсутствие запаха
			Выдерживание в отстойниках Компостирование с наполнением	Дешевизна, удобрение
Твердое	Твердые бытовые (ТБО)		удобрения	Метан
	Органическая часть ТБО		То же	Метан, удобрения
	Подстилочный навоз		Компостирование	Удобрения

		Анаэробная	Метан, удобрения
		Компостирован ие	Дешевое качественн ое удобрение

* Аэробные процесс активированного ила

** Анаэробные процесс – сбраживание с образованием метана

Биогеотехнология металлов.

Добыча полезных ископаемых лежит в основе самого существования человеческой цивилизации. Особое место здесь занимает проблема экологической безопасности освоения полезных ископаемых.

Загрязнение водной среды и почв ионами металлов или выбросы токсичных газов в атмосферу вызывают наибольшее истощение и деградацию естественных экосистем и представляют серьёзную угрозу здоровью человека.

Биогеотехнология металлов (биогидрометеллургия) – это наука об извлечении металлов из руд. концентратов, горных пород и растворов под воздействием микроорганизмов или их метаболитов при нормальном давлении и температуре от 5 до 80-90°C.

Русский учёный С.Н.Виноградский в конце XIX века впервые сформулировал концепцию метотрофии.

Его исследования стимулировали изучение роли микроорганизмов в круговороте серы и др. элементов в природе. В 1902 г крупнейший голландский микробиолог

М.Бейеринк выделил новый автотрофный микроорганизм *Thiobacillus thioparus*, окисляющий серу и ряд её восстановленных соединений при высоких значениях рН среды.

В 1921-1922 гг В.Рудольф и А.Хельброннер впервые провели исследования на рудниках, которые показали, что некоторые неидентифицированные сероокисляющие микроорганизмы способны окислять пирит и сульфиды цинка.

В это же время С.А.Ваксман и Дж.С.Джоффи выделили автотрофный ацидофильный микроорганизм *Thiobacillus thiooxidans* (ныне *Acidithiobacillus thiooxidans*) окисляющий серу и ряд её восстановленных соединений до серной кислоты. Первые доказательства биологического окисления закисного железа при низких рН были получены А.Р.Колмером и М.Хинклем в 1947 г. Они выделили чистую культуру бактерий *Thiobacillus Ferrooxidans* (ныне *Acidithiobacillus Ferrooxidans*), ответственных за окисление в шахтных водах.

Микроорганизмы важные для биогидрометаллургии.

Табл. 2

Микроорганизмы	Источник энергии	Оптимальные условия жизнедеятельности (приделы)
<p>Грамотрицательные бактерии:</p> <p><i>A. Ferrooxidans</i> <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> <i>A.thicoxidans</i> <i>A.caldus</i></p>	<p>Сульфидные минералы, $S^0(S^{2-}), Fe^{2+}$</p> <p>Fe^{2+} , FeS_2</p> <p>$S^0(S^{2-})$</p> <p>$S^0 (S^{2-})$</p>	<p>pH 1,7-2,0 (1,0-5,5); 30-35°C(2-40°); O_2</p> <p>pH 2,0-2,5(1,0-4,0); 30-45°C(2-50°C); O_2</p> <p>pH 2,0-2,5(0,5-6,0); 30°C (2-40°C); O_2</p> <p>pH 2,0-2,5(0,5-6,0) 45°C (30-52°C); O_2</p>
<p>Грамположительные бактерии:</p> <p><i>Sulfobacillus:</i> <i>S.thermosulfidooxidans;</i> <i>S.acidophilus</i></p>	<p>Fe^{2+} , $S^0 (S^{2-}),$ сульфидные минералы в присутствии органических веществ или без них в сообществе с хемолитотрофными бактериями</p>	<p>pH 1,7-2,4 (1,1-5,0) 48-50°C (20-60°C), O_2</p>
<p>Археи:</p> <p><i>Acidianus brieley:</i></p>	<p>Fe^{2+} , $S^0 (S^{2-}),$ сульфидные минералы в</p>	<p>pH 1,5-2,0; 70°C (45-75°C), O_2</p>

	присутствии дрожжевого автолизара	
Metallosphaera Sedula	То же	pH 1,0-4,5; 75°C (50-80°C); O ₂
Sulfolobus metallicus	Строгий автотроф S ⁰ , сульфидные минералы, Fe ²⁺	pH 1,0-4,5 (50-75°C); O ₂
Ferroplasma acidiphilum	FeS ₂ , Fe ²⁺	pH 1,7-1,8 (1,3-2,2); 35°C (15-45°C) O ₂

Механизм бактериального окисления Fe^{2+} , S^{2-} и S^0 и сульфидных минералов.

Хемолитотрофные бактерии окисляют неорганические субстраты и получают энергию в соответствии с хемоосмотической теорией П.Митчелла, а также по электрохимическим механизмам.

Бактериальное окисление субстратов включает следующие стадии:

- 1) Взаимодействие поверхностных структур бактерий с окисляемым субстратом (сорбция, адгезия);
- 2) Изменения физико-химических свойств окисляемых субстратов и их транспорт в клеточную стенку;
- 3) Окисление субстратов в поверхностных структурах клеток;
- 4) Транспорт электронов и протонов; образование мембранного потенциала
- 5) Синтез АТФ и образование воды на внутренней поверхности ЦПМ

Окисление Fe^{2+} грамотрицательным *A. ferrooxidans* связано с его транспортом в периплазматическое пространство клетки, в комплексе с липополисахаридами, и функционированием электротранспортной системы.

При переносе электронов на ЦПМ возникает трансмембранный электрохимический градиент ионов водорода, который обеспечивает синтез АТФ.

Окисление серы и сульфидных минералов – бактерии, будучи в контакте с субстратом, изменяют его физико-химические свойства. Элементарная сера растворяется в веществах липидной природы до коллоидного состояния и

поступает в периплазматическое пространство, где и окисляется. В основе окисления сульфидных минералов лежит

биоэлектрохимический процесс.

Сообщества бактерий:

A.thiooxidans *A.caldus* окисляют только элементарную серу и растворимые соединения (S^{2-}), а *L.ferrooxidans* – только Fe^{2+} и FeS_2 .

В бинарной культуре *L.ferrooxidans* *A.thiooxidans* при 30°C или *A.caldus* *L.ferrooxidans* при 45°C сульфидные минералы также окисляются.

Присутствие *L.ferrooxidans* в сообществе *A.ferrooxidans* *A.thiooxidans* ускорило окисление пиритного концентрата в 3,9 раза смешенная культура *A.ferrooxidans* *Acidiphilium sarratum* показала более высокую скорость десульфуризации угля.

Микроорганизмы как биосорбенты металлов:

Одна из важнейших проблем при получении металлов гидрометаллургическим путем – очистка промышленных сточных вод. Многие микроорганизмы способны либо сорбировать ионы металлов, либо их осаждать.

Сорбция и осаждение металлов микроорганизмов микроорганизмами:

Табл. 3

Микроорганизма и носители	Процесс осаждения металлов
---------------------------	----------------------------

Микроскопические грибы (биомасса), дрожжи, бактерии, водоросли.	Биосорбция: радиоактивные U, Ra и др. элементы – Al, Mo, Ag, Cu, Cd, Cr, Mn, Co, Ni, Zn, Hg, Pb, Au, Pt, Pd.
Хитин и хитозан	Сорбция Cl, Zn, Hf, Ru из вод циркулирующей в системе охлаждения ядерного реактора
Сульфат восстанавливающие бактерии	Осаждение металлов из растворов: $C_{орг} + SO_4^{2-} \xrightarrow{\text{бактерии}} S^{2-} + CO_2$; $S^{2-} + Me > MeS$
Хромвосстанавливающие бактерии	Восстановление металлов: $Cr^{6+} > Cr^{3+}$

Метод осаждения металлов заключается в том, что сульфатредуцирующие бактерии образуют H_2S , который осаждает металлы из растворов практически полностью.

Исследования показали, что с помощью микроорганизмов извлекается из разбавленных растворов до 100% Pb, Hg, Zn, Cu, Ni, Co, Mn, Cr, и т.д.

Микроскопические грибы позволяют извлечь из растворов аффинажа золота и серебра до 98 – 96% Au и Ag, до 84% Pt и 92% Pd. С помощью бактерий (смешанная культура) из стоков в анаэробных условиях было удалено 81% U и 93% Se. для биосорбции металлов из растворов также эффективны водоросли, а для очистки растворов от радиоактивных элементов Cu и Cd – бактериальные полисахариды.

Для микроскопических грибов особую роль в сорбции металлов играют хитин и получаемый из него хитозан, поэтому их препараты можно использовать для извлечения металлов.

IV. Санитарные показатели продуктов питания г.Брянска

IV. Методика работы

Исследование кураги.

Для исследования берут 50г кураги, помещают в 100 мл воды и оставляют на 1 минуту. Полученный раствор отфильтровывают и делают посев: 1 мл вносят чашку Петри с питательной средой.

Чашки заранее стерилизуют, заливают 15 мл расплавленного до 45° мяско-пентонного агара; хорошенько размешивают, вращая чашку на столе кругообразными движениями, дают агару застыть, потом делают посеваы.

Посеваы в чашках ставят в термостат $t=37^{\circ}\text{C}$.

Исследование грецких орехов (очищенных)

Питательная среда готовится аналогично. Для исследования берут 50 г грецких орехов, помещают в 100 мл воды и оставляют на 1 минуту. Полученный раствор отфильтровывают и делают посев: 1 мл на чашку Петри с питательной средой.

Посеваы помещают в термостат $t=37^{\circ}\text{C}$.

Исследование арахиса в кокосовом соке (в вакуумной упаковке)

Питательная среда готовится аналогично. Для исследования берут 50 г арахиса, помещают его в 100 мл воды, оставляют на 1 минуту, фильтруют и делают посев: 1 мл на чашку Петри.

Посеваы ставят в термостат $t=37^{\circ}\text{C}$.

Определение количества клеток микроорганизмов.

Подсчет клеток на фиксированных окрашенных мазках (метод Виноградского-Брида). Преимущество этого метода: фиксированные окрашенные препараты хорошо сохраняются, поэтому подсчет можно проводить не по ходу опыта, а в другое, удобное для исследователя время. Подсчет проводят с использованием объектива 90х.

Приготовление препарата: хорошо обезжиренное чистое предметное стекло помещают на миллиметровую бумагу. Затем на стекло наносят определенный объем суспензии (0,02-0,05 мл.) из микропипетки. Петлёй или краем покровного стекла суспензию равномерно распределяют по площади, отмеченной на миллиметровой бумаге.

Препарат подсушивают на воздухе, фиксируют в течение 10-20 мин. 96% спиртом, для чего опускают стекло в стаканчик со спиртом. Затем вынимают и окрашивают в продолжении 1-2 мин. Фуксином или генцианвионом. Краску сливают, препарат промывают, последовательно погружая стекло в 4-5 стаканов с водой.

Препарат высушивают на воздухе.

Подсчет количества клеток проводят в квадратах окулярной сетки, которую помещают в окуляр между собирающей и глазной линзами, передвигая поле зрения по диагонали мазка. При отсутствии сетки можно учитывать число клеток в поле зрения микроскопа. Чтобы результат был достоверным, подсчет числа клеток микроорганизмов рекомендуется проводить не менее чем на трёх стеклах. Общее количество подсчитанных клеток микроорганизмов не должно быть менее 600.

Количество клеток микроорганизмов, содержащихся в 1мл.
исходной суспензии, вычисляют по формуле $M=$

V. Результаты исследования

Общий подсчет колоний при исследовании *кураги* составляет 18 колоний по всей чашке Петри.

При микроскопировании обнаруживаются круглые, складчатые, концентрические, круглые с валиком по краю колонии; род *Bacillus*, дрожжи *Hansenula*, дрожжи *Saccharomyces*.

Число колоний при исследовании *грецких орехов (очищенных)* составляет 42 колонии. При микроскопировании обнаруживаются обширные колонии мукора, ризоидные и двездчаторасплывчатые колонии; *Bacillus mycoides* – грибовидная папочка; род аспергии; уитевидные колонии, род пенициллиум, род *Streptoverticillium*, колония круглая с валиком по краю, *Bacillus mycoides*, *B. megaterium*.

При исследовании *арахиса в кокосовом соке* в вакуумной упаковке обнаружено 70 колоний. При микроскопировании найдены колонии: круглая с фестонгатыми краем, круглая с валиком по краю, складчатая, мукора, аспергилла; ризоидная колонии – *Cellvibrio ochraceae*, *Bacillum mesentericus*, род *Catellatospora*, род *Oerkovia*.

VI. Выводы:

- 1) Для наших исследований мы выбрали методики под редакцией А.Л.Звягинцевой
- 2) Нами была проведена подробная характеристика систематики, экологии бактериальной флоры и фауны
- 3) Нами обнаружены и описаны колонии бактерий следующего типа: круглые, складчатые, концентрические, круглые с валиком по краю.
- 4) Мы обнаружили следующие виды микроорганизмов: *Bacillus__muscoides*, аспергиллы, мукор, дрожжи *Saccharomyces*, *Bacillum_mesentericus*, *Catellatospora*, *Oerkovig* пенициллиум, *Streptoverticillium*.