

## ПОГЛОЩЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ БЕНТОНИТОМ В ПРИСУТСТВИИ БАКТЕРИЙ

© 2019 г. Л. В. Переломов<sup>а,\*</sup>, О. И. Сизова<sup>б,\*\*</sup>, Ю. М. Агрошенко<sup>а,\*\*\*</sup>

<sup>а</sup> Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого  
Россия, 300026 Тула, просп. Ленина, 125

<sup>б</sup> ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН  
Россия, 142290 Московская область, Пущино, просп. Науки, 5  
e-mail: \*perelomov@rambler.ru; \*\*osizova@rambler.ru; \*\*\*reaktiv@tspu.ru

Поступила в редакцию 05.07.2017 г.

После доработки 22.03.2018 г.

Принята к публикации 17.04.2018 г.

Изучено поглощение свинца и меди кальциевым бентонитом, живыми и разрушенными клетками грамположительных бактерий *Bacillus subtilis*, а также в системах, включающих минеральный и один из биотических компонентов в диапазоне концентраций элементов 25–250 мкМ. Показано влияние кислотности на биосорбцию изучаемых микроэлементов. Максимальная биосорбция свинца и меди наблюдалась при pH 6 – 0.72 и 0.52 мМ/г сухого вещества соответственно. Биосорбция разрушенными клетками также была максимальной при pH 6 – 0.81 мМ/г (Pb) и 0.71 мМ/г (Cu). Аккумулирование микроэлементов живыми и разрушенными клетками на порядок и более превышал их поглощение кальциевым бентонитом. В трехкомпонентных биокосных системах, включающих бентонит и клетки бактерий или бентонит и обломки клеток, происходило увеличение поглощения свинца и меди по сравнению с бентонитом. При этом поглощение смесью бентонита и обломков клеток было ниже, чем аддитивно рассчитанное аккумулирование микроэлементов индивидуальными компонентами как для свинца, так и для меди при всех изученных концентрациях. Аналогичная закономерность наблюдалась для системы из живых клеток и бентонита для меди и живых клеток и бентонита для свинца при его низком содержании в сорбционном растворе.

**Ключевые слова:** микроэлементы, бактерии, глинистые минералы, адсорбция, биосорбция, кислотность

**DOI:** 10.31857/S0016-7525643273-281

### ВВЕДЕНИЕ

Биогеохимические циклы микроэлементов в природных и антропогенных биокосных системах (почвах, грунтах, илах, биофильмах и др.) определяются составом и свойствами отдельных минеральных, органических и биотических компонентов таких систем, а также сложными взаимодействиями между ними.

Высокая скорость размножения (деление каждые 20–30 мин) и большое соотношение площади поверхности клеток к их объему делает микроорганизмы определяющими участниками биогеохимических циклов элементов (Добровольский, 2001). Основными процессами взаимодействия микроорганизмов с микроэлементами, имеющими биогеохимическое значение являются:

– биосорбция и биоаккумуляция;

– биотрансформация соединений;

– секреция микроорганизмами органических и неорганических метаболитов, изменяющих подвижность элементов;

– разложение микроорганизмами комплексных соединений микроэлементов и органических соединений;

– модификация микроорганизмами и их метаболитами минеральных и органических компонентов и изменение физико-химических условий, изменяющих формы нахождения, подвижность и биологическую доступность микроэлементов в биокосных системах (Tabak et al., 2005; Переломов и др., 2013; Переломов, Чулин, 2014).

Под биосорбцией понимают связывание металлов на поверхности бактериальных клеток, которое происходит в основном по механизмам

ионного обмена, хелатообразования и адсорбции (White et al., 1995). Протекание биосорбционных процессов определяются как поверхностными свойствами клеточных оболочек (заряд, количество и ориентация металл-связывающих центров), так и формами химических соединений металлов в жидкой фазе. Грамположительные бактерии имеют большую сорбционную емкость, благодаря толстому пептидогликановому слою их клеточной оболочки, содержащему большое количество функциональных групп (Beveridge 1989; Beveridge et al., 1997). Кривые титрования бактерий, дрожжей и грибов, так же как и изолированных клеточных стенок бактерий и бактериальных полимерных соединений, — в основном ровные, без резких перегибов, что показывает наличие множества различных лигандов на их поверхности (Chen et al., 1995; Weppen, Hornburg, 1995).

Глинистые минералы являются основополагающими компонентами большинства биокосных систем, в первую очередь — почв, и в значительной степени контролируют подвижность и биологическую доступность соединений элементов в наземных экосистемах.

Сорбционная емкость глинистых минералов определяется их структурой и дисперсностью. У трехслойных минералов с расширяющейся кристаллической решеткой она больше, чем у двухслойных (Глазовская, 1997).

Причинами, обуславливающими способность глинистых минералов к катионному обмену, могут являться:

1 — плоские дефекты кристаллических структур — нарушение связей на краях алюмокремниевых групп, вызывающее увеличение числа некомпенсированных зарядов, которые уравновешиваются адсорбированными катионами;

2 — точечные и линейные дефекты кристаллов (дислокации); примером точечного дефекта являются замещения внутри структуры четырехвалентного кремния в тетраэдрических слоях алюминием и трехвалентного алюминия в октаэдрических слоях катионами низшей валентности, обычно магнием, вызывающие появление некомпенсированных отрицательных зарядов в структурной ячейке некоторых глинистых минералов;

3 — замещение обменного водорода на поверхности минерала на катионы (Переломов и др., 2017).

Сорбционные свойства глинистых минералов не могут быть обусловлены только одной из рассматриваемых причин, они являются следствием всех трех, с большим или меньшим преобладанием одной из них, однако основной вклад в формирование сорбционной емкости глинистых минералов вносит нарушение связей кристаллической решетки.

Особенности кристаллохимического строения бентонита, относящегося к трехслойным минералам, обуславливают наличие на его поверхности большого количества ионообменных катионов, достаточно сильно влияющих на физико-химические свойства минерала. Его трехслойный пакет имеет отрицательный заряд, обусловленный замещением трехвалентных элементов (Al, Fe) в октаэдрическом слое на двухвалентные элементы (Mg, Fe) или четырехвалентного Si на трехвалентный Al в тетраэдрическом слое. Благодаря отрицательному заряду, на поверхности пакета располагаются положительные одно-, двух- и трехвалентные катионы (Na, K, Ca, Mg и Fe), которые способны замещаться катионами микроэлементов.

Однако в реальных биокосных системах поведение микроэлементов определяется не столько отдельными компонентами этих систем, сколько продуктами их взаимодействия. Это могут быть как агрегаты, возникающие в результате их прямого физического взаимодействия, так и химически или биологически модифицированные поверхности этих компонентов.

Так, микроорганизмы оказывают значительное влияние на минералы, модифицируя их поверхность, участвуя в агрегации, выветривании или, наоборот, внося вклад в осаждение и формирование новых минералов (Konhauser, Urrutia, 1999). В свою очередь минералы могут оказывать влияние на микробиологическую активность, причем как напрямую, так и опосредованно (Stotzky, 1986). Прямое воздействие сводится к непосредственному физическому взаимодействию поверхностей минералов и микроорганизмов. Опосредованное воздействие заключается в изменении минералами микро среды обитания микроорганизмов, например в адсорбции микробных метаболитов и загрязнителей (Переломов и др., 2013), которые могут негативно влиять на жизнедеятельность микробиоты, а также в поддержании минералами оптимального уровня кислотности, влажности, питательных веществ и т.д. (Novitzky, 1986; van Loosdrecht et al., 1990).

В данной работе мы изучили влияние живых и разрушенных клеток микроорганизмов на поглощение свинца и меди бентонитом при определенных условиях эксперимента.

### МЕТОДИКА

Для эксперимента был использован кальциевый бентонит из месторождения на территории Баварии, ФРГ (Usman et al., 2004). Содержание в бентоните монтмориллонита около 70%. Химический (оксидный) состав представлен  $\text{SiO}_2$  – 48.5%,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  – 18.1%,  $\text{TiO}_2$  – 0.24,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  – 6.0%,  $\text{MgO}$  – 4.9%,  $\text{CaO}$  – 4.3%,  $\text{Na}_2\text{O}$  – 4.0%,  $\text{K}_2\text{O}$  – 1.7%,  $\text{MnO}_2$  – 0.05%. Показатель адсорбции и емкость катионного обмена, определенные по адсорбции метиленового голубого согласно ГОСТ 21283-93, составили 340 мг/г и 106 мг-экв/100 г соответственно; pH водной вытяжки – 10.2.

В качестве микробной биомассы был выбран штамм распространенных грамположительных бактерий *Bacillus subtilis*. Для получения биомассы микроорганизмов использовалась жидкая питательная Литическая среда (LB среда), содержащая 10 г бактотриптона, 5 г дрожжевого экстракта, 5 г NaCl, растворенных в 1 л деионизованной воды. Окончательная величина pH LB среды была доведена до 7 с помощью 5М NaOH и стерилизована автоклавированием. После заражения LB среды в конических колбах бактерии культивировались в течение ночи при 37°C на качалке. По окончании культивирования клетки осаждали центрифугированием при 6000 оборотах в минуту в течение 10 минут и питательная среда декантирована. Затем клетки трижды промывали стерильным физиологическим раствором с последующим центрифугированием. Полученный в результате осадок клеток был суспендирован в 0.02 М  $\text{KNO}_3$  (pH 5) для сорбционных экспериментов. Оптическая плотность бактериальных суспензий была определена фотометрически (Методы общей бактериологии, 1983) на спектрофотометре Shimadzu UV-160 A (Япония). Для контроля концентраций клеток на разных этапах эксперимента были проведены контрольные высевы бактерий на агаризированной среде для точного определения КОЕ (колониеобразующей единицы) микроорганизмов. Разрушение бактериальных клеток проводили ультразвуком в течение 5 циклов по 30 секунд при частоте 50 кГц (с перерывом в одну минуту).

Для расчета биомассы бактерий на основе оптической плотности была использована формула (Методы общей бактериологии, 1983):

$$W = 9929(1 - \sqrt{0.07347A_{660}}),$$

где  $W$  – биомасса микроорганизмов (микрограмм на миллилитр),  $A_{660}$  – оптическая плотность бактериальной суспензии при длине волны 660 нм.

В ходе эксперимента была изучена адсорбция меди и свинца, взятых в форме нитратов кальциевым бентонитом, бентонитом в присутствии живых клеток бактерий *Bacillus subtilis*, бентонитом в присутствии остатков микроорганизмов, полученных после автоклавирования, а также биосорбция указанных микроэлементов живыми и разрушенными клетками. Концентрация исходных растворов  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  и  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  для эксперимента составляла 1 мМ. Соответствующие количества исходных растворов были добавлены в экспериментальные сосуды с суспензией бактерий с известной оптической плотностью для получения растворов с концентрацией 25, 50, 100, 150, 200 и 250 мкМ. Эксперимент по биосорбции проводился при pH сорбционного раствора 4, 5 и 6. Величина pH раствора была доведена до требующихся величин добавлением микроколичеств концентрированных KOH или  $\text{HNO}_3$ . Эксперименты в присутствии бентонита выполнены при соотношении твердая фаза : жидкая фаза равно 1 : 200 (0,1 г минерала : 20 мл экспериментального раствора), постоянной ионной силе раствора (в среде 0.02 М  $\text{KNO}_3$ ) и pH = 5.0.

Суспензии интенсивно встряхивали в течение 3 часов на электрических качалках со средней скоростью. По окончании эксперимента жидкую и твердую фазы разделяли центрифугированием при 10 000 оборотах в минуту в течение 15 минут. Количество адсорбированных металлов рассчитывали как разность между их содержанием в исходном и равновесном растворах. Определение концентраций металлов производили методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии с пламенной (Cu) и электротермической (Pb) атомизацией проб.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### Биосорбция Pb и Cu живыми и разрушенными клетками *Bacillus subtilis* при различных pH

Beveridge и Murray (1980) предложили для *Bacillus subtilis* двухступенчатый механизм взаимодействия катионов микроэлементов с поверхностью бактериальных клеток. На первой ступени происходит электростатическое взаи-

модействие ионов металлов с функциональными группами на поверхности клеточной оболочки. На втором этапе присоединенные металлы выступают в качестве точек дальнейшего осаждения элементов и инициации роста агрегатов. При кратковременном взаимодействии и низких концентрациях микроэлементов в растворе реализуется преимущественно только первый сценарий.

Кислотность среды является одним из основных факторов, определяющих биосорбцию элементов (Переломов и др., 2013). Предполагая сходство между минеральными и биологическими поверхностями, можно утверждать, что с увеличением pH происходит депротонизация функциональных групп клеточных оболочек, что способствует связыванию катионов и проявляется в общей тенденции увеличения адсорбции с ростом pH. Для большинства поверхностей бактериальных клеток изоэлектрические точки (смена суммарного положительного заряда на отрицательный) находятся в интервале между

pH 2 и pH 4 (Beveridge, Koval, 1981). Таким образом, в условиях нашего эксперимента поверхность как бентонита, так и живых клеток и их обломков были заряжены отрицательно и обеспечивали электростатическое взаимодействие с катионами металлов.

Биосорбция зависит от возраста клеток, а также от того, живые клетки или мертвые. Емкость биосорбции мертвых клеток может быть больше, равной или меньше, чем живых клеток (Переломов, 2013). Способ обработки биомассы при получении мертвых клеток также имеет большое значение для биосорбции (Brady, Tobin, 1994). В связи с различными условиями проводимых экспериментов литературные данные о величинах биосорбции значительно различаются.

Полученные нами данные о биосорбции катионов свинца и меди живыми и разрушенными бактериальными клетками при различных значениях pH, отражены на рис. 1 и 2.

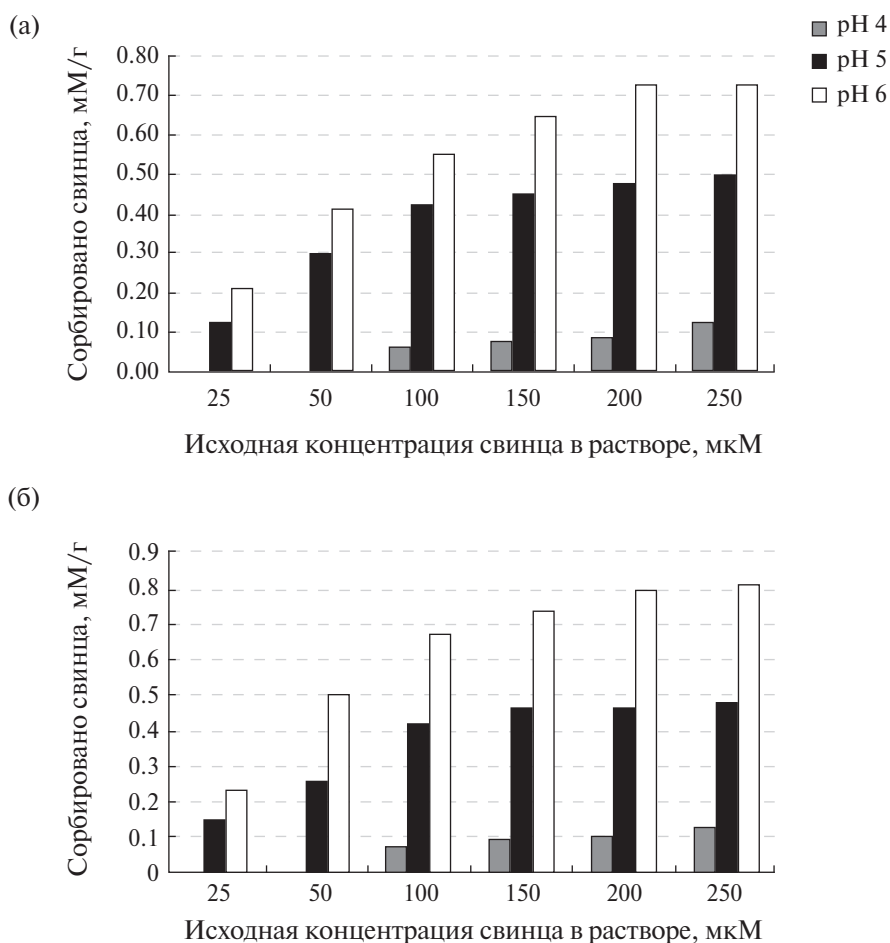


Рис. 1. Биосорбция Pb живыми (а) и разрушенными клетками (б) при pH 4–6 (мМ/г сухой биомассы).



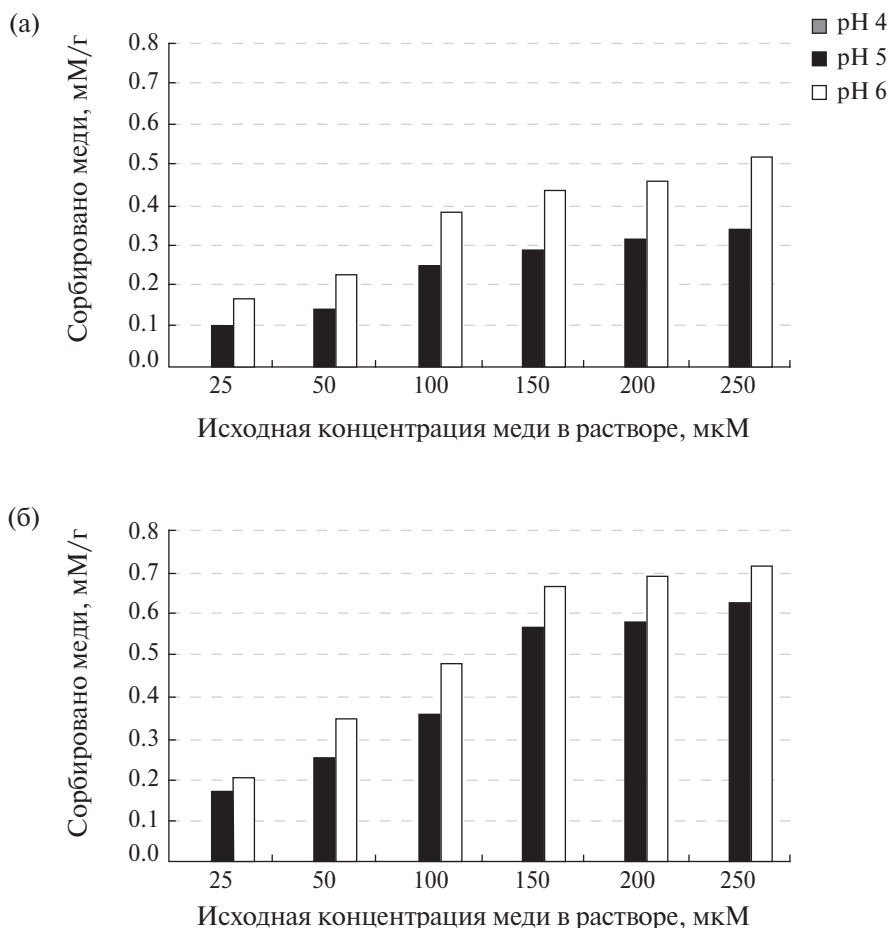


Рис. 2. Биосорбция Cu живыми (а) и разрушенными клетками (б) при pH 4–6 (мМ/г сухой биомассы).

При pH 4 сорбционного раствора мы не наблюдали биосорбции меди живыми и разрушенными клетками, а биосорбция свинца происходила при внесении доз элемента 100 мкМ и выше. Очевидно, в данных условиях кислая среда не позволяла катионам микроэлементов конкурировать с протонами за сорбционные центры. Максимальная биосорбция свинца живыми клетками достигала 0.5 мМ/г при pH 5 и 0.72 мМ/г при pH 6 (рис. 1а). При pH 4 и pH 5 поглощение свинца живыми и разрушенными клетками практически не различалось, но при pH 6 биосорбция элемента обломками клеток превосходила их поглощение живыми клетками и достигала при максимальных концентрациях свинца в растворе 0.81 мМ/г (рис. 1б). Факты большей сорбционной емкости мертвых клеток подтверждаются литературными данными (Li et al., 2010; Huang et al., 2013 и др.). Очевидно, что при разрушении клеток в сорбционный процесс включаются как внутренние части клеточных оболочек, так и некоторые внутриклеточные структуры. За счет этого происходит увеличе-

ние количества и разнообразия функциональных групп и сорбционных центров, задействованных в поглощении микроэлементов (Fu, Viraraghavan, 2002; Li et al., 2010).

Биосорбция меди живыми клетками при максимальном внесении элемента в раствор была ниже, чем биосорбция свинца и достигала 0.34 при pH 5 и 0.52 мМ/г при pH 6. Биосорбция разрушенными клетками превышает поглощение меди живыми клетками при pH 5 и pH 6 во всем диапазоне вносимых концентраций элемента и достигала максимума — 0.71 мМ/г при pH 6 и наибольшей концентрации элемента в растворе.

#### Поглощение свинца и меди бентонитом и бентонитом в присутствии живых и разрушенных клеток

Поглощение свинца и меди кальциевым бентонитом в диапазоне концентраций 25–250 мкМ при pH 5 изображено на рис. 3. Сравнение величин адсорбции Pb и Cu бентонитом, а также

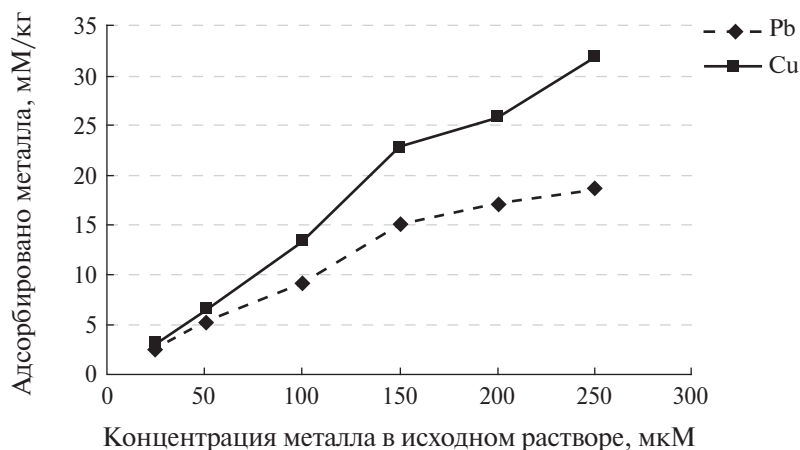


Рис. 3. Поглощение Pb и Cu кальциевым бентонитом при pH 5 (мМ/кг).

живыми и разрушенными клетками (рис. 1 и 2) свидетельствует о том, что биологический материал является более эффективным сорбентом (на порядок и более). Поглощение микроэлементов снижается в ряду:

Pb: живые клетки > обломки клеток > бентонит

Cu: обломки клеток > живые клетки > бентонит.

Результаты нашего эксперимента подтверждаются литературными данными. Так, сравнительное изучение поглощения Cd различными почвенными компонентами, в том числе бактериями, и их смесями, проведенное Kurek с соавторами (1982), показало, что микроорганизмы обладают максимальной удельной емкостью поглощения элемента. Бактерии поглощали наибольшее количество Cd и в другом исследовании Kurek с соавторами (1996), где сравнивалась иммобилизация Cd такими почвенными компонентами, как монтмориллонит, гуминовые кислоты, живые и мертвые клетки *Arthrobacter sp.*, выделенные из почвы.

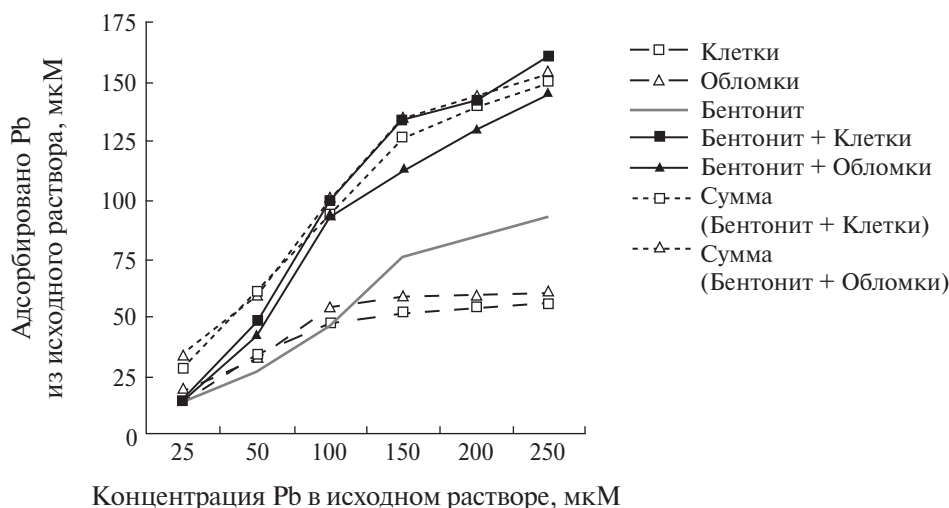
Специальные многокомпонентные системы (Partitioning in Geobiochemical Systems, PIGS) были использованы для сравнения поглощения металлов различными почвенными компонентами: бактериями, грибами, торфом, глинами и оксидом алюминия в присутствии и отсутствии фульвокислот (Ledin et al., 1996). Результаты показали, что даже тогда, когда микроорганизмы присутствовали в небольших количествах в составе твердой фазы, они вносили значительный вклад в поглощение металлов.

Calmano с соавторами (1988) в специальном многокамерном устройстве, камеры которого были разделены друг от друга фильтрами, изучили сорбцию и десорбцию металлов различными

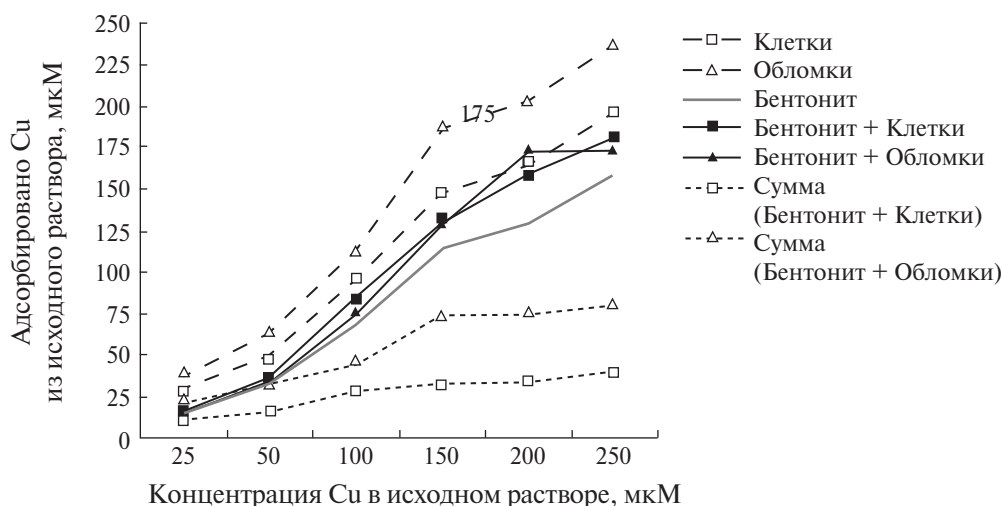
компонентами седиментов. В этой системе было проанализировано конкурентное поглощение Cu, Cd и Zn между клеточными стенками водоросли *Scenedesmus quadricauda*, бентонитом, оксидом алюминия, оксидом марганца, кварцем и гетитом. Количество указанных компонентов моделировало усредненный состав седиментов. Исследования показали, что наибольшим средством к кадмию обладают клеточные стенки водоросли. После некоторого времени в систему добавили соль для моделирования условий морской воды. При этом кадмий был ремобилизован из всех компонентов седиментов. Аналогичное поведение наблюдалось и для цинка, за исключением варианта с бентонитом. Медь была прочно связана бентонитом и также не десорбировалась с поверхности клеточных стенок.

Мы исследовали поглощение свинца и меди бентонитом также в присутствии живых и разрушенных клеток бактерий при исходной величине pH 5 сорбционного раствора (рис. 4, 5). Для изучения аддитивности поглощения микроэлементов в данной биоминеральной системе мы просуммировали поглощение микроэлементов отдельными компонентами — минералом и клетками, а также минералом и обломками клеток на основе ранее полученных данных. При расчетах биосорбция отдельными клетками и их обломками и биосорбция клетками и обломками в присутствии бентонита были выровнены на основе показателей оптической плотности и их пересчета на биомассу.

Установлено, что в присутствии живых и разрушенных клеток микроорганизмов поглощение микроэлементов из сорбционного раствора значительно возрастает. Для свинца максимальной поглощение наблюдается в системе, состоящей



**Рис. 4.** Поглощение Pb из исходного раствора отдельными компонентами, смесями и расчетное поглощение (как сумма поглощения отдельными компонентами) (мкМ).



**Рис. 5.** Поглощение Cu из исходного раствора отдельными компонентами, смесями и расчетное поглощение (как сумма поглощения отдельными компонентами) (мкМ).

из бентонита и живых клеток (рис. 4). При концентрациях раствора 25–100 мкМ значения поглощения в присутствии клеток и их обломков близки, но при более высоких концентрациях аккумуляция в присутствии клеток существенно больше. Это происходит, несмотря на тенденцию к большему поглощению свинца мертвыми микроорганизмами по сравнению с живыми при концентрациях 100–250 мкМ. При этом расчетная суммарная сорбция бентонитом и клетками и бентонитом и обломками несколько выше реального поглощения их смесью при низких концентрациях элемента. В диапазоне концентраций 100–250 мкМ расчетное суммарное поглощение мертвыми клетками и бентони-

том больше реального, а расчетное поглощение бентонитом и клетками даже несколько ниже экспериментального, что может быть результатом формирования новых сорбционных центров под воздействием живых клеток (рис. 4).

Поглощение меди в присутствии живых и разрушенных клеток бактерий по сравнению с одним бентонитом увеличивалось при концентрациях выше 50 мкМ (рис. 5) и росло с увеличением концентрации элемента в растворе. Эффект живых клеток и их обломков на поглощение микроэлемента был практически одинаков. Однако расчетное суммарное поглощение меди бентонитом и биологическим материалом, в целом, превосходило экс-

периментальные данные как для живых клеток (в меньшей степени), так и для обломков клеток (в большей степени). Такое снижение поглощения меди можно объяснить взаимодействием клеток и органического материала с бентонитом и маскировкой или нейтрализацией в результате этого сорбционных позиций. Максимальная модификация поверхности бентонита происходила под воздействием органического вещества разрушенных клеток (рис. 5). Walker с соавторами (1989) были получены аналогичные результаты для широкого спектра катионов микроэлементов. В их экспериментах емкость поглощения органо-минеральными системами составляла 20–90% от количества аддитивно рассчитанного поглощения металлов индивидуальными компонентами. Маскировка сорбционных центров органическими остатками бактерий была подтверждена авторами методами трансмиссионной электронной микроскопии и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные нами исследования подтверждают, что микроорганизмы являются активными участниками биогеохимических циклов микроэлементов за счет их биосорбции. Кислотность раствора является ключевым фактором в процессе биосорбции поскольку определяет заряд на поверхности клеток микроорганизмов при их электростатическом взаимодействии с катионами микроэлементов. С ростом pH с 4 до 6 объем поглощенных микроэлементов увеличивается.

В трехкомпонентных биокосных системах, включающих бентонит и клетки бактерий или бентонит и обломки клеток, происходит увеличение поглощения изученных микроэлементов по сравнению с бентонитом. При этом поглощение смесью бентонита и обломков клеток было ниже, чем аддитивно рассчитанное аккумулялирование микроэлементов индивидуальными компонентами как для свинца, так и для меди при всех изученных концентрациях. Аналогичная закономерность наблюдалась для системы из живых клеток и бентонита для меди и живых клеток и бентонита для свинца при его низком содержании в сорбционном растворе.

### Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-04-00274).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Глазовская М.А. (1997) Методологические основы оценки эколого-геохимической устойчивости почв к техногенным воздействиям. М.: Изд-во МГУ, 102 с.
- Добровольский В.В. (2001) География почв с основами почвоведения. М.: Гуманитарный изд. центр "ВЛАДОС", 384 с.
- Методы общей бактериологии. Том 1. Под редакцией Ф. Герхарда и др. М.: Мир, 536 с.
- Переломов Л.В., Переломова И.В., Пинский Д.Л. (2013) Молекулярные механизмы взаимодействия между микроэлементами и микроорганизмами в биокосных системах (биосорбция и биоаккумуляция). *Агрохимия* (3), 80–94.
- Переломов Л.В., Чулин А.Н. (2014) Молекулярные механизмы взаимодействия микроорганизмов и микроэлементов в окружающей среде. Прямая биологическая трансформация соединений микроэлементов. *Успехи современной биологии* 134(6), 452–470.
- Переломов Л.В., Чилачава К.Б., Швыкин А.Ю., Атрошенко Ю.М. (2017) Влияние органических веществ гумуса на поглощение тяжелых металлов глинистыми минералами. *Агрохимия* (2), 99–107.
- Beveridge T. (1989) Interactions of metal ions with components of bacterial cellwalls and their biomineralization. In *Metal-Microbe Interactions*. Spec. Publ. Soc. Gen. Microbiol. 65–83.
- Beveridge T. J. and Koval S. F. (1981) Binding of Metals to Cell Envelopes of *Escherichia coli* K-12. *Appl. Environ. Microbiol.* 42(2), 325–335.
- Beveridge T., Murray R. (1980) Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 141(2), 876–887.
- Beveridge T.J., Pouwels P.H., Sara M., Kotiranta A., Lounatmaa K., Kari K., Kerosuo E., Haapasalo M., Egelseer E.M., Schocher I., Sleytr U.B., Morelli L., Callegari M.L., Nommellini J.F., Bingle W.H., Smit J., Leibovitz E., Lemaire M., Miras L., Salamiou S., Beguin P., Ohayon H., Gounon P., Matuschek M., Koval S.F. (1997) Function of S-layers. *FEMS Microbiol. Rev.* 20(1–2), 99–149.
- Brady J., Tobin J. (1994) Adsorption of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass: characterization studies. *Enzyme Microb. Technol.* 16(8), 671–675.
- Calmano W., Ahlf W., Forstner U. (1988) Study of metal sorption/desorption processes on competing sediment components with a multichamber device. *Environ. Geol. Water Sci.* 11(1), 77–84.
- Chen J.H., Lion L., Ghiorse W., Shuler M. (1995) Mobilization of adsorbed cadmium and lead in aquifer material by bacterial extracellular polymers. *Water Res.* 29(2), 421–430.
- Fu Y., Viraraghavan T. (2002) Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*. *J. Adv. Environ Res.* 7(1), 239–247.
- Huang F., Dang Z., Guo C.L., Lu G.N., Gu R.R., Liu H.J., Zhang H. (2013) Biosorption of Cd(II) by live and dead cells



of *Bacillus cereus* RC-1 isolated from cadmium-contaminated soil. *Colloids Surf B Biointerfaces* **107**, 11–18.

Konhauser K.O., Urrutia M.M. (1999) Bacterial clay authigenesis: a common biogeochemical process. *Chem. Geol.* **161**, 399–413.

Kurek E., Czaban J., Bollag J.M. (1982) Sorption of cadmium by microorganisms in competition with other soil constituents. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**(5), 1011–1015.

Kurek E., Kaczorowska R., Nadulska I., Ochal M., Puacz E., Patkowska E. (1996) Retention of Cd by soil constituents under different environmental conditions. *Chemosphere* **33**(2), 277–284.

Ledin M., Krantz-Rulcker C., Allard B. (1996) Zn, Cd and Hg accumulation by microorganisms, organic and inorganic soil components in multi-compartment systems. *Soil Biol. Biochem.* **28**(6), 791–799.

Li H., Lin Y., Guan W., Chang J., Xu L., Guo J., Wei G. (2010) Biosorption of Zn(II) by live and dead cells of *Streptomyces ciscaucasicus* strain CCNWHX 72-14. *J. Hazard. Mater.* **179**, 151–159.

Stotzky G. (1986) Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses. In *Interactions of soil minerals with natural organics and microbes* (Eds. Huang P.M., Schnitzer M.). SSSA Special Publication 17, Soil Science Society of America, Madison, WI, 305–428.

Tabak H.H., Lens P., van Hullebusch E.D., Dejonghe W. (2005) Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides – 1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Rev. Environ. Sci. Bio. Technol.* **4**(3), 115–156.

Usman R.A., Kuzyakov Y., Stahr K. (2004) Effect of clay minerals on extractability of heavy metals and sewage sludge mineralization in soil. *Chem. Ecol.* **20**(2), 123–135.

van Loosdrecht M.C.M., Lyklema J., Norde W., and Zehnder A.J.B. (1990) Influence of Interfaces on Microbial Activity. *Microbiol. Rev.* **54**(1), 75–87.

Walker S.G., Flemming C.A., Ferris F. G., Beveridge T.J., Bailey G.W. (1989) Physicochemical interaction of *Escherichia coli* cell envelopes and *Bacillus subtilis* cell walls with two clays and ability of the composite to immobilize heavy metals from solution. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**(11), 2976–2984.

Weppen P., Hornburg A. (1995) Calorimetric studies on interactions of divalent cations and microorganisms or microbial envelopes. *Thermochim. Acta.* **269/270**, 393–404.

White C., Wilkinson S.C., Gadd G.M. (1995) The role of microorganisms in biosorption of toxic metals and radionuclides. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **35**(1–3), 17–40.

## TRACE ELEMENTS SORPTION BY BENTONITE IN THE PRESENCE OF BACTERIA

L. V. Perelomov<sup>a,\*</sup>, O. I. Sizova<sup>b,\*\*</sup>, Yu. M. Atroshchenko<sup>a,\*\*\*</sup>

<sup>a</sup> Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University, Lenin Avenue, 125, Tula, 300025, Russia

<sup>b</sup> Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms (IBPM RAS), Prospect Nauki, 5, Puschino, Moscow region, 142290, Russia

e-mail: \*perelomov@rambler.ru; \*\*osizova@rambler.ru; \*\*\*reaktiv@tspu.ru

Received: 05.07.2017

Received version received: 22.03.2018

Accepted: 17.04.2018

Sorption of lead and copper by calcium bentonite, living and destroyed cells of gram-positive bacteria *Bacillus subtilis*, as well as in systems including the clay mineral and one of the biotic components in the concentration range of the elements from 25 to 250  $\mu\text{M}$  was studied. The effect of acidity on the biosorption of trace elements was shown. The maximum biosorption of lead and copper was observed at pH 6 and reached 0.72 and 0.52 mM/g of dry matter, respectively. At pH 6 the maximum biosorption by the destroyed cells was also observed — 0.81 mM/g of lead and 0.71 mM/g of copper. Accumulation of trace elements by living and destroyed cells significantly exceeded their sorption by calcium bentonite. In the ternary systems, including bentonite and bacterial cells or bentonite and cell debris, there was an increase in the sorption of lead and copper compared to bentonite alone. At the same time, the sorption of trace elements by a mixture of bentonite and cell fragments was lower than the additively calculated sorption by the individual components for both lead and copper at all concentrations studied. A similar pattern was observed for the system of living cells and bentonite for copper and living cells and bentonite for lead at low metal concentrations.

**Key words:** trace elements, bacteria, clay minerals, adsorption, biosorption, acidity

**(For citation:** Perelomov L.V., Sizova O.I., Atroshchenko Yu.M. Trace Elements Sorption by Bentonite in the Presence of Bacteria. *Geokhimiya*. 2019;64(3):273–281. DOI: 10.31857/S0016-7525643273-281)