

# Uloga bakterija u biomineralizaciji

---

Vlah, Tamara

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:561212>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEU ILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATI KI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK  
STUDIJSKI PROGRAM: Znanosti o okolišu (Environmental sciences)

Seminarski rad:

ULOGA BAKTERIJA U BIOMINERALIZACIJI  
(Biologically induced mineralization by bacteria)

MENTOR: dr.sc. Nenad Tomaši , doc

STUDENTICA: Tamara Vlah

Zagreb, 2009.

## SADRŽAJ:

<b>1. UVOD.....</b>	<b>2</b>
<b>2. BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA NA ORGANSKOJ PODLOZI.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Svojstva površine bakterija.....</b>	<b>4</b>
<b>3. PROCESI MINERALIZACIJE ŽELJEZA I MANGANA.....</b>	<b>8</b>
<b>3.1. Oksidacija željeza i mangana.....</b>	<b>9</b>
<b>3.2. Redukcija željeza i mangana.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3. Biološki inducirana mineralizacija magnetita.....</b>	<b>15</b>
<b>3.4. Disolucija magnetita.....</b>	<b>16</b>
<b>3.5. Redukcija sulfata.....</b>	<b>17</b>
<b>3.6. Oksidacija minerala sulfida.....</b>	<b>19</b>
<b>4. BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA UNUTAR STANICE.....</b>	<b>20</b>
<b>5. ZNAČENJE BILOŠKI INDUCIRANE MINERALIZACIJE.....</b>	<b>22</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>24</b>
<b>7. SAŽETAK.....</b>	<b>25</b>
<b>8. SUMMARY.....</b>	<b>25</b>
<b>9. LITERATURA.....</b>	<b>26</b>

## 1.UVOD

Bakterije su mali, prokariotski mikroorganizmi koje nalazimo svugdje, u vodnim staništima, terestri kim staništima iznad i ispod površine zemlje. Prokarioti zahvaćaju 2 domene (nadkraljevstva) u hijerarhiji biološke taksonomije, a to su Bacteria i Archeae. Pokazuju izvanredan diverzitet, kako genetički tako i metabolički, čak i u istim mikrookolišima, te se smatra da su imale veliku ulogu u akumulaciji minerala u Zemljinoj kori. Prokariotska sinteza minerala može se grupirati u 2 standardna modela: 1) biološki inducirana mineralizacija (biologically induced mineralization-BIM) i 2) biološki kontrolirana mineralizacija (biologically controlled mineralization-BCM). U ovom poglavlju orijentirani smo na biološki induciranu mineralizaciju (BIM).

Minerali formirani biološki induciranim procesom mineralizacije tvore jezgru i rastu izvan stanice kao rezultat metaboličke aktivnosti organizma i kasnijih kemijskih reakcija koje uključuju produkte metabolizma. U mnogim slučajevima, organizmi luče više od jednog metaboličkog produkta koji reagiraju s ionima i elementima u okolišu, a to rezultira kasnijim lučenjem i odlaganjem mineralnih estica. Upravo zbog toga BIM je nemamjerna i nekontrolirana posljedica mineralne aktivnosti. Minerali koji se formiraju često kristaliziraju lošim kristalinitetom, općenito široke distribucije, ali nedostaje specifična kristalna morfologija. Uz to, nedostatak kontrole formiranja minerala često rezultira lošom mineralnom obilježijima i/ili inkluzijom neistotipnih minerala. BIM je ekvivalent za anorgansku mineralizaciju u istim uvjetima okoliša, a minerali zbog toga često imaju kristalokemijska obilježja koja se generalno nemogu razlikovati od minerala koji su dobiveni anorganskim, kemijskim reakcijama. U pojedinim slučajevima metabolički produkti difundiraju iz minerala i formiraju otopine. Međutim, stanišna stijenska i egzopolimeri koje luče bakterije, uključujući i sluz i zaštitne kapsule, igraju važnu ulogu u apsorpciji iona, jezgri minerala i rastu minerala (Beveridge 1989; Konhauser 1998; Banfield i Zhang 2001; Bäuerlin 2003).

BIM je posebno značajan za bakterije koje žive u anaerobnim uvjetima uključujući i duboko morska staništa, ili u oksidno-anaerobnim slojevima. Uzrok preživljavanja bakterija u anaerobnim uvjetima je u tome što koriste sulfide za proces disanja i/ili različite metale kao što

su željezo (terminalni akceptor elektrona u transportu elektrona). Metaboli i produkti tih reakcija (redukcija iona metala i sulfida) su reaktivni i sudjeluju u kasnijim procesima formiranja minerala.

U BIM-u minerali se najčešće nalaze ili izmeću u organskog matriksa ili vezikula unutar stanice, dopuštaju i organizmu da zadrži određeni stupanj kontrole nad stvaranjem jergara, rastom minerala i načinom slaganja kristala, te veličini, habitusu i intracelularnoj lokaciji minerala (Bazylinski i Frankel, 2000a,b). Većina minerala nastale biološki kontroliranom mineralizacijom (BCM), strukturno su dobro organizirane, sa malom distribucijom i habitusom. Zbog tih obilježja, smatralo se da su BCM procesi pod kontrolom metabolizma gena. Zbog intra-vezikularnih uvjeta koji su pod kontrolom samog organizma, mineralna formacija nije toliko osjetljiva na vanjske utjecaje kao BIM. Kasnije se govori o biološki kontroliranoj mineralizaciji (BCM) od strane bakterija (Bazylinski i Frankel, 2003.)

## **2. BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA NA ORGANSOJ PODLOZI**

Zbog odnosa velike površine i volumena bakterija, površina stanica i površine egzopolimera može biti vrlo važna u BIM procesima. Negativni naboj, ve inom, na površini stanice i egzopolimera, mogu rezultirati vezanjem kationa nespecifi nim elektrostatskim interakcijama, efektivno pridonose i lokalnoj supersaturaciji. Vezanje tako er pridonosi stabilizaciji pvršine nascentnih mineralnih estica, smanjuju i slobodnu energetska barijeru za kriti ne kristalno-jezgrene formacije. Stopa mineralizacije amorfne i kristalne tvari je u mnogo emu brža nego anorganska mineralizacija (bez površinskog vezanja i nukleacije). U neki slu ajevima kao rezultat tih procesa javlja se mineralni sloj koji prekriva stanicu.

Razlikovana su dva površinska BIM procesa: aktivni i pasivni. Pasivna mineralizacija se odnosi na nespecifi no povezivanje kationa i ja anje aniona iz otopine što rezultira površinskom nukleacijom i rastom minerala. Aktivna se mineralizacija pojavljuje pod direktnim utjecajem redoks reakcija površinskih vezanih iona metala, ili formiranjem kationa i aniona od produkata metaboli ke aktivnosti koji formiraju minerale na površini bakterije.

### **2.1. Svojstva površine bakterija**

Prokarioti imaju različite tipove stani ne stijenke i njihov kemijski sastav određuje naboje iona na površini organizma. U domeni Bacteria postoje 2 generalna tipa stani ne stijenke: gram-pozitivne i gram-negativne. Razlika se utvrđuje standardnim postupkom pomoću svjetlosnog mikroskopa. Gram-pozitivna stani na stjenka odvojena je od citoplazme dvoslojem lipid/protein koji nazivamo stani na membrana ili plazma, a građena ve inom od peptidoglikana (murein) bogatim karboksilnim grupama koje su uzrok negativnog naboja stani ne stijenke. Peptidoglikan formira 12-25 nm tanak sloj koji povezuje slojeve ponavljaju ih jedinica dva šeerna derivata, N-acetilglukosaminska i N-acetilmuraminska kiselina, i malu grupu aminokiselina. Peptidoglikan daje stani noj stijenci avsto u i naboj, vješlojnost je uglavnom odgovorna za

mineralizaciju. U peptidoglikan se mogu vezati kiseline, te nastali polimeri sadrže fosforne grupe koje kasnije pridonose stvaranjem negativnog naboja stanične stijenke.

Gram-negativna stanična stijenka strukturno je kompleksnija nego i od gram-pozitivne se razlikuje po tanjem sloju peptidoglikana (3nm), i ne sadrži sekundarne polimere (Beveridge 1981). Nalazi se između u dvosloja lipid/protein, vanjske i plazmatske membrane, u prostoru između u staničnoj stijenki koju nazivamo periplazma. Za razliku od plazmatske membrane, vanjska membrana sastavljena od fosfolipida i njezin vanjski sloj sadrži lipopolisaharide (LPS) koji su jako nabijeni anionima. LPS se sastoji od *O*-polisaharida, jezgre polisaharida i lipida A. *O*-bojni lanac se može proširiti do 40 nm od jezgre polisaharida koja je vezana za lipid A. Lipid A sadrži nekoliko hidrofobnih lanaca masnih kiselina koji uvršuju LPS u dvosloj vanjske membrane. Jezgri oligosaharid i gornje regije lipida A bogati su fosfatnim grupama koje imaju afinitet za  $Mg^{2+}$  i  $Ca^{2+}$  kationima (Frankel i Bazylnski, 2003). Jezgra ima nekoliko keto-deoksioktanskih ostataka koji osiguravaju slobodne karboksilne grupe, dok mnogo *O*-bojnih lanaca također sadrže ostatke bogate karboksilnim grupama (Ferris i Beveridge 1986a). Polisaharid je uglavnom prisutan u unutarnjem dijelu vanjske membrane. Kod gram-negativnih stanica, LPS je glavni faktor u kristalizaciji minerala, zbog visoke koncentracije fosfatnih i karboksilnih grupa.

Membrane Archaea također pokazuju gram-pozitivne i gram-negativne karakteristike bojenja. Ali ipak, stanične stijenke Archeae znatno se razlikuju po kemijskom sastavu od stanične stijenke Bacteria i međusobno (König 1988). Neke gram-pozitivne Archeae imaju stanične stijenke sastavljene od slojeva peptidoglikana-poput polimera, koji se sastoji od N-acetilglukosaminuronične kiseline i N-acetilglukosamina, kojeg nazivamo pseudomurein, koji prekriva plazmatsku membranu. Drugima nedostaje pseudomurein i stanična stijenka se sastoji od polisaharida, glikoproteina ili proteina. Neke gram-negativne Archeae nemaju staničnu stijenku, ali zadržale su staničnu membranu. Zbog toga su elektrokemijski naboji prisutni na površini Archeae.

Drugi slojevi koji se nalaze na vanjskom djelu stanične membrane mogu biti uključeni u stvaranje jezgara mineralizacije, uključuju i S slojeve, kapsule, sluz. U Archeae su neki S slojevi, parakristalne strukture površine stanice koje se sastoje od proteina ili glikoproteina. S slojevi postavljeni su kao vanjski slojevi stanice i nalaze se u izravnom kontaktu s okolišem. S slojevi su zapravo kiseline i posjeduju mrežu negativnog naboja koja pokazuje afinitet prema

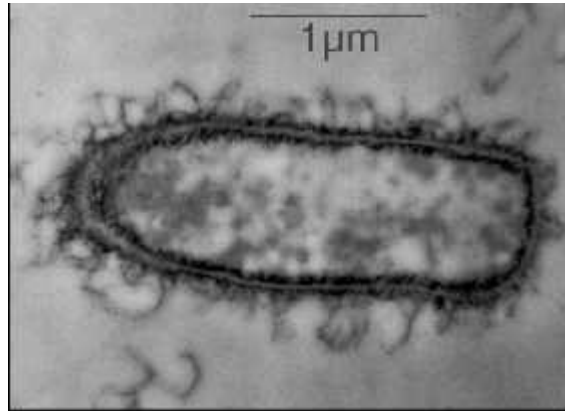
kationima metala. Kapsule su guste, visoko hidratizirane strukture sastavljene od polisaharida ili proteina koji su kemijski vezani za površinu stanice. Mogu biti različite debljine i mogu se rastegnuti 1 $\mu$ m od stanice. Kapsule su bogate karboksilnim grupama i mogu sadržavati značajan broj fosfatnih grupa, te time daju strukturi negativan naboj. Zbog jake hidratizacije kapsula koje prekrivaju površinu stanice može doći do intenzivne reakcije između kapsule i kationa metala. Sojevi sluzi, slabije pakirana verzija kapsule, kemijskim sastavom jako slične kapsuli, ali nisu vezani za stanicu. Plaštevci su tvrdi prozirni cilindri kojima je svrha zaštita bakterija, koju proizvodi nekoliko vrsta prokariota (npr. *Leptothrix*). U bakterija, plaštevci su vrste homo- i heteropolimeri ugljikohidrata ili ugljikohidrata i proteina. Od nekih vrsta, plašt ima značajnu ulogu u stvaranju jezgara oksidiranih mineralnih estica i biomineralizaciji, zato što nekad sadrži proteine koji oksidiraju metale, kao npr. oksidacija mangana (*L. discophora*). U Archeae, plaštevci se sastoje od proteina i slični su staničnoj stjenki.

Minerali koji nastaju BIM pasivnim površinsko-intermedijarnim procesima mineralizacije, uključuju Fe, Mn i druge okside metala, npr. hematit ( $\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), i goetit ( $\text{-FeOOH}$ ); sulfate metala, karbonate, fosfate, fosforit; Fe i Fe-Al silikate; i sulfide metala. Mineralne tvorevine prvotno neutraliziraju kemijski reaktivna mjesta na stanici, te se nastavlja stvaranje jezgara i nakupljanje iona metala (Southam, 2000). Mineralizacija je najaktivnija na mjestima inicijalne nukleacije na vanjskom dijelu stanice. Kompletna mineralizacija površine stanice može se dogoditi ako dođe do proizvodnje prozirnih minerala koji veličinom i oblikom odgovaraju veličini i obliku stanice (slika1). Zanimljivo je da mrtve stanice mogu formirati minerale na istom načinu, i jedna studija pokazala je da u žive stanice vrste *Bacillus subtilis* vežu manje iona metala nego mrtve. U ovom inducirani protoni membrane pokreću redukciju sposobnosti vezanja metala na staničnu stjenku, najvjerojatnije kompeticijom protona i iona metala za mjesta na staničnoj stjenki koja su nabijena anionima.

Postoji mnogo primjera u kojima je BIM rezultat aktivne mineralizacije reaktivnih nusprodukata. Neke cijanobakterije talože različite minerale kao rezultat korištenja bikarbonata iz otopine i otpuštanja hidroksilnih aniona. To uzrokuje povećanje pH stanice. U nekih vrsta (npr. *Synechococcus* spp.), S sloj je mjesto stvaranja jezgara gipsa ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) kod slabog svijetla. Ipak, kod procesa fotosinteze, povećani pH u S sloju uzrokuje taloženje kalcita ( $\text{CaCO}_3$ ) (Schultz-Lam 1992, Fortin i Beveridge 2000). Cijanobakterije također mogu potaknuti taloženje željeznih i manganovih oksida tako da povećaju pH i koncentraciju kisika pomoću fotosinteze (Frankel i



Bazylinski, 2003). Formiranje željeznih sulfida pomoću sulfat-reducirajućih bakterija, također je izvrstan primjer aktivne mineralizacije iz sulfida.



Slika 1. Fosil bakterije iz sulfat-reducirajućeg medija. Stanica je propala, ali je ostao sačuvan oblik stanice (preuzeto od W. Stanley i G. Southam, 2000).

### 3. PROCES MINERALIZACIJE ŽELJEZA I MANGANA

Biogeni minerali željeza i mangana esti su produkti BIM procesa zbog relativno visokih koncentracija tih elemenata u Zemljinoj kori (na 4. i 12. mjestu po zastupljenosti) (Tablica 1). Magnetit i maghemit, posebno su zna ajni u geologiji zbog pove avanja magnetizma sedimenata. Zbog toga emo naglasiti važnost biološki inducirane mineralizacije minerala željeza, posebno magnetita. U ovom poglavlju govorit emo o metaboli kim procesima koji uzrokuju taloženje i disoluciju minerala željeza, uklju uju i oksidaciju i redukciju metala, redukciju sulfata i oksidaciju sulfida metala.

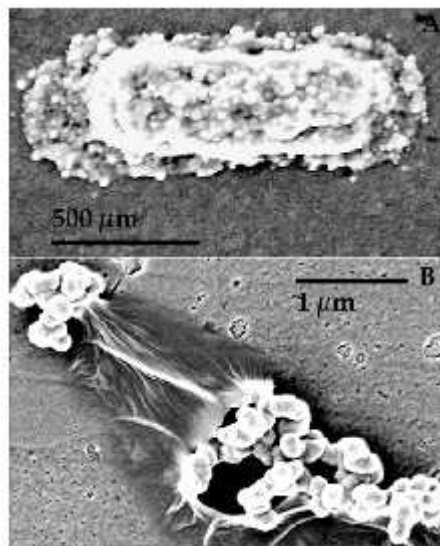
**Tablica 1.** Neki biološki inducirani minerali mangana i željeza (preuzeto iz Lowenstam i Weiner, 1989.)

<i>Kekijska formula</i>	<i>Ime minerala</i>
Fe(OH) <sub>3</sub> (approx.)	Željezov oksihidroksid
2Fe(OH) <sub>3</sub> ·Fe(OH) <sub>2</sub> (approx.)	Zelena hr a
-FeO(OH)	Goetit
-FeO(OH)	Lepidokrocite
5Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	Željezov hidrit
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Magnetit
-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Maghemit
FeCO <sub>3</sub>	Siderit
FePO <sub>4</sub> ·nH <sub>2</sub> O	Željezov hidrofosfat
Fe <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Vivianit
FeS Cubic FeS	(Sphalerit-tip)
FeS	Mackinavit (tetragonski FeS)
Fe <sub>3</sub> S <sub>4</sub>	Greigit
Fe <sub>1-x</sub> S	Pirotit
FeS <sub>2</sub>	Pirite
KFe <sub>3</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (OH) <sub>6</sub>	Jarosit
Fe <sub>8</sub> O <sub>8</sub> SO <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub>	Schwertmanit
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Melanterit
MnCO <sub>3</sub>	Rodokrozit
Mn <sub>4</sub> O <sub>7</sub> ·H <sub>2</sub> O	Todorokit
Na <sub>4</sub> Mn <sub>14</sub> O <sub>27</sub> ·9H <sub>2</sub> O	Birnesit

#### 3.1. Oksidacija željeza i mangana

Fe i Mn oksidiraju e bakterije odgovorne su za taloženje oksida oba metala pri kiselim i neutralnum pH uvjetima. Željezov(III)oksid i manganov(IV)oksid topivi su pri niskom pH, a

aktivna mineralizacija je potpomognuta organizmima kao što su bakterije *Acidithiobacillus ferrooxidans* (prije *Thiobacillus ferrooxidans*) ili *Leptospirillum* spp., koje oksidiraju dvovalentno željezo (Fe(II)) i vrlo su važne za taloženje oksihidroksida željeza (Fortin i Beveridge, 2000; Southam 2000). Acidofili su poznatiji po disoluciji i biolugenju minerala, posebno minerala sulfida kao što je pirit, i često su povezani sa stvaranjem jezgara i odlaganjem sekundarnih minerala, željezovih oksihidroksida, tijekom oksidacije dvovalentnog željeza (slika 2). Treba uzeti u obzir da svi oksidi dvovalentnog željeza imaju potencijal nastati BIM procesima. Acidofili koji oksidiraju dvovalentno željezo su različiti i uključuju: termotolerantne gram-pozitivne vrste kao što su *Sulfobacillus* spp., *Acidimicrobium ferrooxidans* i *Ferromicrobium acidophilus* (Blake i Johanson 2000); mezofilne vrste Archeae kojima nedostaje stanična stijenka, kao što je *Ferroplasma* spp. (Edwards 2000, 2001; Golyskina 2000), termofilne vrste Archeae kao što su *Sulfolobus* spp., *Acidianus brierleyi*, *Metallosphaera* spp., i *Sulfurococcus yellowstonensis* (Blake i Johanson 2000).



Slika 2. A) prikaz jako mineraliziranih stanica vrste *Acidithiobacillus ferrooxidans* na površini pirita. B) slika visoke rezolucije koja prikazuje odlaganje željeznih oksihidroksida na staničnom egzopolimeru (preuzeto od K.J.Edwards, 2000).

Pri neutralnom pH, bakterije su vrlo važne u pasivnom formiranju Fe(III) i Mn(IV) oksida, iako se može pojaviti i aktivna mineralizacija. Postoji nekoliko različitih fizioloških grupa bakterija koje su poznate da oksidiraju dvovalentno željezo pri neutralnom pH, uključujući i aerobe i anaerobe.

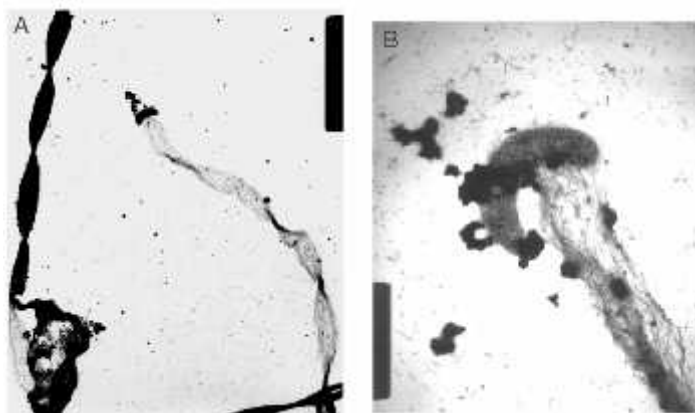
Da bi aerobni organizmi, koji oksidiraju dvovalentno željezo, preživjeli u neutralnom mediju, morali su riješiti nekoliko problema (Emerson 2000). Prvo se morao riješiti problem anorganske oksidacije dvovalentnog željeza pomoću kisika. U aerobnim uvjetima, kemijska oksidacija Fe(II) je relativno brza. Acidofilne bakterije, koje oksidiraju Fe(II), nemaju taj problem zbog toga što je Fe(II) vrlo stabilno pri niskom pH. Drugi problem se javlja zbog netopivih produkata oksidacije Fe(II), a to su Fe(III)oksidohidroksidi. Stanica zbog toga mora oksidirati Fe(II) na vanjskoj površini, da bi se spriječila hidroliza i taloženje oksidohidroksida unutar stanice. Da bi riješila taj problem stanica, mora biti sposobna vršiti transport elektrona putem periplazme do stanične membrane gdje se uspostavlja poluosmotski potencijal. Riješenje prvog problema: Fe(II) oksidi rastu u mikroaerobnim uvjetima gdje je niska koncentracija kisika (npr. oksidno-anoksi medij), reduciraju i anorgansku oksidaciju željeza. Da bi se riješio drugi problem, Fe(II) oksidi, kao i topljive komponente transporta elektrona, nalaze se s vanjske strane stanične membrane kao što je slučaj u vrste *Acidithobacillus ferrooxidans* (Frankel i Bazylinski 2000.)

*Gallionella*, prvi puta opisana 1800-tih, vjerovatno je prvi organizam za koji se mislilo da je kemolitotrof koji vrši oksidaciju dvovalentnog željeza. Kada raste na dvovalentnom željezu, svaka stanica luči i stapku u obliku dvostrukog heliksa koji se uglavnom sastoji od željeznih oksidohidroksida (slika 3). Organski matriks vidljiv je između stapki (Hanert 2000a). Jednom kad je formirana, stapke počinju stvarati jezgra daljnje mineralizacije i nadalje nakupljaju minerale željeza. Stapke su sastavljene od pojedinih filamenata; različite vrste sintetiziraju različite filamente. Ovo je zanimljiv primjer biološki inducirane mineralizacije, da se čini da stanica ima djelomičnu kontrolu nad oblikom produkta mineralizacije polimera, da je taj produkt izbačen na specifično mjesto na u stanici. Ali ipak ne vidi se neki značajniji utjecaj na strukturu. To nije najvažnije za rast, ali Hallbeck i Peterson smatraju da stapka predstavlja strategiju preživljavanja. *Gallionella* je mesofilni kemolitotrof (može rasti i kao miksotrof), i filogenetski je povezan sa  $\alpha$ -podjedinicom proteobakterija u domeni Bacteria (Hallbeck, 1993).

Druga grupa Fe(II) oksidirajućih bakterija također su mikroaerofili i rastu u oksidno-anoksičnim uvjetima u polu vrstnim kulturama s gradijentom O<sub>2</sub> (Emerson i Moyer 1997). Ovi mezofilni organizmi mogu koristiti Fe(II) željezo u željeznim sulfidima ili željezne karbonate kao donore elektrona i stvaraju Fe(III) okside koji su usko povezani sa staničnom stjenkom bakterija. Iako stanice inkrustiraju metalne okside, okružene su matriksom gdje se pojavljuje taloženje. Smatralo se da matriks može spriječiti da stanica bude potpuno zahvaćena mineralom.

Filogenetski, neke od ovih organizama formiraju nove rodove unutar grupe *Xanthomonas*, u - podjedinici proteobakterija. Filotipovi ovih organizama identificirani su iz Loihi Seamount-a blizu Hawaii otoja gdje postoje niskotemperaturni, hidrotermalni odušci i velika količina Fe(III)oksida. Na tom mjestu uočena je velika količina tih organizama i kultura srodnih organizama (Emerson i Moyer 2002). Organizmi su također povezani i izolirani s rizosfernim i Fe(III)hidroksidnim plakom na korjenju biljaka koje obitavaju na vlažnim tlima.

Organizmi koji anaerobno oksidiraju Fe(II) rastu na ili u okolini neutralnog medija, uključujući i nekoliko vrsta fototrofnih bakterija i neke nitratne bakterije. Nekoliko slatkovodnih vrsta fototrofnih bakterija poznato je po vezanju Fe(II) u željezne sulfide, ili u mješavinu željeznih karbonata i željeznih fosfata, ili pak u netopive Fe(III)oksihidrokside čiji precizan sastav nije određen. Te vrste pripadaju  $\alpha$ - i  $\beta$ -proteobakterijama. Dvije fototrofne morske vrste *Rhodovulum* ( $\alpha$ -podgrupa proteobakterija) koje rastu na istim staništima stvaraju željezne okside željezovog hidroksida (98%) i magnetit (u tragovima) (Straub, 1999). Obje vrste, i slatkovodne i morske, su fotoautotrofi i fotoheterotrofi. Otkriće ovih vrsta dalo je objašnjenje za formiranje masivnog vezanog željeza koje se formira u nedostatku slobodnog kisika.



Slika 3. A) slika cijelih stanica vrste *Gallionella ferruginea*. Kontrast se vidi uslijed gusto e elektrona zbog velike količine minerala željeznog oksihidroksida. B) veće povećanje stanice obojane amonijevim molibdatom pokazuje nanovo sintetiziranu stapku (preuzeto od W. Ghiorse)

Anaerobna skupina organizama odgovorna za oksidaciju dvovalentog željeza, pri čemu koriste nitrate kao terminalne akceptore elektrona, uključujući veliki broj mezofilnih vrsta koje

pripadaju - i -podgrupama proteobakterija. Sve iz željeznih oksihidroksida iz dvovalentnog željeza koje vjerojatno sadrži karbonate. Studija u kojoj su korištene sonde 16S rRNA, namjenjene isključivo određenim vrstama, pokazala je da su organizmi široko rasprostranjeni u različitim europskim sedimentima. Time zaključujemo da i druge nitrat-reducirajuće bakterije, uključujući i *Thiobacillus denitrificans* i *Pseudomonas stutzeri*, imaju sposobnost oksidacije dvovalentnog željeza u anaerobnim uvjetima, a koriste nitrate kao terminalne akceptore elektrona. Nakon stvaranja Fe(II), Fe(III), neizreagiran Fe(II) i karbonati, nastaju u mediju gdje stvaraju zelenu koru koja se nakon toga transformira u magnetit.

Od hipertermofilnih Archeae, *Ferroglobus placidus*, izoliran iz plitkih podmorskih hidrotermalnih odušaka u Italiji, poznat je da raste litorofno sa Fe(II) kao željeznim karbonatom. Optimalna temperatura za rast organizma je 85°C. Ovaj organizam također može reducirati tiosulfate korištenjem vodika kao elektrondonora, i u prisutnosti Fe(II), stvara minerale željeznih sulfida.

Neke kemoheterotrofne bakterije također oksidiraju dvovalentno željezo. Dvije, možda i najbolje opisane vrste su *Sphaerotilus* i *Leptothrix*. Proteini u njihovom plaštu kataliziraju oksidaciju Fe(II) i Mn(II) i stvaraju jezgre za lučenje Fe i Mn oksida, kojima su česti oklopljeni. U porodici Siderocapsaceae, koja sadrži rodove *Siderocapsa*, *Naumanniella*, *Siderococcus* i *Ochrobium*, oksidiraju Fe(II) ali dokazi su nepouzdana u većini slučajeva i preuzete su iz studija o okolišu i mješanih kultura, a nisu izolirani i uzgojeni iz istih kultura (Harnert 2000b). Zapravo je upitno da li zaista postoje prave vrste ovih rodova (Emerson 2000). Ali ipak nalazimo ih u vodenim okolišima, te ih se povezuje sa Fe(III) i Mn(IV) oksidima. Mnoge stvaraju kapsule koje mogu biti povezane sa mineralizacijom (Harnert 2000b).

Neke bakterije oksidiraju Mn(II) iako rastu litotrofno (Emerson, 2000). Mezofil *Leptothrix discophora*, oksidira Mn(II) pomoću proteina koji je prisutan u njezinom plaštu. Stanica luči i protein te on postaje dio plašta. Plašt apsorbira ione metala, te može doći i do Mn oksida. Vrste koje nemaju plašt također mogu lučiti proteine, zbog nedostatka plašta, amorfni Mn(IV) oksidi stvaraju nepovezane čestice. Postoji i nekoliko teorija o mogućoj funkciji oksidne kore na *Leptothrix-u*, zaštita od prtozoa, zaštita od bakteriofagaili UV-zračenja, detoksifikacija O<sub>2</sub> radikalima (Emerson 2000). Protein u vrste *Leptothrix*, koji oksidira Mn, MofA, opisan je kao muti-copper oksid.

Dvije vrste slatkovonih gram-negativnih,  $\gamma$ -proteobakterija, *Pseudomonas putida*, poznate su po aktivnoj mineralizaciji Mn oksida iz Mn(II). Stanica odlaže Mn okside na druge membrane i multi-cooper enzim, CumA posreduje u oksidaciji.

Neaktivne spore nekih podvrsta *Bacillus-a* oksidiraju Mn(II) i postaje inkrustiran amorfnim Mn oksidima. Taj proces je također enzimatski: oksidacija Mn(II) je potaknuta drugim multi-cooper enzimom MnxG.

### **3.2. Redukcija mangana i željeza**

Metal-reducirajuće bakterije prepoznatljive su po sposobnosti da koriste veliki broj različitih oksida, iona metala kao terminalne akceptore elektrona (Lovley, 2000). Posebno u slučaju željeza i mangana, to rezultira otapanjem oksida minerala i bilo kojih metala koji nastaju u okolišu u anaerobnim uvjetima. Organizmi koji reduciraju željezo, dišu pomoću oksidiranog željeza, Fe(III), obično u obliku amornog Fe(III)oksihidroksida (Lovley 1990, 1991) ili u obliku kristalnog oksida željeza kao što je goetit, hematit, i otpuštaju reducirano željezo, Fe(II) u okoliš. Fe(II) može naknadno sudjelovati u sporednim interakcijama s anionima rezultirajući stvaranjem različitih minerala željeza. Željezo-reducirajuće bakterije poznate su da indiraju u okolišu magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), siderita ( $\text{FeCO}_3$ ) i vivianita ( $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), ovisno o uvjetima izvan stanice (Bazyliński i Frankel 2000a,b). Na primjer siderit je dobiven u kulturi *Geobacter metallireducens* zajedno s magnetitom, gdje stanice rastu bikarbonatnim sustavima (Lovley i Phillips 1988; Lovley 1990). Stanice metanogene vrste *Magnetospirillum magnetotacticum*, stvaraju značajne količine ekstracelularnog vivianita (slika 4), prilikom aktivne redukcije Fe(III) u Fe(II) oksihidrokside (Blakemore i Blakemore 1990).

Reakcije biomineralizacije, opisane u prijašnjem paragrafu odvijaju se pri neutralnom pH. Postoji veliki broj poznatih kemolitoautotrofnih i kemoheterotrofnih, acidofilnih Fe(III)-reducirajućih bakterija, ali se o njihovim mineralnim oblicima koji nastaju pri niskom pH malo pisalo. Zanimljivo je to da za te organizme ne moraju biti striktno anaerobni uvjeti da bi rasli u prisutnosti Fe(II) iako je redukcija Fe(III) najbrža u mikroaerobnim uvjetima. Vrsta Archeae *Sulfolobus acidocaldarius*, reducira Fe(III) kada raste kao heterotrof na organskoj podlozi. *Acidithiobacillus ferrooxidans* i *A. Thiooxidans* oksidiraju reducirane sumporne komponente, spajaju i tu reakciju s redukcijom Fe(III). Stanice  $\gamma$ -proteobakterija *Acidimicrobium acidophilum*,

reducira Fe(III) pomoću u organskog donora elektrona u mikroaerobnim uvjetima. Gram-pozitivne, umjereno termofilne vrste *Sulfolobus* i *Acidimicrobium* također reduciraju Fe(III), i neke su poznate da mogu reducirati otopinu Fe(III).



Slika 4. Ekstracelularni kristali vivianita koje stvaraju stanice *Magnetospirillum magnetotacticum*-a u kulturama koje sadrže visoke koncentracije Fe(III) i fosfata. U ovim uvjetima stanice reduciraju Fe(III) u Fe(II). (Preuzeto od Frankel i Bazylinski 2003)

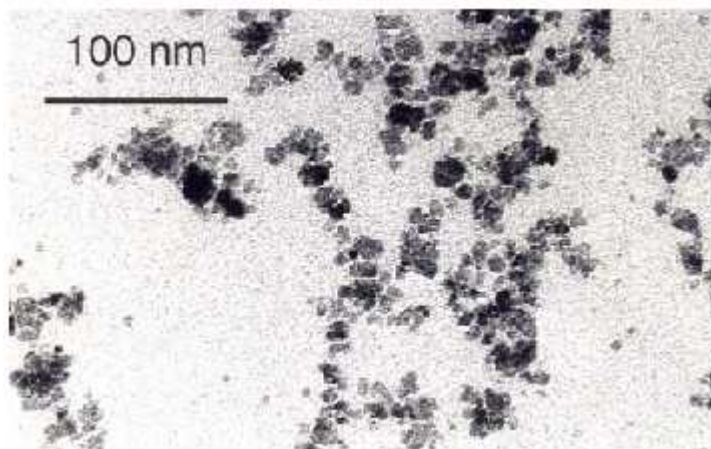
Mnoge Fe(III) reduciraju bakterije kao što su *Shewanella* i *Geobacter* također reduciraju Mn(IV) u Mn(II). U ovom slučaju organizmi su poznati po otpornju netopivog MnO<sub>2</sub>; reduciraju Mn(IV) iz MnO<sub>2</sub> u topivi Mn(II). Neke vrste *Thermoanaerobacter*-a stvaraju manganokrozit (MnCO<sub>3</sub>) tijekom redukcije Mn(IV), uraninit (UO<sub>2</sub>) tokom redukcije topivog urana i zlato tokom redukcije Au(III) .

### **3.3. Biološki inducirana mineralizacija magnetita**

Fe(II) može reagirati sa viškom netopivih Fe(III) oksihidroksida formirajući zelenu koru (pomješani Fe(II) i Fe(III) oksihidroksidi) koji stvaraju magnetit. Estice magnetita, koje su formirane ekstracelularno redukcijom željeza, su nepravilne i loše kristalizirane (slika 5). Osim toga imaju relativno široke, kristale u superparamagnetni koji veličini (<35nm) za magnetit. Te kristalne karakteristike tipične ne su za mineralne estice koje nastaju BIM-om ili anorganskim procesom (Eberl, 1998).



Dok mnoge vrste i fiziološki tipovi bakterija reduciraju Fe(III), sve ne rastu i ne dobivaju energiju od redukcije ovog proton akceptora koji se nalazi slobodan u okolišu



Slika 5. Kristali magnetita nastali redukcijom željezo-reduciraju ih bakterija, *Geobacter metallireducens*, željezovog oksihidroksida

i stvaraju magnetit. *Geobacter metallireducens* i *Shewanella putreaciens* najviše u prou avane vrste i filogenetski su povezane sa  $\alpha$ -i  $\beta$ -proteobakterijama. Ove vrste su este u vodenim i sedimentnim okolišima i nove vrste bivaju izolirane (Caccavo 1994; Rossello-Mora 1994), upu uju i na to da članovi ovih rodova imaju najveće značenje za okoliš, uključujući i redukciju Fe(III) i ekstracelularno lučenje magnetita. BIM lučenje magnetita, demonstrirano je na kulturama *Shewanella*, *Geobacter*, *Geothrix fermentans*, nekoliko termofilnih vrsta, uključujući i Fe(III)-reducirajuće bakterije vrsta TOR-39 (danas poznata kao podvrsta gram-pozitivne barije *Thermoanaerobacter ethanolicus*), kao i druge vrste istog roda, *Pyrobaculum islandicum* i *Thermotoga maritima*. Magnetit se formira u mješanim kulturama ili u konzorciju koja sadrži Fe(III) reducente. Poznato je da se magnetit formira u istoj kulturi bilo kojih Fe(III)-reducirajućih bakterija. Crni, neidentificirani precipitati esto su uočeni u obogaćenim kulturama ili istim kulturama Fe(III)-reducirajućih bakterija koje sadrže netopljive, amorfne, Fe(III) oksihidrokside kao izvor Fe(III) vjerovatno se sastoji primarno od magnetita. Halofilne fakultativno anaerobne bakterije koje reduciraju željezo opisao je Rossello-Mora (1994) kao one koje najvjerojatnije stvaraju nestehiometrijske estice magnetita s intermedijarnim sastavom između magnetita i maghemita ( $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (Hanzlik 1996).

estice magnetita koje nastaju BIM-om javljaju se kod vrste *Thermoanaerobacter ethanolicus* (TOR-39). Zanimljivo je to da estice koje su proizvedene BCM-om (Bazylnski i

Frankel 2000a,b), i estice koje proizvede *T. ethanolicus* jako raširene. estice formiraju tetraedar sa prosje nom veli inom  $56.2 \pm 24.8$  nm. *T. ethanolicus* je mezotermofil i pokusi za rast i biomineralizaciju ra eni su pri temperaturi od 65°C, te se postavlja pitanje kakvu ulogu ima temperatura u distribuciji tih kristala. Roh (2001) je kasnije iskoistio te organizme da proizvede metalnu zamjenu kristala magnetita. Kobalt, krom i nikal zamjenjeni su BIM kristale magnetita bez promjene morfologije. Ugradnja ovih metala u magnetit s inverznom strukturom zbog jedinstvenih, magnetskih, elektri nih osobina takvih kristala.

Stanice magnetoaktivnih vrsta *Magnetospirillum magnetotacticum*, u kulturama reduciraju Fe(III) i postoje dokazi da bi redukcija željeza mogla biti povezana sa uvanjem energije i rastom (Guerin i Balkmore 1992). Ekstracelularni magnetit, nastao BIM-om nikad nije promatran u kulturama ovih organizama, stanice *M. magnetotacticum* sintetizira intracelularne resice magnetita (Frankel 1979) putem BCM-a (Bazylnski i Frankel 2003).

### **3.4. otapanje magnetita**

Pored mineralizacije magnetita, postoje neke metal-reduciraju e bakterije koje su u stanju reducirati, odnosno stvoriti metale redukcijom iz magnetita- 2 Fe(III) i 1 Fe(II) po jedinici formule- s ispuštanjem jednog Fe(II). Za *S. putrefaciens* se smatra da ima sposobnost reduciranja i razvijanja Fe(III) iz magnetita (Kostka and Nelson 1995.), dok se za *G. metallireducens* smatra da ipak nema tu sposobnost (Lovley and Phillips 1988.). Dong (2000.) je provodio redukcijske eksperimente u kojima su kulture *S. putrefaciensa* CN32 i MR-1 me udjelovale bilo s biogenim bilo s anorganskim magnetitom kao s primateljem elektrona i s laktatom kao donatorom elektrona. Kao medij zaštite, služi bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ). Vivianit ( $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ ) se kondenzira kao medij zajedno s dovoljnom koli inom fosfata. Biogeokemijska zna ajnost ovog rezultata je u tome da bi neke metal-reduciraju e bakterije mogle i dalje iskorištavati magnetit kao dnonatora elektrona ak i nakon što je prvobitno dobivanje željeza kao npr. željeznog oksihidroksida, do kraja završeno. Prema tome ini se da neke metal-reduciraju e bakterije mogu imati i sposobnost mineralizacije i sposobnost rastapanja magnetita u razli itim Eh i pH uvjetima. Dong (2000) je zabilježio da je magnetit termodinami ki stabilan pri vrijednosti pH od 5-6.5, ali nestabilan pri svakoj pH vrijednosti ve oj od 6.5. Me utim, ta tvorba minerala koja ispušta Fe(II) iz otopine

teži k tome da poveća pH vrijednost preko krajnje vrijednosti do koje se redukcija magnetita smatrala povoljnom. Prema tome, BIM može služiti i za pomicanje termodinamičke ravnoteže u određenim situacijama.

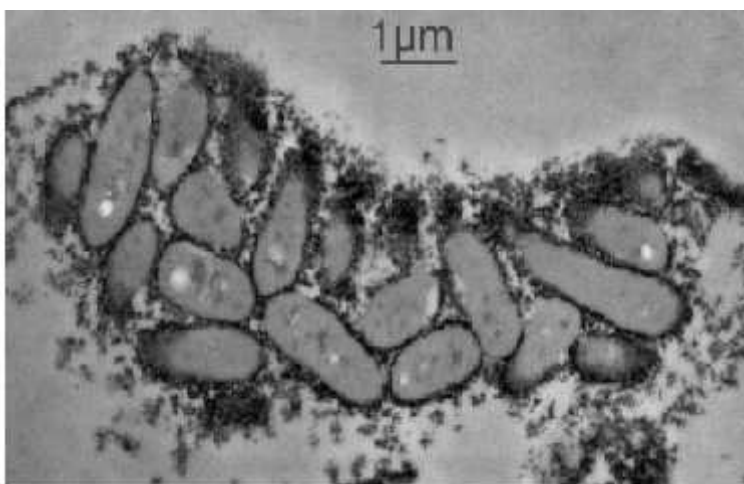
### **3.5. redukcija sulfata**

Među svim sulfidnim mineralima, mineralizacija željeznog sulfida se najčešće pripisuje aktivnosti mikroba (Southam 2000), još to nije aktivnosti sulfat-reducirajućih bakterija. Ti sveprisutni anaerobni prokarioti predstavljaju fiziološku grupu mikroorganizama koji su filogenetski i morfološki vrlo raznovrsni i uključuju vrste iz domene Bacteria (delta-subdivizija protobakterija i Gram-pozitivna grupa) te Archea. Budući da sve sulfat-reducirajuće bakterije međusobno djeluju sa sulfatom u anaerobnim uvjetima i pri tome ispuštaju visoko reaktivne ione sulfida, vrlo je vjerojatno da sve vrste, bez obzira na filogenetiku i klasifikacije, proizvode minerale željeznog sulfida kroz BIM u odgovarajućim uvjetima okoline te uz dovoljan pristup željeza. Onakve bakterije koje sulfat-reduciraju i magnetotaktične bakterije, *Desulfovibrio magneticus* kultura RS-1, poznata po tome da proizvodi ekstracelularne dijelove željeznog sulfida kroz BIM dok istovremeno sintetizira intracelularne kristale magnetita kroz BCM (Sakaguchi, 1993.). Ioni sulfida reagiraju sa željezo-formirajućim magnetskim dijelovima greigita ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ) i pirotita ( $\text{Fe}_{1-x}\text{S}_8$ ) kao i s velikim brojem ostalih nemagnetskih željeznih sulfida uključujući i makinavit (tetragonski FeS), pirit (kubični  $\text{FeS}_2$ ) i markazit (rompski  $\text{FeS}_2$ ). Za mineralne vrste koje formiraju ove bakterijsko-katalizacijske reakcije čini se da ovisi o pH i Eh medija na kojem rastu, o temperaturi inkubacije, o prisutnosti specifičnih oksidirajućih i reducirajućih agensa, te o tipu izvora u mediju na kojem rastu. Kao dodatak, mikroorganizmi jasno modificiraju mnoge od ovih parametara, kao npr. pH i Eh vrijednosti kroz razvoj. Npr., stanice *Desulfovibrio desulfuricans* proizvode greigit kad rastu u blizini željeznih soli, ali ne kada je izvor željeza bio goetit,  $\text{FeO}(\text{OH})$  (Rickard 1969a).

Berner (1962,1964,1967,1969) je izvjestio o kemijskoj sintezi velikog broja minerala željeznog sulfida, uključujući i markazit, makinavit, magnetski, kubični željezni sulfid spinalnog tipa (najvjerojatnije greigit), pirotit, amorfni FeS, pa čak i framboloidni pirit, globularni oblik piritita za kojeg se nekad smatralo da predstavlja fosilizirane bakterije (Fabricus 1961; Love i Zimmerman 1961). Rickard (1969a,b) je zaključio da se ekstracelularni, biogeni minerali željeznog sulfida ne mogu razlikovati od abiogenih (anorganskih) minerala. Ipak, u mnogim

slu ajevima , minerali željeznog sulfida koji su proizvedeni od strane sulfat reduciraju ih bakterija još nisu bili sistematski ispitani elektronskom mikroskopijom visoke rezolucije. K tome, u mnogim ranijim studijama , uloga stanice u procesu mineralizacije još nije bila istraživana.

Nedavne studije sa sulfat-reduciraju im bakterijama pokazuju da sama mineralizacija na po etku zapo inje imobilizacijom amornog FeS na površini stanice (slika 6) kroz ionsku interakciju  $Fe^{2+}$  s naponom anionske površine stanice i biogenim  $H_2S$  (Fortin 1994). Transformacije minerala uzrokuju proizvodnju ostalih željeznih sulfida, i na kraju, pirita (Fortin and Beveridge 2000; Southam 2000.). Unato rezultatima Bernera (1962,1964,1967,1969), bakterijski inducirana transformacija FeS u pirit može biti djelotvornija ako se odvija pod abiogenim uvjetima. (Donald and Southam 1999).



Slika 6. Ultratanki prerez mikrokolonija bakterija koje rastu u prisutnosti Fe(II). Stanice su oklopljene amornim željeznim sulfidima. (W. Stanly i G.Southam)

### **3.6. Oksidacija minerala sulfida**

Pored toga što postoje baktreije koje omogu avaju mineralizaciju željeznog sulfida , postoje i bakterije koje mogu oksidirati sulfide kao pirit ( $FeS_2$ ) s molekularnim kisikom, s ispuštanjem Fe(III) i sulfata( $SO_4^{2-}$ ) (Nordstrom and Southam 1997). Ovaj proces je odgovoran za drenažu kiselih izvora i tako er se upotrebljava za oboga ivanje i ispiranje ruda. Najviše prou avan organizam jest *Acidithiobacillus ferrooxidans*, acidofilna, autotrofna bakterija. Proces oksidacije

ovisi izme u ostalog i o osobinama pirita, uklju uju i veli inu zrna, kristalini nost, defekte u strukturi, tragove ne isto e metala. U oksidaciji koja slijedi Fe(III) hidrolizira i prvotno se taloži kao željezni oksihidroksid. Me utim, starenje se može pojaviti kod velikog broja minerala željeza uklju uju i i ferihidrit i goetit, kao i željezni sulfat minerala jarosita ( $KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$ ) i schvertmanita ( $Fe_8O_8SO_4(OH)_6$ ). Elementarni sumpor je drugi mogu i produkt reakcije. Drugi disulfidni i monosulfidni minerali mogu tako er oksidirati, ali rezultirati kao specifi ni supstratno-mineralni produkti. Stanice *Acidithiobacillus* odmah se vežu za površinu sulfida minerala što maksimizira efikasnost procesa oksidacije. Op enito, interakcije mikroba i minerala u razli itim uvjetima u okolišu postale su zna ajna tema u biogeokemiji.

#### **4. INTRACELULARNA BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA**

Većina primjera BIM-a o kojima se govori u prethodnim odjeljcima uključuju ekstracelularnu depoziciju minerala. Ipak, postoji nekoliko izvještaja o intracelularnoj depoziciji minerala za koju se čini da liniju granice između BIM i BCM čini nejasnom. Npr., mnoge bakterije sadrže željezne zalihe proteina koje su poznate kao bakterioferitins (Chasteen and Harrison 1999). To su intracelularni proteini koji sadržavaju 24 identične podjedinice koje su organizirane u parove koje tako formiraju dodekahedralnu ljusku koja prekriva 9 nm veliku šupljinu. Ta šupljina može nakupiti i do 4000 atoma željeza kao amorfne željezne oksihidroksne fosfate, s varijabilnom P/Fe vrijednosti. Parovi podjedinica sadržavaju centre ferooksidaze koji kataliziraju oksidaciju željeza i nukleaciju minerala u šupljini. Dok organizam pruža organsku vezikulu (proteinsku ljusku) za depoziciju minerala, on ipak navodno ne kontrolira kompoziciju ili kristalnost minerala. S druge strane, manja kristalinitetnost može omogućiti već pristup željezu pa čak možda i fosfatu uskladištenom u obliku minerala u šupljini.

Intracelularni dijelovi željeznog sulfida javljaju se između stanica sulfat reducirajućih bakterija, uključujući i *Desulfovibrio* te *Desulfotomaculum* vrste, kada se uzgajaju s relativno visokim koncentracijama željeza (Jones 1976). Ti dijelovi su slučajno razmješteni u stanicama te ih je teško razlučiti elektronskom difrakcijom. Također nisu odvojivi stupnjevitim centrifugiranjem. Izgleda i da nisu esencijalni za stanicu u tome što se stanice mogu uzgajati i s mnogo manje željeza gdje tada ne mogu formirati ovakve strukture.

Neidentificirani, pretpostavlja se magnetski (magnetno osjetljivi), elektronski gusti dijelovi javljaju se u stanicama kod nekoliko ljubičastih fotosintetičkih bakterija, uključujući i *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodospirillum rubrum*, *R. rubrum* (obje alfa- proteobakterije), i *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* (gamma- protobakterija) koje se uzgajaju u mediju koji sadržava relativno visoke koncentracije željeza. Inkluzije su sferični dijelovi koji sadržavaju elektronsko transparentnu jezgru okruženi s elektronski gustom matricom. Dijelovi se mogu odvojiti od stanica; mikroanaliza reöntgenski zrakama je pokazala da su inkluzije bogate željezom, ali da ne sadržavaju sumpor. Dijelovi su bili raspoređeni kao magnetosomi (Bazyliński 1995) i vjerojatno okruženi membranama sličnom strukturom (Vainshtein 1997). Vainshtein (2002) je kasnije pokazao da mnoge druge bakterije, uključujući i nefotosintetičke članove od obje domene prokariota, mogu biti navedene da formiraju slične dijelove. Stanice s tim dijelovima pokazuju

reagiraju na magnetite, ali nisu nužno magnetotaktične. Autori spekuliraju oko toga da je funkcija estica slična magnetosomskoj. Ovaj slučaj biomineralizacije predstavlja skoro srednji slučaj između BIM i BCM u tome što se čini da stanice kontroliraju neke značajke ovih estica kao npr. njihov raspored u stanici.

Glasauer (2001) je izvjestio o neidentificiranim esticama željeznog oksida kod željezo reducirajućih bakterija *Shewanella putrefaciens* koja se uzgaja u H/Ar atmosferi sa slabo kristaliziranim ferihidritom (željeznim oksihidroksidom) kao primateljem elektrona. Postoji dokaz koji dolazi iz izabranog područja difrakcije elektrona (selected area electron diffraction-SEAD) da intracelularne estice željeznog oksida predstavljaju magnetit ili maghmit ( $\gamma$ -FeO). Magnetit se isto formira izvan stanice. Ona-Nguema (2002) je pronašao zelenu hrastu u omjerom Fe(II)/Fe(III) koji je približan 1 kad se *S. putrefaciens* uzgaja u anaerobnim uvjetima u formi kad predstavlja donora elektrona, a kristalizirani lepidokrokite ( $\gamma$ -FeOOH) primatelja elektrona. Zelena hrast može eventualno remineralizirati kao crni magnetit ili maghmit kad se kultura koja reagira inkubirala na mediju pri sobnoj temperaturi.

## **5. ZNAČENJE BIOLOŠKI INDUCIRANE MINERALIZACIJE**

Biom mineralizacija prokariotima važan je i značajan proces za znanost ali i u komercijalne svrhe, pa tako ima veliki utjecaj na mikrobiologiju, evoluciju i geologiju. Lučenje i inkrustiranje metala u bakterija važno je za otklanjanje metala i radionuklida tijekom biopročišćavanja vode zagađenih metalima i radio-nuklidima (Lovley, 2000). Rast Fe(II)- i Mn(III)- oksidiraju ih bakterija koje mineralizacijom efikasno odstranjuju Fe i Mn ione iz vode u postrojenjima za pročišćavanje vode u Francuskoj, eliminira problem taloženja minerala u cijevima i obojenja vode (Mouchet 1992). To predstavlja veliki problem kod podzemnih izvora vode.

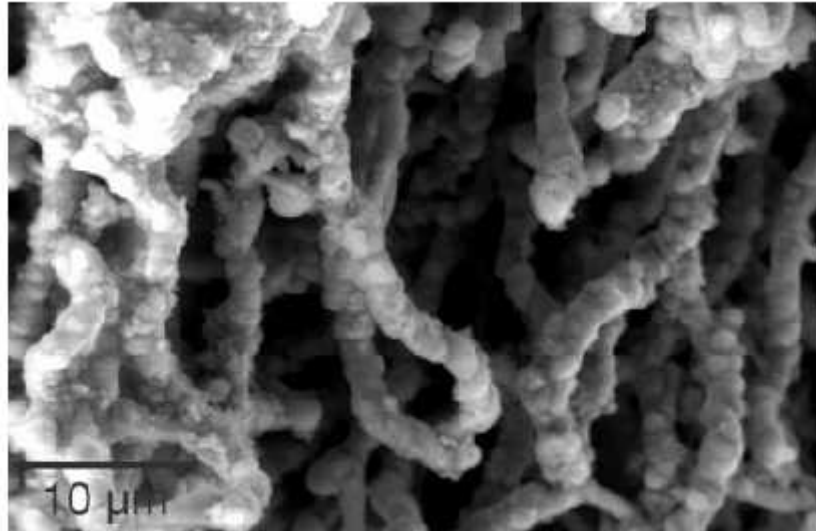
Konhauser (2000) naglašava da su bakterije koje oksidiraju željezo odgovorne za stvaranje povezanih prekambrijskih željeznih formacija (BIF) pomoću BIM-a, oksidacijom otopljenog Fe(II) u praocéanu. Oksidacija Fe(II) u Fe(III) mogla se dogoditi kemolitoautotrofno ili preko fotosinteze gdje je Fe(II) donor elektrona. Na temelju kemijskih analiza BIF-a iz zapadne Australije, zaključilo se da je gustoća bakterijskih stanica manja nego kod onih pronađenih u recentnim okolišima bogatih željezom.

Minerali nastali djelovanjem bakterija, u jednom ili drugom obliku, mogu biti korisni biomarkeri (indikator prošlog života) kada preostali ostaci stanica ili drugi indikatori tih procesa više nisu evidentni. U mnogim slučajevima promatra se samo mineralna inkrustacija stanice (Southam 2000). Ti biomarkeri ne samo da nam govore o evoluciji bakterija na Zemlji, nego predstavljaju svojevrsne dokaze o životu u prošlosti materijala za koje se smatra da potječu iz svemira (Thomas-Keprta 2000).

Zanimljiva skala i mjerilo BIM-a dobivena je sa olupine Titanica. Kada je Robert Ballard pronašao Titanic 1985, primjetio je da sa trupa više konkrecije u boji hrđe. Konkrecije su bile u oblicima sličnim stalaktitima, te ih je nazvao „rustiklama“. Rustikle mogu biti različitih veličina, od nekoliko centimetara do nekoliko metara, te imaju kompleksnu unutarnju strukturu s kanalima ispunjenim vodom te različitih promjera, a javljaju se u oblicima različitog reda veličine. Minerali željeza uveliko su zastupljeni u strukturi rustikle, zajedno sa željeznim oksihidroksidima na površini i goetitom u unutrašnjosti. Na tim tvorbama nalazimo preko 20 vrsta bakterija koje uključujući željezo-oksidirajuće bakterije te sulfat-reducirajuće bakterije. To znači da se na tvorbama nalazi veliki broj mikrookoliša, od oksidnih do anoksičnih. SEM studije pokazale su jako mineralizirane bakterijske forme, organizirane u lance (slika 7). Promatranjem



tokom godina, zapaženo je da formacije rastu velikom brzinom, preko 1 tone na godinu, po trupu broda, i prema tome se predviđa da će olupina nestati u nekoliko godina, a ne stoljeće kako se prije mislilo. Time je pokazana činjenica da rad bakterija u geološkom vremenu, može utjecati na velike mineralne transformacije.



Slika 7. SEM slika formacija bakterija prikupljenih sa Titanica. Formacije se sastoje od lanaca mineraliziranih bakterija. (H.Mann)

## **6. ZAKLJUČAK**

Bakterije su prokariotski organizmi koje nalazimo u svim staništima na Zemlji. Zbog velikog diverziteta kako genetičkog tako i metaboličkog, imale su veliku ulogu u akumulaciji minerala u Zemljinoj kori. Prokariotska sinteza može se grupirati u dvije grupe: 1) biološki inducirana mineralizacija (BIM), 2) biološki kontrolirana mineralizacija (BCM).

Kada govorimo o BIM-u, minerali su uglavnom izmeđ u organskog matriksa i vezikula stanice, čime je stanicom omogućen određeni stupanj kontrole nad stvaranjem minerala. Kao glavni produkti BIM-a javljaju se minerali željeza i mangana, a uzrok tome je velika zastupljenost tih elemenata u Zemljinoj kori. Minerali željeza i mangana mogu nastati metaboličkim procesima koji uzrokuju otapanje minerala željeza, oksidaciju i redukciju sulfida i sulfata metala.

Sve u svemu, biomineralizacija prokariotima važan je i značajan proces kako za znanost tako i u komercionalne svrhe.

## **7. SAŽETAK**

Minerali formirani biološki induciranim procesom mineralizacije tvore jezgru i rastu izvan stanice kao rezultat metaboli ke aktivnosti organizma i kasnijih kemijskih reakcija koje uklju uju produkte metabolizma. BIM je posebno zna ajan za bakterije koje žive u anaerobnim uvjetima uklju uju i i dubokomorska staništa, ili u oksidno-anoksi nim slojevima. Uzrok preživljavanja bakterija u anaerobnim uvjetima je u tome što koriste sulfide za proces disanja i/ili razli ite metale kao što su željezo (terminalni akceptor elektrona u transportu elektrona).

Minerali nastali djelovanjem bakterija, u jednom ili drugom obliku, mogu biti korisni biomarkeri (indikator prošlo g života) kada ostali ostaci stanica ili drugi indikatori tih procesa više nisu evidentni.

## **8. SUMMARY**

Minerals that are formed by biologically induced mineralization processes, generally nucleate and grow extracellularly as a result of metabolic activity and chemical reactions involving metabolic byproducts. BIM is especially significant for bacteria in anaerobic habitats including deep subsurface sites, or oxic-anoxic interfaces. This s because under anaerobic conditions many bacteria respire involving sulfate and sulfides of various metals, including iron terminal electron acceptors in electron transport.

Bacterially-formed minerals may be useful as biomarkers (indicators of past life) when other remains of the cell or indicators of the presence of the cell are no longer evident.

## **9. POPIS LITERATURE:**

Bazylinski, A. Dennis; Frankel, B. Richard (2003): Biologically Induced Mineralization by Bacteria  
Biom mineralization (P.M. Dovel, J.J. De Yoreo, S. Weiner), Reviews in Mineralogy and Geochemistry, Mineral society of America , Vol. 54, str. 95-114

### **REFERENCE:**

- Bazylinski DA, Frankel RB (2000a) Magnetic iron oxide and iron sulfide minerals within organisms. *In: Biom mineralization: From Biology to Biotechnology and Medical Application*. Bäuerlein E (ed) Wiley-VCH, Weinheim, Germany, p 25-46
- Bazylinski DA, Frankel RB (2000b) Biologically controlled mineralization of magnetic iron minerals by magnetotactic bacteria. *In: Environmental Microbe-Mineral Interactions*. Lovley DR (ed) ASM Press, Washington, DC, p 109-144
- Bazylinski DA, Frankel RB (2003) Biologically controlled mineralization in prokaryotes. *Rev Mineral Geochem* 54:217-247
- Bell PE, Mills AL, Herman JS (1987) Biogeochemical conditions favoring magnetite formation during anaerobic iron reduction. *Appl Environ Microbiol* 53:2610-2616
- Berner RA (1962) Synthesis and description of tetragonal iron sulfide. *Science* 137:669
- Berner, RA (1964) Iron sulfides formed from aqueous solution at low temperatures and atmospheric pressure. *J Geol* 72:293-306
- Berner, RA (1967) Thermodynamic stability of sedimentary iron sulfides. *Am J Sci* 265:773-785
- Berner RA (1969) The synthesis of framboidal pyrite. *Econ Geol* 64:383-393
- Beveridge TJ (1981) Ultrastructure, chemistry, and function of the bacterial cell wall. *Int Rev Cytol*
- Blakemore RP, Blakemore NA (1990) Magnetotactic magnetogens. *In: Iron Biom minerals*. Frankel RB, Blakemore RP (eds) Plenum Press, New York, p 51-67
- Dong H, Fredrickson JK, Kennedy DW, Zachara JM, Kukkadapu RK, Onsott TC (2000) Mineral transformations associated with the microbial reduction of magnetite. *Chem Geol* 169:299-318
- Emerson D (2000) Microbial oxidation of Fe(II) and Mn(II) at circumneutral pH. *In: Environmental Microbe-Mineral Interactions*. Lovley DR (ed) ASM Press, Washington, DC, p 109-144
- Emerson D, Moyer CL (1997) Isolation and characterization of novel iron-oxidizing bacteria that grow at circumneutral pH. *Appl Environ Microbiol* 63:4784-4792
- Emerson D, Moyer CL (2002) Neutrophilic Fe-oxidizing bacteria are abundant at the Loihi Seamount hydrothermal vents and play a major role in Fe oxide deposition. *Appl Environ Microbiol* 68:3085-3093
- Ferris FG, Beveridge TJ (1986a) Site specificity of metallic ion binding in *Escherichia coli* K-12 lipopolysaccharide. *Can J Microbiol* 32:52-55
- Ferris FG, Beveridge TJ (1986b) Physicochemical roles of soluble metal cations in the outer membrane of *Escherichia coli* K-12. *Can J Microbiol* 32:594-601
- Fortin D, Beveridge TJ (2000) Mechanistic routes to biom mineral surface development. *In: Biom mineralization: From Biology to Biotechnology and Medical Application*. Bäuerlein E (ed) Wiley-VCH, Weinheim, Germany, p 7-24

- Fortin D, Ferris FG, Beveridge TJ (1997) Surface-mediated mineral development by bacteria. *Rev Mineral* 35:161-180
- Fortin D, Southam G, Beveridge TJ (1994) An examination of iron sulfide, iron-nickel sulfide and nickel sulfide precipitation by a *Desulfotomaculum* species: and its nickel resistance mechanisms. *FEMS Microbiol Ecol* 14:121-132
- Frankel RB, Blakemore RP, Wolfe RS (1979) Magnetite in freshwater magnetotactic bacteria. *Science* 203:1355-1356
- Glasauer S, Langley S, Beveridge TJ (2001) Intracellular iron minerals in a dissimilatory iron-reducing bacterium. *Science* 295:117-119
- Hallbeck L, Ståhl F, Petersen K (1993) Phylogeny and phenotypic characterization of the stalk-forming iron-oxidizing bacterium *Gallionella ferruginea*. *J Gen Microbiol* 139:1531-1535
- Hanert HH (2000a) The Genus *Gallionella*. In: The Prokaryotes. Dworkin M et al.(eds) Springer-Verlag New York, Inc., New York (on the web at <http://www.springer-ny.com/>)
- Hanert HH (2000b) The Genus *Siderocapsa* (and other iron- or manganese-oxidizing Eubacteria). In: The Prokaryotes. Dworkin M et al.(eds) Springer-Verlag New York, Inc., New York (on the web at <http://www.springer-ny.com/>)
- Hanzlik MM, Petersen N, Keller R, Schmidbauer E (1996) Electron microscopy and  $^{57}\text{Fe}$  Mössbauer spectra of 10 nm particles, intermediate in composition between  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  -  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , produced by bacteria. *Geophys Res Lett* 23:479-482
- Jones HE, Trudinger PA, Chambers LA, Pylotios NA (1976) Metal accumulation by bacteria with particular reference to dissimilatory sulphate-reducing bacteria. *Z Allg Mikrobiol* 16:425-435
- König H (1988) Archaeobacterial cell envelopes. *Can J Microbiol* 34:395-406
- Kostka JE, Nealson KH (1995) Dissolution and reduction of magnetite by bacteria. *Environ Sci Technol* 29:2535-2540
- Lovley DR (1990) Magnetite formation during microbial dissimilatory iron reduction. In: Iron Biominerals. Frankel RB, Blakemore RP (eds) Plenum Press, New York, p 151-166
- Lovley DR (1991) Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Microbiol Rev* 55:259-287
- Lovley DR (ed) (2000) Environmental Microbe-Mineral Interactions. ASM Press, Washington, DC
- Lovley DR, SJ Giovannoni, DC White, JE Champine, EJP Phillips, YA Gorby, S Goodwin (1993) *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. *Arch Microbiol* 159:336-344
- Ona-Nguema G, Abdelmoula M, Jorand F, Benali O, Gehin A, Block J-C, Genin, J-M R (2002) Microbial reduction of lepidochrochite  $\text{-FeOOH}$  by *Shewanella putrefaciens*; the formation of green rust. *Hyp Interact* 139/140: 231-237
- Rickard DT (1969a) The microbiological formation of iron sulfides. *Stockholm Contrib Geol* 20:50-66
- Rossello-Mora RA, Caccavo Jr. F, Osterlechner K, Springer N, Spring S, Schüler D, Ludwig W, Amann R, Vannacanneyt M, Schleifer K-H (1994) Isolation and taxonomic characterization of a halotolerant, facultative anaerobic iron-reducing bacterium. *Syst Appl Microbiol* 17:569-573
- Sakaguchi T, Burgess JG, Matsunaga T (1993) Magnetite formation by a sulphate-reducing bacterium. *Nature* 365:47-49
- Schultze-Lam S, Harauz G, Beveridge TJ (1992) Participation of a cyanobacterial S layer in fine-grain mineral formation. *J Bacteriol* 174:7971-7981
- Southam G (2000) Bacterial surface-mediated mineral formation. In: Environmental Microbe-Mineral Interactions. Lovley DR (ed) ASM Press, Washington, DC, p 257-276
- Straub KL, Rainey FA, Widdel F (1999) Isolation and characterization of marine phototrophic ferrous ironoxidizingpurple bacteria, *Rhodovulum iodosum* sp. nov. and *Rhodovulum robiginosum* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 49:729-735
- Thomas-Keprta KL, Bazylinski DA, Kirschvink JL, Clemett SJ, McKay DS, Wentworth SJ, Vali H, Gibson Jr. EK, Romanek CS (2000) Elongated prismatic magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) crystals in ALH84001 carbonate globules: potential martian magnetofossils. *Geochim Cosmochim Acta* 64:4049-4081
- Vainshtein M, Suzina N, Sorokin V (1997) A new type of magnet-sensitive inclusions in cells of photosynthetic bacteria. *Syst. Appl Microbiol* 20:182-186
- Vainshtein M, Suzina N, Kudryashova E, Ariskina E (2002) New magnet-sensitive structures in bacterial and archaeal cells. *Biol Cell* 94:29-35

