

<https://doi.org/10.46861/bmp.29.115>

PŮVODNÍ PRÁCE/ORIGINAL PAPER

Nepodceňujme mikrobiální precipitaci oxihydroxidů železa a manganu v životním prostředí

Let's not underestimate the microbial precipitation of iron and manganese oxyhydroxides in the environment

DALIBOR MATÝSEK¹⁾ A JAKUB JIRÁSEK^{2)*}

¹⁾Katedra geologického inženýrství, Hornicko-geologická fakulta, Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 17. listopadu 15/2172, 708 33 Ostrava-Poruba

²⁾Katedra geologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, 17. listopadu 1192/12, 771 46 Olomouc;

*e-mail: jakub.jirasek@upol.cz

Matýsek D, Jirásek J (2021) Nepodceňujme mikrobiální precipitaci oxihydroxidů železa a manganu v životním prostředí. Bull Mineral Petrolog 29(1): 115-123 ISSN 2570-7337

Abstract

Dolníček (2020) described several occurrences of bog iron (*limonite*), which according to his article originates in recent streams by chemical precipitation, without the important role of microorganisms on this process. However, similar occurrences of reddish or orange slime, frequently accompanied by oil-like films floating on the water, are according to many papers ascribed to the biogenic iron oxidation by bacteria. To solve the origin of such precipitates, we have sampled similar materials in four places near Ostrava - Hrabová, two close to Řepiště and Staříč, and also two sites in the vicinity of Hulín investigated by Dolníček (2020). In all cases, scanning electron microscopy of dried samples at the low vacuum (ca 50 Pa) revealed a dominant share of tubular sheaths of the *Leptothrix-Sphaerotilus* group of bacteria. The prevailing diameter of 1.5 to 1 µm should point to genus *Leptothrix*, while those with a diameter up to 2.5 µm (genus *Sphaerotilus*) are far less common. Spiral chains of *Gallionella* were recognized in all samples, as well as rare pennate diatoms. Space between bacterial filaments is predominantly filled with densely stacked particles micrometer to submicrometer in size, sometimes with oval, fibrous, or tabular shape. It might be both decomposed material of previously mentioned genera and some other small-sized bacteria. Energy-dispersive spectroscopy shows dominant content of iron and oxygen, with a minor admixture of Si, Ca, Al, and P. Powder X-ray diffraction of such microbial mats is showing clastic admixtures (quartz, feldspar group minerals, illite-muscovite, and kaolinite) and two broad low-intensity peaks of ferrihydrite. Only sample D from Řepiště locality shows an absence of ferrihydrite and the presence of hematite and magnetite and/or maghemite. Therefore, we demonstrated that bacterially-induced precipitation plays a major role in the genesis of such recent bog iron occurrences and there are ways how to characterize such material by both biological and mineralogical procedures.

Key words: biomineralization, bioreduction, Fe-oxidizing and Fe-reducing bacteria, ferrihydrite, bog iron

Obdrženo 18. 2. 2021; přijato 27. 5. 2021

Úvod

V loňském roce vyšel v tomto časopisu kratší příspěvek Dolníčka (2020), věnovaný recentní tvorbě železem bohatého precipitátu ve vodotečích v okolí Hulína. Uvedený autor produkt označuje jako *limonit* a v závěru konstatuje, že „výsledky nenasvědčují významnější roli mikroorganismů nebo organických látek“ při jeho srážení. Protože naše zkušenost s podobnými materiály hovoří ve prospěch jejich biogenního původu, rozhodli jsme se uspořádat pro české čtenáře přehled podobné mineralizace založený na zahraničních publikacích a dále poskytnout návod, jak postupovat při výzkumu podobných hmot.

Cílem předložené práce je tedy: 1) doplnit závěry z práce Dolníčka (2020) a nabídnout jejich alternativní interpretaci, 2) na odebraných vzorcích bakteriálních hmot charakterizovat jejich morfologii a fázového složení a 3) ověřit možnost použití nízkovakuové elektronové mikroskopie pro studium bakteriální biomineralizace.

Biomineralizace (se zvláštním zřetelem na oxidy a hydroxidy železa)

Definice pojmu biomineralizace (resp. biominerál) je z pohledu mineraloga poněkud kontroverzní. Běžně se totiž takto označuje proces vzniku (resp. výsledné produkty) minerálů nebo minerálních materiálů prostřednictvím organismů (např. Skinner, Erlich 2014). Minerály podle definice Mezinárodní mineralogické asociace ale nevznikají biologickou cestou (Nickel, Grise 1998). Takto se tvoří maximálně látky minerálům chemicky a strukturně ekvivalentní.

Mineralogické názvy nicméně mohou být k jejich označení používány, a to za podmínky, že je z popisu jasné, že je jedná o biologicky vzniklou látku. Problémy vznikají i tím, že se jedná o značně nehomogenní skupinu látek. Ne zcela všechny biominerály mají abioticky, přírodně vznikající mineralogické ekvivalenty a biominerály ani nemusí mít nutně definovanou krystalovou strukturu

(viz např. amorfni karbonát vápenatý, oktakalcium fosfát atd.). Poněkud odlišný přístup používá Klein (2006). Ten definuje minerály tak, aby definice byla akceptovatelná i pro látky vznikající biologickými procesy. Za minerál tento autor považuje pevnou látku s vysoce organizovaným uspořádáním atomů a definovaným, ale ne neměnným složením, která se vyskytuje v přírodě. Minerály jsou většinou produkty anorganických pochodů. I přes tyto drobné terminologické komplikace je biomineralizace extrémně významný a proto velmi detailně studovaný proces. Studium biomineralizace a geomikrobiologie vůbec může být i přes své hraniční postavení přínosné i pro mineralogii a geochemii. Například Skinner (2005) přímo uvádí, že „biominerály jsou podmožinou minerální říše, vytvářené živými tvory“.

Biomineralizaci, tj. tvorbu minerálům podobných látek, můžeme podle mechanismu vzniku rozdělit do dvou skupin (např. Dove et al. 2003): **biologicky organizovaná mineralizace (BOM)** - materiály nejrozličnějších kostí, schránek, lastur, ulit, ale například i krystalizaci magnetitu a sulfidů v tzv. magnetotaktických bakteriích atd.), kdy organizmus obvykle pomocí mechanismu nukleace na heterogenním substrátu přímo řídí tvorbu biomineralizované tkáně. Druhou skupinou je **biologicky indukovaná mineralizace (BIM)**, kdy organizmus svými životními funkcemi ovlivňuje okolní prostředí takovým způsobem, že to vede ke vzniku mineralizace. Sem je možné zařadit v dalším textu komentované projevy srážení biominerálů z vod, například vznik sraženin působením Fe a Mn oxidujících bakterií, srážení schwertmannitu nebo jarositu při bakteriální oxidaci sulfidů Fe atd. Odlišný přístup k rozdělení biominerálů použili na základě podrobného studia biomineralizace karbonátů Dupraz et al. (2009). Kromě BOM a BIM zavádějí také **biologicky ovlivněnou mineralizaci**. Autoři dále biologicky indukovanou a ovlivněnou biomineralizaci souhrnně označují jako **organomineralizaci**. Použití termínu biomineralizace tito autoři omezují pouze na BOM.

V současné době známe značně velký počet (zřejmě více než 100) biominerálů procházející celým mineralogickým systémem. Přehled 66 biominerálů, tedy biologicky vznikajících, a jejich variet uvádějí například Dove et al. (2003). Databáze minerálů RRUFF (2021) má u 1981 minerálů uveden biotický vznik. U 340-ti minerálů je uveden biologicky zprostředkovaný (biologically mediated) paragenetický mód, z toho 19 jako vedlejší (incidental) produkt. U 121 minerálů je uveden vznik jako biominerál, z toho u pěti jako přímý produkt biomineralizace.

Mělo by ale být vždy rozlišováno, zda se jedná o spontánně vzniklou mineralizaci v přírodních podmínkách nebo o produkt vzniklý v laboratorních podmínkách, například v kultuře na specifickém substrátu, občas exotického složení. Přehled biominerálů vznikajících bakteriálně při BIM uvádí například Heim (2011). Bakteriálním srážením oxidů a oxihydroxidů Mn se zabývali například Tebo et al. (2005).

Biomineralizace se zřetelem na oxidy a hydroxidy železa

Heim (2011) z oxidů a hydroxidů Fe v kategorii BIM uvádí: amorfni $\text{Fe}(\text{OH})_3$, goethit, lepidokrokít, ferrihydrit, hematit a magnetit. K nim je možné dále přiřadit oxihydroxidy Fe s doplňkovými anionty, tj. fougèrit (zelenou rez) a schwertmannit. Uváděn je i akaganeit (Lee et al. 2003).

Dolníček (2020) popisuje výskyty sraženin oxidů Fe ve vodotečích v oblasti Hulína a dává je do souvislosti

se vznikem tzv. bahenních železných rud. V tomto textu se můžeme dočíst, že ke srážení oxihydroxidů železa ve vodotečích dochází abioticky. Tvrzení je ale zcela v protikladu s velkým množstvím literárních údajů, kdy vznik rezavých, železem bohatých sraženin v močálech a vodotečích, občas doplněný také o olejovité povlaky na hladině, je považován za typický projev biomineralizace železo oxidujícími bakteriemi. Detailní studii o tomto problému uvádějí například Emerson, Revsbech (1994a,b) a Schieber, Glamoclija (in Schieber et al. 2007). Jedná se dost známou skutečnost, která pronikla dokonce i do populárně naučné literatury (viz např. návod pro odběr vzorků a jejich studium, Robbins, 2020).

Vznik rezavých sraženin v močálech je v literatuře (někdy až nekriticky) připisován dvěma druhům železo oxidujících bakterií. Jsou jimi *Leptothrix ochracea* a *Gallionella ferruginea*. Ve skutečnosti je Fe oxidujících bakterií mnohonásobně více, nejspíše desítky rodů, a jsou vázány na velmi různorodá prostředí. Dva uvedené druhy jsou ale nejznámější a jsou velmi snadno identifikovatelné alespoň na úrovni rodů. Dalšími zmiňovanými rody jsou například *Sphaerotilus*, *Crenotrix*, *Cladothrix*, *Clonothrix*, *Siderocapsa*, *Metallogenium*, *Naumannella*, *Siderocystis* (Ratajczak, Rzepa 2011; Ellis 1919). Na druhou stranu je potřeba uvést, že existuje i dosti široká skupina bakterií, která je schopná Fe oxidy a hydroxidy redukovat (např. Ebrahiminezhad et al. 2017).

Olejovité povlaky na hladině těsně souvisí s osidlením lokality Fe-oxidujícími bakteriemi. Je možné se o tom snadno přesvědčit stěrem z hladiny (jako např. Robbins 2020, tak i vlastní pozorování prvního z autorů), kdy se získá rezavý povlak na skle, který je vhodný k mikroskopování.

Hedrich et al. (2011) uvádějí rozdělení a základní charakteristiku Fe-oxidujících proteobakterií, kam jich většina spadá. Vyčleňují 1) acidofilní aerobní Fe-oxidující rody, kam patří například známé rody *Acidithiobacillus* a *Leptospirillum*, b) neutrofilní Fe-oxidující aerobní rody (*Gallionella*, *Leptothrix*); sem patří bakterie oxidující železo v povrchových vodách, c) neutrofilní Fe-oxidující proteobakterie, které respirují nitráty, a d) fototrofní Fe-oxidující proteobakterie.

Sladkovodní druhy neutrofilních Fe-oxidujících bakterií jsou řazeny do třídy β -proteobakterií. Obvykle osidlují ve vodách rozhraní mezi aerobním a anaerobním prostředím s přibližně neutrální hodnotou pH. Někdy bývá uváděno, že jsou mikroaerofilní a vyskytují se ve vodách se zvýšeným obsahem dvojmochného železa v rozpuštěné formě. Vlastní význam oxidace železa pro tuto skupinu bakterií není plně objasněn. Zatímco u rodu *Gallionella* je doložena disimilační oxidace Fe, u rodu *Leptothrix* tomu tak není (Hedrich et al. 2011). Zde může jít pouze o formu dekontaminace prostředí v okolí buněk (odstranění kyslíku), bez vlastního energetického užítku (Konhauser 1997, 2011, 2015). Jinak je uváděno, že rod *Leptothrix/Sphaerotilus* je striktně aerobní, respirující, chemoorganoheterotrofní (Spring 2006), rod *Gallionella* je patrně chemolitotrofní (Hanert 2006).

U rodu *Gallionella* jsou oxihydroxidy Fe pokrývány a inkrustovány velmi dlouhé, spirálovitě stočené bakteriální stopky (orig. twisted stalks). Vlastní bakteriální buňka má ledvinitý tvar, je umístěna na konci stopek a je jen obtížně pozorovatelná. Blízce příbuzné rody *Leptothrix*, *Sphaerotilus* a další vláknité rody patří k tzv. pochvatým bakteriím. Přesné určení je obtížné z důvodu potřeby kultivace. Detailní popisy druhů Fe-oxidujících bakterií uvádějí na-

příklad Ellis (1919), Pringsheim (1949) a van Veen et al. (1978). Ke srážení oxihydroxidů u vláknitých bakterií Fe a u některých druhů i Mn (např. *L. discophora*) dochází na slizovitých pochvách. Vlastní bakterie bývají oválné, mají velikost cca $1 \times 2 - 4 \mu\text{m}$ (*L. ochracea*), respektive $1.2 - 2.5 \times 1 - 10 \mu\text{m}$ pro rod *Sphaerotilus* (Spring 2006) a žijí uvnitř obalů. Bakteriální precipitací na obalech pak vznikají duté trubkovité, silně inkrustované útvary o délce až několik stovek μm a průměru $1 - 2 \mu\text{m}$. Je také uváděno, že bakteriální buňky u rodu *L. ochracea* plynule opouštějí pochvy rychlostí cca $1 - 2 \mu\text{m}/\text{min}$, čímž dochází k jejich protahování a vysvětluje se tím i skutečnost, že většina pochev bývá prázdných (Konhauser 2015). Dokumentaci tvaru inkrustovaných částí bakteriálních buněk a morfologické rysy mikrobiální hmoty uvádějí například Chan et al. (2016).

Co se týče fázového a chemického složení sráženin a inkrustací tvořených neutrofilními Fe-oxidujícími bakteriemi, tak ve většině publikací, které se touto problematikou zabývají, je uvedeno, že se jedná o ferrihydrit s velmi nízkým stupněm krystalinity - tj. tzv. ferrihydrit-2L. Jde o silně neuspořádanou fázi pouze se dvěma velmi širokými liniemi v difrakčním záznamu - například Konhauser (2015). Ferrihydrit inkrustuje slizovitá pouzdra (pochvy) a stopky v podobě submikrometrových, nepravidelně omezených, snad lístkovitých nebo laločnatých částic či agregátů (viz snímky z TEM: van Veen et al. 1978; Spring 2006). V řadě studií bývají obdobné, blíže neurčené oxihydroxidy Fe označovány i jako HFO (hydrous ferric oxides).

Vzácněji bývá z bakteriálních inkrustací uváděn i lepidokrit nebo goethit (např. Angelova et al. 2015; Nedkov et al. 2016). Je ale těžké posoudit, zda tyto fáze vznikají již primárně nebo se jedná o diagenetické transformační produkty metastabilního ferrihydritu. Na vznik, krystalinitu a stabilitu ferrihydritu budou mít značný vliv i adsorbované aniontové příměsi, především fosfáty, silikáty nebo i arzeničnany (viz např. Kinsela et al. 2016; Gálvez et al. 1999; Cornell et al. 1987). V řadě studií je dále dokládáno, že ferrihydrit přímo ovlivňuje chování celé řady iontů ve vodách. Kromě výše uvedených aniontů jde také o některé kationty, jako je vápník (např. Voegelin et al. 2010; Mikutta et al. 2010).

Je potřebné také kriticky uvést, že pochvy Fe-oxidujících bakterií mají značnou sorpční kapacitu i pro železo, a není proto možné zcela jednoznačně vyloučit v mikrobiální hmotě ani určitý podíl adsorbce Fe a následné abiotické precipitace (Schieber, Glamoclija in Schieber et al. 2007); Emerson, Revsbech (1994a) uvádějí ve vláknité mikrobiální mase kromě inkrustovaných vláken, respektive pochev, i variabilní podíl nestrukturovaných částic oxidů železa, které ale mohou pocházet z bakteriální destrukce (uvádějí přítomnost i neurčených bakteriálních konzumentů organického podílu) výše uvedených vláknitých inkrustací. Autoři odhadují počty buněk Fe oxidujících bakterií na $10^8 - 10^9/\text{cm}^3$ a rychlost sedimentace až na $3 \text{ mm}/\text{den}$. V laboratorní studii Emerson, Revsbech (1994b) odhadují, že $50 - 80 \%$ Fe je oxidováno bakteriálně.



Obr. 1 Terénní fotodokumentace studovaných výskytů železité biomineralizace. A - vtok melioračního kanálu do potoka (Ostrava-Hrabová, lokalita A), B - povlaky železité mineralizace na ponořených větvích (Ostrava-Hrabová, lokalita B), C - olejovité bakteriální povlaky na vodní hladině (Ostrava-Hrabová, lokalita C), D - biomineralizace v potoce Horní Dатыňka v lesním prostředí (Řepišťe, lokalita D). Fota D. Matýšek.

Chemické složení Fe-oxidických precipitátů, uváděné Dolníčkem (2020), je jistě přínosné a zajímavé, je potřebné ho ale hodnotit s ohledem na až extrémní adsorbční kapacitu těchto materiálů. Nejspíše se nejedná o kontaminaci, ale důsledek silné a do jisté míry i selektivní adsorbce. Například Heim et al. (2015) studovali adsorbci prvků včetně REE na precipitátech u dvou rodů Fe oxidujících bakterií (*Gallionella sp.* a *Mariprofundus sp.*). Zjistili 10^4 až 10^6 násobné nárůsty koncentrací prvků oproti koncentracím v médiu, nicméně nezjistili významnější rozdíly v adsorbci na biotické a abiotické Fe-oxihydroxidy. Distribuční křivky REE jsou dosti ploché a jsou přibližně srovnatelné s PAAS. Obdobně extrémně vysoké nárůsty koncentrací prvků včetně REE v precipitátech (rod *Gallionella*) oproti složení vod a geologických materiálů zjistili Anderson, Pedersen (2003). Stejní autoři pozorovali také mírné nabohacení středních a těžších REE oproti lehkým.

Těsný genetický vztah mezi recentními projevy bakteriální oxidace železa ve vodotečích a vznikem tzv. bahenních železných rud je mnoha autory předpokládán, je ale poněkud problematické ho jednoznačně dokázat. Důvodem jsou již zmíněné fázové a také strukturní postdepozitní diagenetické přeměny. U bahenních rud je všeobecně předpokládána spojitost s průsaky a prameny železem a organickými látkami bohatých vod, vznikajících v půdním profilu ve spojitosti s oglejením či podzolizací (viz např. monografie o bahenních rudách Fe; Ratajczak, Rzepa 2011). Například Hedrich et al. (2011) dávají do souvislosti s bakteriální oxidací železa nejen vznik bahenních rud, ale i prekambriických páskovaných Fe-rud (BIF).

Vzorky a metody studia

Výskyt oranžově zbarvených sraženin je ve vodotečích lokálně častý a v přírodních podmínkách signalizuje přítomnost podzemních vod se zvýšeným obsahem Fe v dvojmočné formě. Jedná se o oranžově zbarvené křovité hmoty (obr. 1b), pokrývající dno vodotečí, případně hromadící se v melioračních šachticích a v místech melioračních výpustí. Studované vzorky mikrobiálních hmot byly odebrány v prosinci 2020 z vodotečí a melioračních šachtic a výpustí v oblasti Ostravy - Hrabové a pro srovnání i z jiných oblastí Ostravska.

Srážení v bezejmenném potoku západně od městské části Hrabová se projevuje od ústí meliorační výpusti po délce minimálně 300 m. Při odběru bylo patrné, že v blízkosti ústí meliorace (obr. 1a) pokrývají sraženiny dno potoka ve vrstvě až 10 cm mocné. Dále po proudu se precipitace projevuje spíše jen jako povlak cca 2 - 3 cm mocný na ponořených větvích a vegetaci (vzorky A a B v tab. 1, obr. 1b). Některé meliorační šachtice v oblasti

Hrabové jsou vyplněny oranžově červenou sraženinou do až výšky cca 1 m (vzorek O v tab. 1). Na jedné z lokalit (močálovité území z. od rybníku Pilík v Hrabové, obr. 1c, C v tab. 1) bylo patrné, že výskyt a rozsah sraženin je ovlivňován i sezónně nebo klimaticky. Rozsah sraženin prosinci 2020 byl na lokalitě podstatně menší než v létě téhož roku. Geologicky leží území Hrabové v okrajové části údolní terasy řeky Ostravice, kde jsou štěrkovité sedimenty překryty povodňovými hlínami a deluviálními sedimenty. Další vzorek (E v tab. 1) pochází z katastru obce Staříč z močálovitého prameniště potoka Řepník (obr. 1e), jižně od kóty Okrouhlá.

Pro srovnání byl odebrán i vzorek z vodoteče tekoucí v lesním prostředí - potok Horní Datyňka v Řepištském lese (obr. 1d), východně od obce Řepiště (D v tab. 1). Vzorek z této lokality se poněkud odlišuje barvou - sraženiny v prameništní oblasti potoka jsou tmavě červenohnědé, jen lokálně na povrchu oranžové. Usušený vzorek byl černohnědý. Potok odvodňuje dosti rozsáhlou močálovitou oblast, jejíž podloží tvoří sprašové hlíny.

V lednu 2021 byly odebrány také dva vzorky z lokalit, popisovaných Dolníčkem (2020) v oblasti Hulína. Jeden ze vzorků reprezentuje rezavě zbarvený sediment ze středu regulovaného koryta Němčického potoka (X1 v tab. 1), druhý pak rezavě zbarvený povlak na spadacím listu v korytě Svinského potoka (X2 v tab. 1).

Vzorky byly odebírány do skleněných nádob a následně usušeny v miskách za laboratorní teploty. Povlak na listu (vzorek X2) nebyl nijak upravován, pouze usušen při pokojové teplotě.

Sledování detailní morfologie vzorků Fe-sraženin proběhlo na příčných lomných plochách usušených vzorků za použití autoemisního elektronového mikroskopu FEI Quanta-650 FEG od firmy FEI (Katedra geologického inženýrství VŠB - TU Ostrava). Z důvodu značné pórovitosti pokovování vzorků nedávalo uspokojivé výsledky, vzorky byly proto pozorovány bez nanesení vodivé vrstvy, při sníženém vakuu (50 Pa) a s relativně malým spotem (4 μm pro BSE, resp. 1.5 μm pro ETD detektor). Mikrofotografie byly pořízeny pomocí detektoru zpětně odražených elektronů (BSE) v režimu chemického gradientu, případně při velkém zvětšení také pomocí detektoru sekundárních elektronů (ETD detektor). Provedení kvalitních bodových elektronových mikroanalýz je u studovaných vzorků z důvodu extrémní nehomogenity a především velmi malých rozměrů agregátů bakteriálních precipitátů nereálné. Byly proto prováděny pouze orientační semikvantitativní EDS mikroanalýzy.

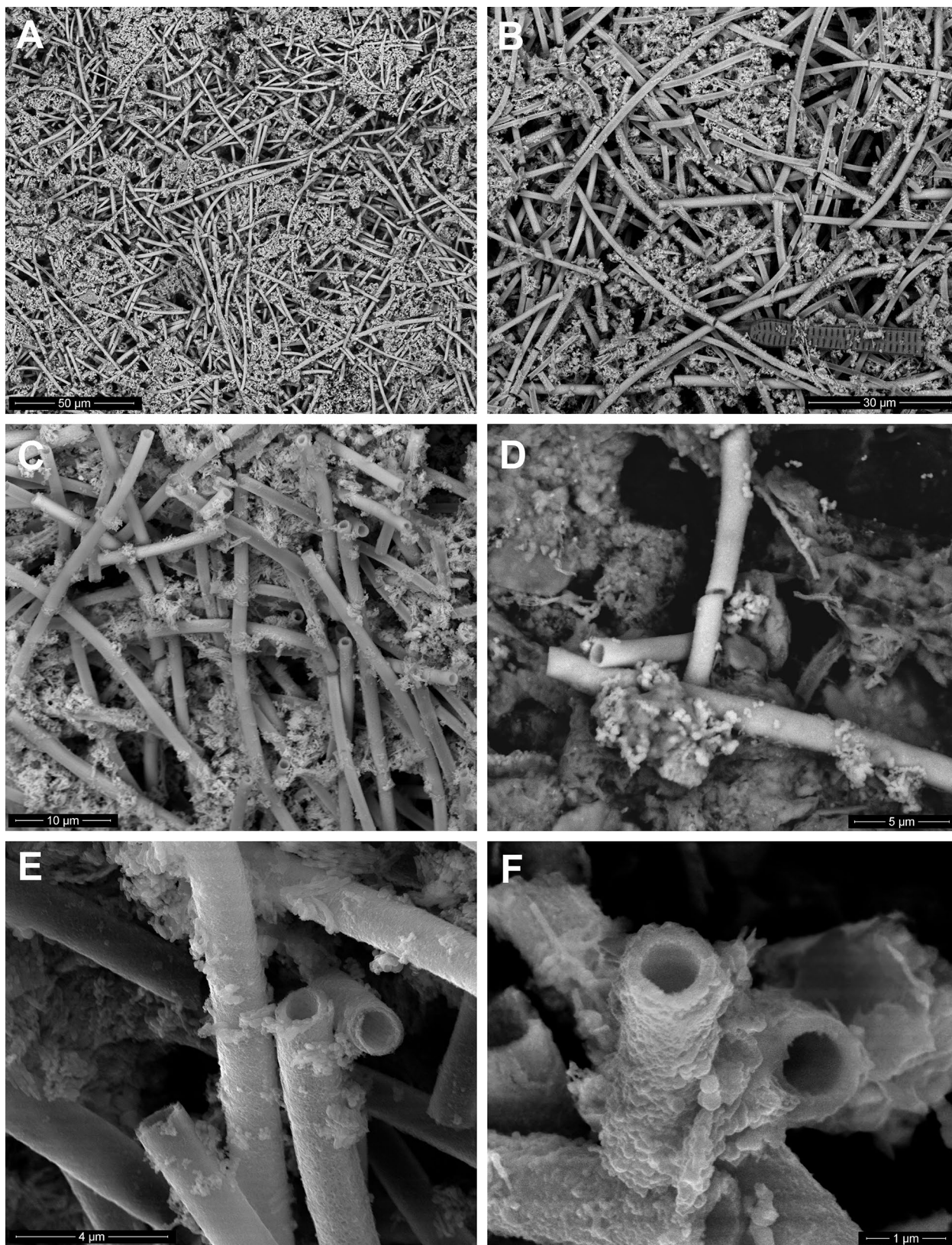
Práškové difrakční analýzy byly měřeny na přístroji Bruker-AXS D8 Advance (Katedra geologického inženýrství VŠB - TU Ostrava), pracujícího s $2\theta/\theta$ reflexní geo-

Tabulka 1 Označení a lokalizace zkoumaných vzorků

označení vzorku	lokalizace	vodoteč	GPS souřadnice	poznámka
A	Ostrava-Hrabová	bezejmenná	N 49° 45.641' E 18° 16.853'	u vtoku melioračního kanálu do potoka
B	Ostrava-Hrabová	bezejmenná	N 49° 45.746' E 18° 16.853'	cca 150 m po proudu od A
C	Ostrava-Hrabová	bezejmenná	N 49° 45.054' E 18° 16.918'	
D	Řepiště	Horní Datyňka	N 49° 43.860' E 18° 20.349'	
E	Staříč	Řepník	N 49° 40.526' E 18° 16.771'	prameniště potoka
O	Ostrava-Hrabová	---	N 49° 45.469' E 18° 16.940'	meliorační šachtice
X1	Hulín	Němčický potok	N 49° 18.816' E 17° 27.035'	
X2	Hulín	Svinský potok	N 49° 18.440' E 17° 26.445'	

metrií měření a s polovodičovým silicon strip detektorem LynxEye za podmínek: záření CuK α /Ni filtr, napětí 40 kV, proud 40 mA, krok 0.014° 2 θ , celkový čas na kroku 5 s. Pro ověření správnosti kvalitativního vyhodnocení byla

použita Rietveldova metoda v programu Topas v. 5. Pro ferrihydrit-2L byl použit strukturní model pro „defective ferrihydrite“ podle Jansen et al. (2002) a alternativně i Michel et al. (2007).



Obr. 2 Charakter biomineralizace s převládající železo oxidující bakterií rodu *Leptothrix* zobrazený pomocí zpětně odražených elektronů (A-D) a sekundárních elektronů (E, F) při různém zvětšení. A, B - Ostrava-Hrabová (lokalita A), C - Ostrava-Hrabová (lokalita O), D - Hulín (lokalita X2), E - Ostrava-Hrabová (lokalita O), F - Ostrava-Hrabová (lokalita C). Fota D. Matýsek.

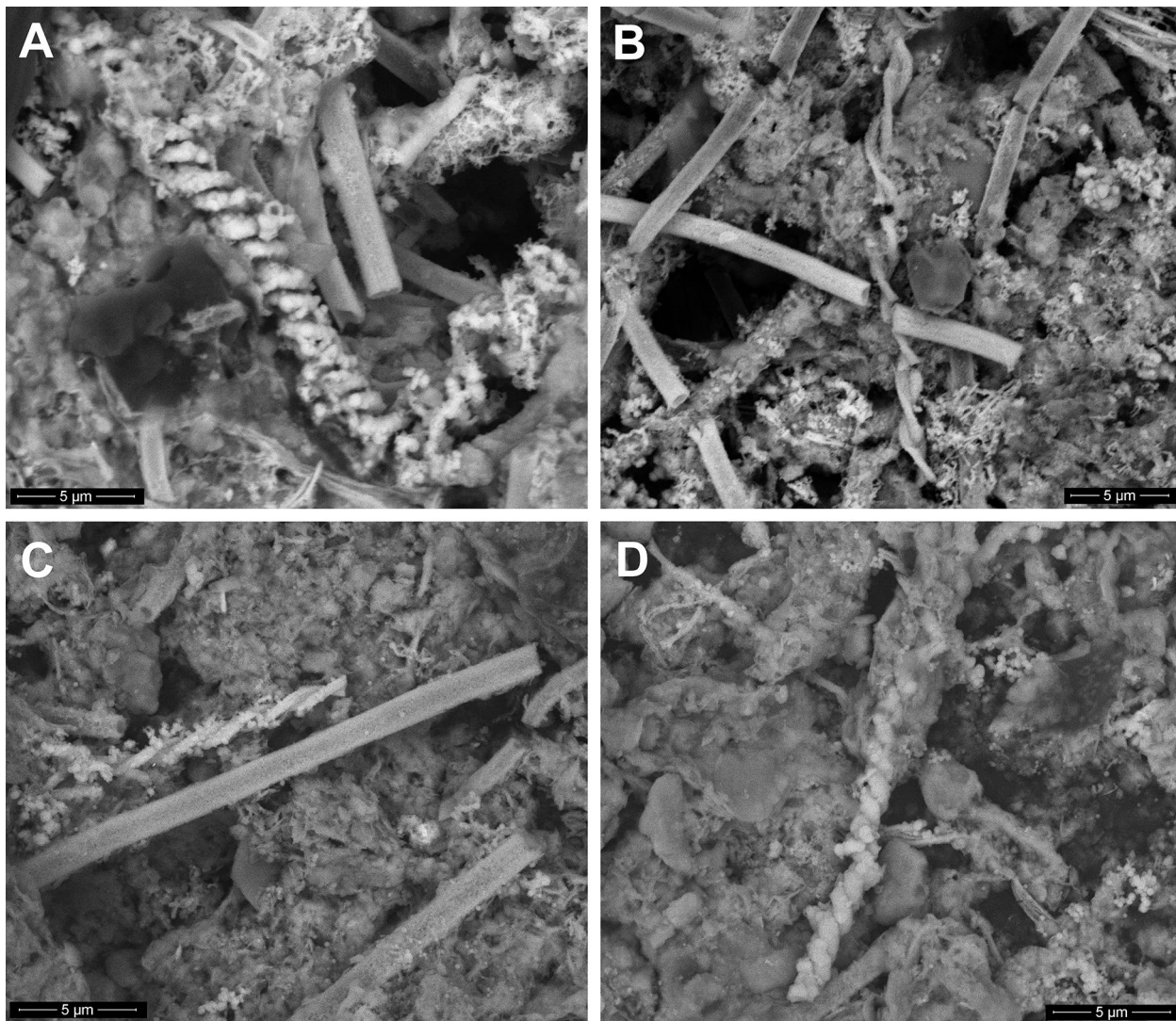
Výsledek studia

Bylo zjištěno, že vzorky železem bohatých sraženin se velmi snadno mikroskopují na přirozeně usušených vzorcích s použitím skenovací elektronové mikroskopie za sníženého vakua (cca 50 Pa). Vzorky pro toto studium není potřeba nijak upravovat a je možné rutinně využívat jak detektor odražených, tak při použití malých spotů i detektor sekundárních elektronů. Nanášení vodivých vrstev na mikroskopované preparáty pro studium za běžně používaných tlakových podmínek v SEM je obtížné a nedává dobré výsledky.

V SEM je patrné, že jednotlivé vzorky oranžově zbarvených precipitátů z povrchových vod se morfologicky neodlišují. Dominující složku (odhadem 50 až 80 %) tvoří duté trubkovité útvary o vnějším průměru 1 - 1.5 μm (pouze u vzorku B i max. 2.5 μm). Průměr vnitřních dutin bývá do 1 μm . Vnější stěna bývá většinou nerovná, obsahuje narostlé ledvinité povlaky, hrbolky nebo lístkovité útvary submikrometrových velikostí. Občas jsou pozorovatelné i několik μm silné povlaky tvořené z nalepených částic. Trubkovité útvary morfologicky jednoznačně odpovídají pochvám bakterií z rodu *Leptothrix*/

Sphaerotilus (obr. 2), přičemž podle velikostí převažuje *Leptothrix*, pouze u vzorku B je možné uvažovat o směsi obou. Mezi trubkovitými vlákny je uložena jen nevýrazně strukturovaná základní hmota, složená z hustě nahlučených mikrometrových až submikrometrových částic (obr. 2a-d), občas s náznaky oválného omezení nebo vláknitou či lístkovitou strukturou (obr. 2e,f). Tato strukturovaná základní hmota vykazuje mírnou variabilitu v odraznosti elektronů v BEI. Je pravděpodobné, že značná část základní hmoty mohla vzniknout rozpadem jak mikrobiálních trubkovitých obalů, tak dalších mikrobiálních složek. Není možné vyloučit, že část základní hmoty patří i jiným druhům bakterií s podstatně menší velikostí než je tomu u *Leptothrix*. Zachovaná spirálovitá vlákna (stopky) rodu *Gallionella* byla pozorována ve všech vzorcích (obr. 3), ale jen vzácně a obvykle ve vysokém stupni poškození. Jako příměs byly ve vzorcích pozorovány i nehojné penátní druhy rozsivek, například *Planothidium* sp.

Provádění přesných elektronových mikroanalýz je u obdobných vzorků z důvodu velikostí agregátů a jejich nehomogenity prakticky nemožné. Semikvantitativní EDS mikroanalýzy ukazují, že prakticky všechny slož-



Obr. 3 Spirálovitě stočené stopky železo oxidující bakterie rodu *Gallionella* doprovázené trubkovitými útvary náležejícími rodu *Leptothrix* zobrazené pomocí zpětně odražených elektronů. A - Ostrava-Hrabová (lokalita C), B - Staříč (lokalita E), C a D - Hulín (lokalita X2). Fota D. Matýšek.

ky (s výjimkou alotigenních) ve vzorcích vykazují dominantní podíly Fe v oxidické formě, v menších obsazích byl zjištěn Si, Ca, Al a P. Obsahy Ca mohou pocházet z kalcitu, vzniklého při odpařování vody při sušení vzorků a Al z příměsí jílových minerálů. Obsahy Mn jsou až na výjimky velmi nízké. Složení a morfologie jsou srovnatelné s výsledky Hashimoto et al. (2007). Uvádějí poměr Fe:Si:P rovný 80:15:5.

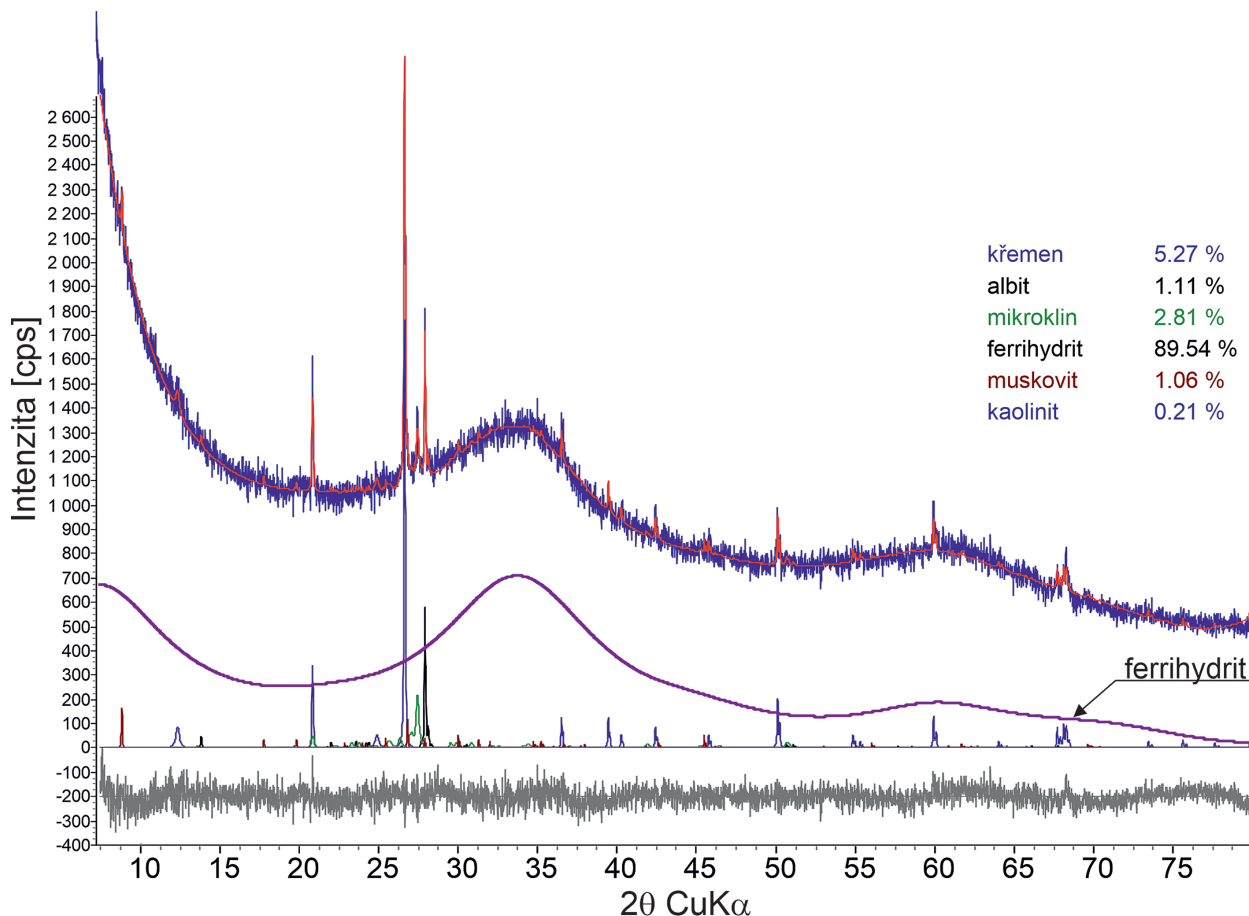
U vzorku D, který byl odebrán v lesním prostředí a odlišuje se tmavě hnědočervenou barvou, se bakteriální společenstvo zřejmě odlišuje. Dominující složkou vzorku jsou biogenní, převážně rostlinné částice. V SEM je patrné, že oxidy Fe tvoří po usušení tmel mezi nimi, který není možné morfologicky definovat.

S ohledem na difrakční charakteristiky ferrihydritu jsou jedinými dobře identifikovatelnými složkami záznamů minerály, pocházející z klastické příměsí (křemen, živce, v některých vzorcích také illit-muskovit a kaolinit). Ferrihydrit (-2L) se v práškovém difraktogramu obvykle ztrácí v pozadí, vytváří totiž pouze dvě velmi široká difrakční pásma s nízkou intenzitou (obr. 4). Poněkud odlišné složení vykazuje vzorek D, kde ferrihydrit prokazatelný není. Byla ale zjištěna zřetelná příměs hematitu a magnetitu/maghemitu. Oba oxidy jsou částečně separovatelné pomocí Nd magnetu. Na bakteriální, případně pedogenní vznik Fe-oxidů u tohoto vzorku ukazuje také dost nízký stupeň krystalinity obou oxidických fází (relativně velké pološířky difrakčních linií), respektive velikosti koherentně difraktujících domén).

Závěr

Rezavě zbarvené sraženiny, objevující v povrchových vodách v místech průsaku podzemních vod nebo v místech vypouštění vod z meliorací, jsou produktem biologicky indukované mineralizace Fe-oxidujících bakterií. Významně převažují vláknité (pochvaté) druhy z okruhu *Leptothrix/Sphaerotilus*, které vytvářejí duté trubkovité útvary o vnějším průměru kolem 1 μm a o délce ve stovkách μm . Stěny trubek jsou silně inkrustované ferrihydritem-2L. Ve sraženinách je přítomna i nestrukturovaná ferrihydritová hmota tvořená z částic pod 1 μm , která může vznikat rozpadem trubkovitých útvarů nebo i z jiných druhů Fe-oxidujících bakterií. Přímá souvislost mezi bakteriálními sraženinami a bahenními rudami železa není jednoznačně prokázána, je ale velmi pravděpodobná. Při diagenetických procesech dochází totiž k destrukci morfologických rysů bakteriálních struktur. S tím souvisí i konstatování Konhausera (2015), který uvádí, že je velmi těžké odlišit anorganickou mineralizaci a pasivní, biologicky vyvolanou mineralizaci. Jejich produkty jsou v podstatě stejné a samotná prostorová asociace mezi mikroorganizmy a oxidy železa (případně jinými biominerály) automaticky neznamená, že tyto minerály vznikly díky biologické aktivitě. Na druhou stranu je potřeba uvést, že v případě srážení oxihydroxidů železa bakteriemi rodu *Gallionella* a velmi pravděpodobně i *Leptothrix* se nejedná o pasivní proces.

Pro výzkum železem (příp. manganem) bohatých sraženin „podezřelých“ z biogenního původu doporučujeme



Obr. 4 Zpracovaný práškový rentgenový difrakční záznam precipitátu z lokality O s vyznačením obou širokých difrakčních pásem ferrihydritu-2L.

použit minimálně následující kroky: 1) vysušení vzorku, 2) charakterizaci fázového složení pomocí RTG difrakce, 3) ověření chemického složení precipitátu, například EDS, a 4) charakteristiku morfologie částic precipitátu pomocí elektronové mikroskopie, ideálně za sníženého vakua a bez nanášení vodivých vrstev.

Poděkování

Pro vznik tohoto článku byla použita technika získaná díky projektu LO1406 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR. Rádi bychom poděkovali prof. J. Majzlantovi a druhému (anonymnímu) recenzentovi za poznámky vedoucí ke zvýšení kvality rukopisu.

Literatura

- ANDERSON CT, PEDERSEN K (2003) *In situ* growth of *Gallionella* biofilms and partitioning of lanthanides and actinides between biological material and ferric oxyhydroxides. *Geobiology* 1(2): 169-178
- ANGELOVA R, GROUDEVA V, SLAVOV L, ILIEV M, NEDKOV I, SZIKLAI-LÁSZLÓ I, KREZHOV K (2015) Investigation of iron-containing products from natural and laboratory cultivated *Sphaerotilus-Leptothrix* bacteria. *J Biol Phys* 41(4): 367-375
- CORNELL RM, GIOVANOLI R, SCHINDLER PW (1987) Effect of silicate species on the transformation of ferrihydrite into goethite and hematite in alkaline media. *Clay Clay Miner* 35(1): 21-28
- DOLNÍČEK Z (2020) Recentní vznik limonitové bahenní železné rudy v Hulíně (niva řeky Moravy). *Bull Mineral Petrolog* 28(2): 412-416
- DOVE PM, DE YOREO JJ, WEINER S EDS (2003) Biomineralization. *Rev Mineral Geochem* 54: 1-381
- DUPRAZ C, REID PR, BRAISSANT O, DECHO AW, NORMAN RS, VISSCHER PT (2009) Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats. *Earth-Sci Rev* 96(3): 141-162
- ELLIS D (1919) *Iron bacteria*. 1-179, Methuen and Co., Ltd. London
- EBRAHIMNEZHAD A, MANAFI Z, BERENJIAN A, KIANPOUR S, GHASEMI Y (2017) Iron-reducing bacteria and iron nanostructures. *J Adv Med Sci Appl Tech* 3(1): 9-16
- EMERSON D, REVSBECH NP (1994a): Investigation of an iron-oxidizing microbial mat community located near Aarhus, Denmark: field studies. *Appl Environ Microb* 60(11): 4022-4031
- EMERSON D, REVSBECH NP (1994b) Investigation of an iron-oxidizing microbial mat community located near Aarhus, Denmark: laboratory studies. *Appl Environ Microb* 60(11): 4032-4038
- GÁLVEZ N, BARRÓN V, TORRENT J (1999) Effect of phosphate on the crystallization of hematite, goethite, and lepidocrocite from ferrihydrite. *Clay Clay Miner* 47(3): 304-311
- HANERT HH (2006) The Genus *Gallionella*. In Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E (eds.) *The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria*, 3rd edition, Vol 7: Proteobacteria: Delta and Epsilon Subclasses, Deeply rooting bacteria. 990-995, Springer, Singapore
- HASHIMOTO H, YOKOYAMA S, ASAOKA H, KUSANO Y, IKEDA Y, SENO M, TAKADA J, FUJII T, AKANISHI M, MURAKAMI R (2007) Characteristics of hollow microtubes consisting of amorphous iron oxide nanoparticles produced by iron oxidizing bacteria, *Leptothrix ochracea*. *J Magn Mater* 310(2): 2405-2407
- HEDRICH S, SCHLOMANN M, JOHNSON DB (2011) The iron-oxidizing proteobacteria. *Microbiology* 157(6): 1551-1564
- HEIM C (2011) Microbial biomineralization. In Reitner J, Thiel V (eds.) *Encyclopedia of Geobiology*: 586-592. Springer, Dordrecht
- HEIM C, SIMON K, IONESCU D, REIMER A, DEBEER D, QUÉRIC N-V, REITNER J, THIEL V (2015) Assessing the utility of trace and rare earth elements as biosignatures in microbial iron oxyhydroxides. *Front Earth Sci* 3: 1-15
- CHAN CS, McALLISTER SM, LEAVITT AH, GLAZER BT, KREPSKI ST, EMERSON D (2016) The architecture of iron microbial mats reflects the adaptation of chemolithotrophic iron oxidation in freshwater and marine environments. *Front Microbiol* 7: 1-18
- JANSEN E, KYEK A, SCHÄFER W, SCHWERTMANN U (2002) The structure of six-line ferrihydrite. *Appl Phys A-Mater* 74: s1004-s1006
- KINSELA AS, JONES AM, BLIGH MW, PHAM AN, COLLINS RN, HARRISON JJ, WILSHER KL, PAYNE TE, WAITE TD (2016) Influence of dissolved silicate on rates of Fe(II) oxidation. *Environ Sci Technol* 50: 11663-11671
- KLEIN C (2006) *Manual of mineral science*, 22nd ed. 1-644, Wiley a Sons, New York
- KONHAUSER KO (1997) Bacterial iron biomineralisation in nature. *FEMS Microbiol Rev* 20(3-4): 315-326
- KONHAUSER KO, KAPPLER A, RODEN EE (2011) Iron in microbial metabolisms. *Elements* 7: 89-93
- KONHAUSER K (2015) *Základy geomikrobiologie*. 1-317, Univerzita Komenského v Bratislavě, Bratislava
- LEE SH, LEE I, ROH Y (2003) Biomineralization of a poorly crystalline Fe(III) oxide, akaganeite, by an anaerobic Fe(III)-reducing bacterium (*Shewanella alga*) isolated from marine environment. *Geosci J* 7(3): 217-226
- MICHEL FM, EHM L, ANTAO SM, LEE PL, CHUPAS PJ, LIU G, STRONGIN DR, SCHOONEN MA, PHILLIPS BL, PARISE JB (2007) The structure of ferrihydrite, a nanocrystalline material. *Science* 316(5832): 1726-1729
- MIKUTTA CH, FROMMER J, VOEGELIN A, KAEGI R, KRETSCHMAR R (2010) Effect of citrate on the local Fe coordination in ferrihydrite, arsenate binding, and ternary arsenate complex formation. *Geochim Cosmochim Acta* 74(19): 5574-5592
- NEDKOV I, SLAVOV L, ANGELOVA R, BLAGOEV B, KOVACHEVA D, ABRASHEV MV, ILIEV M, GROUDEVA V (2016) Biogenic nano-sized iron oxides obtained from cultivation of iron bacteria from the genus *Leptothrix*. *J Biol Phys* 42(4): 587-600
- NICKEL EH, GRICE JD (1998) The IMA Commission on New Minerals and Mineral Names: procedures and guidelines on mineral nomenclature, 1998. *Mineral Petrol* 64: 237-263
- PRINGSHEIM EG (1949) The filamentous bacteria *Sphaerotilus*, *Leptothrix*, *Cladothrix*, and their relation to iron and manganese. *Philos T R Soc B* 233(605): 453-482
- RATAJCZAK T, RZEPA G (2011) *Polskie rudy darniowe*. 1-369, Wydawnictwa AGH, Kraków
- ROBBINS N (2020) What's the red in the water? What's the black on the rocks? What's the oil on the surface? How to collect and see the microbial community that fixes iron and manganese in the natural environment. U.S. Geological Survey, přístup 17. ledna 2021 na adrese <https://pubs.usgs.gov/gip/microbes/>
- RRUFF DATABASE (2020) Přístup 18. ledna 2021 na adrese <https://rruff.info/ima>

- SCHIEBER J, GLAMOCLIJAJA M (2007) 8(a): Microbial mats built by iron bacteria: a modern example from southern Indiana. In: Schieber J, Bose P, Eriksson PG, Banerjee S, Sarkar S, Altermann W, Catuneanu O (eds.) Atlas of microbial mat features preserved within the siliciclastic rock record. Atlases in geoscience, Vol 2. 233-245, Elsevier Science, Amsterdam
- SKINNER HCW (2005) Biominerals. Mineral Mag 69(5): 621-641
- SKINNER HCW, EHRLICH H (2014) 10.4 - Biomineralization. In: Karl MD, Schlesinger WH (eds.) Treatise on Geochemistry, 2nd edition, Vol 10. 105-162, Elsevier Science, Amsterdam
- SPRING S (2006) The Genera *Leptothrix* and *Sphaerotilus*. In Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E (eds.) The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria, 3rd edition, Vol 5: Proteobacteria: Alpha and Beta Subclasses: 758-777, Springer, Singapore
- TEBO BM, JOHNSON HA, MCCARTHY JK, TEMPLETON AS (2005) Geomicrobiology of manganese(II) oxidation. Trends Microbiol 13(9): 421-428
- VAN VEEN WL, MULDER EG, DEINEMA MH (1978) The *Sphaerotilus-Leptothrix* group of bacteria. Microbiol Rev 42(2): 329-356
- VOEGELIN A, KAEGI R, FROMMER J, VANTELON D, HUG SJ (2010) Effect of phosphate, silicate, and Ca on Fe(III)-precipitates formed in aerated Fe(II)- and As(III)-containing water studied by X-ray absorption spectroscopy. Geochim Cosmochim Acta 74(1): 164-186