

NITRIFIKAATIOBAKTEERIEN TOIMINTA

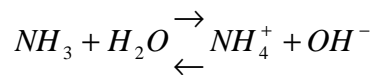
Ville Kivisalmi

Typen kiertoon maa- ja vesiekosysteemeissä osallistuvat bakteerit ovat pääasiassa autotrofeja kemolitotrofeja, jotka saavat energiansa epäorgaanisten aineiden hapetuksesta. Nitrifikaatio on kaksivaiheinen prosessi, jonka molempiin vaiheisiin ottavat osaa eri bakteeriryhmät. Ensimmäisessä vaiheessa ammoniakki hapetetaan entsyymien katalysoimana nitriitiksi ja toisessa vaiheessa nitriitti hapetetaan nitraatiksi. Nitrifikaatiolla on ympäristöä happamoittava vaikutus.

Maan ilmakehässä on typpeä noin 78 V-%. Suuri osa Maan tyypestä on kuitenkin sitoutuneena biomassaan, jossa typpi kiertää eri trofiatasojen välillä erilaisina yhdisteinä. Kokonaisuudessaan typpi siirtyy eliöistä maaperään, ilmakehään, jälleen takaisin maaperään ja vesistöihin ja edelleen eliöihin. Tärkeä osa typen kierrossa on mikrobisilmukka, jossa typpiyhdisteitä energianlähteenään käyttävät bakteerit käyttävät ravintonaan yhdisteitä, joissa typpi esiintyy eri hapetusasteilla. Typpiyhdisteistä vapautuvat elektronit ottavat osaa elektroninsiirtoketjuun ja elektronivirta saa aikaan membraanipotentiaalilin sekä protonigradientin, jonka avulla voidaan syntetisoida ATP:a.

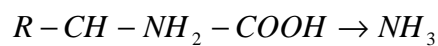
Ammonifikaatio

Bakteerien katalysoimaa typpiyhdisteiden aerobista hapetusta kutsutaan nitrifikaatioksi. Ennen nitrifikaatiota tapahtuu kuitenkin ammonifikaatio, jossa orgaanisiin molekyyliin sitoutunut typpi vapautuu ympäristöön ammoniakkina bakteerien hapetustoiminnan tuloksena. Vesiliuoksessa ammoniakkin ja ammoniumionien välillä vallitsee tasapaino.



Ammoniakin suhteellinen osuus kasvaa pH-arvon kasvaessa. Neutraalissa ympäristössä ammoniakkimolekyylejä ja ammoniumioneja on suhteellisesti yhtä paljon.

Typpeä on sitoutunut biomassassa pääasiallisesti nukleiinihappoihin ja proteiinien aminohappoihin. Näiden biomolekyylien hajotessa välituotteina syntyy erilaisia orgaanisia typpiyhdisteitä kuten ureaa. Ammonifikaation lopputuotteena vapautuu ammoniakkia.



Nitrifikaation ensimmäinen vaihe

Ammonifikaation jälkeen alkaa nitrifikaatio, joka on kaksivaiheinen reaktio.

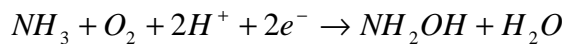


Reaktion edetessä typpiyhdisteiden toksisuus vähenee, mikä perustuu hapetusluvun kasvamiseen (Ruostesuo, 2003.). Nitrifikaatio on hapetusreaktio, jossa typen hapetusluku kasvaa -3:sta +5:een. Nitriitin ja ammoniakin hapettaminen on huomattava bioreaktio, sillä nitriitti ja ammoniakki ovat pieninäkin pitoisuuksina erittäin toksisia. Nitrifioivat bakteerit kykenevät kuitenkin käyttämään nitriittiä ja ammoniakkia energianlähteenään.

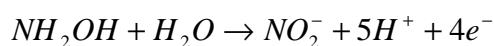
Molemmassa nitrifikaation vaiheissa toimivat bakteerit ovat obligatorisia kemolitotrofeja (Gottschalk, 1979). Ammoniakkia hapettavat nitriitiksi tunnetusti

sukuihin *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* ja *Nitrosococcus* kuuluvat bakteerilajit (Virginia Polytechnic Institute and State University).

Nitrifikaatiossa ensimmäisessä vaiheessa toimivat bakteerit hapettavat ammoniakkin hydroksyyliamiiniksi, jolloin sivutuotteena kondensoituu vettä.



Reaktiota katalysoi ammoniummono-oksygenaasientsyymi, joka toimii solumembraanissa integraaliproteiinina sytoplasman ja periplasmisen tilan välillä. Hydroksyyliamiinioksidoreduktaasientsyymi hapettaa ammoniummono-oksygenaasin katalysoimaa hydroksyyliamiinia nitriitiksi. Hydroksyyliamiinioksidoreduktaasi on bakteerien solumembraanin ulkopuolella toimiva periplasminen proteiini (Madigan ym, 2003.).

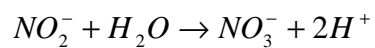


Hydroksyyliamiinioksidoreduktaasi vapauttaa samalla neljä elektronia. Seuraavaksi tarvitaan ulkopuolisia elektroneja sekä kaksi protonia pelkistämään happimolekyyli vedeksi. Käytettävät elektronit ovat peräisin hydroksyyliamiinin hapetuksesta. Ammoniummono-oksygenaasi saa nämä elektronit hydroksyyliamiinioksidoreduktaasilta, joka on luovuttanut elektronit ensin sytokromi-c:lle ja 2,3,-dimetoksi-5-metyyli-1,4-bentsokinonille (ubikinoni l. koentsyymi-Q). (Madigan ym, 2003) Sytokromit ovat proteiinin ja rautaporfyriinin muodostamia yhdisteitä, jotka toimivat solujen energiametaboliassa hapetus-pelkistysentsyymeinä ja ubikinonit toimivat elektronin kuljettajina soluhengityksessä tapahtuvassa elektroninsiirtoketjussa (Tirri ym, 2001). Edellä kuvatun reaktion vuoksi jokaisesta

ammoniakin hapetuksella tuotetusta neljästä elektronista vain kaksi päätyy lopullisesti sytokromi-aa₃:lle solumembraanille. Näiden elektronien avulla siirretään kaksi protonia solun ulkopuolelle periplasmiseen tilaan.

Nitrifikaation toinen vaihe

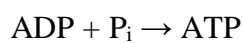
Nitrifikaation toisessa vaiheessa nitriittiä hapettavat nitraatiksi *Nitrobacter*-, *Nitrospina* ja *Nitrococcus*-sukuihin kuuluvat bakteerilajit (Virginia Polytechnic Institute and State University). Nitriittiä hapettaa nitraatiksi nitriittioksidoreduktaasientsyymi.



Myös nitriittiä hapettavilla bakteereilla on sytokromi-a ja sytokromi-c.

Nitriitinhapetusreaktiossa syntyy protoneja, jotka siirtyvät lopulta sytokromi-aa₃:lle, joka siirtää jälleen protoneja solun periplasmiseen tilaan aiheuttaen protonigradientin.

Sytoplasman ATPaasi saa aikaan ATP-synteesin, jossa kulutetaan periplasmiseen tilaan siirrettyjä protoneja. ADP:iin liittyy epäorgaanista fosforia, jolloin solu saa ATP:a käyttöönsä. (Madigan ym, 2003)

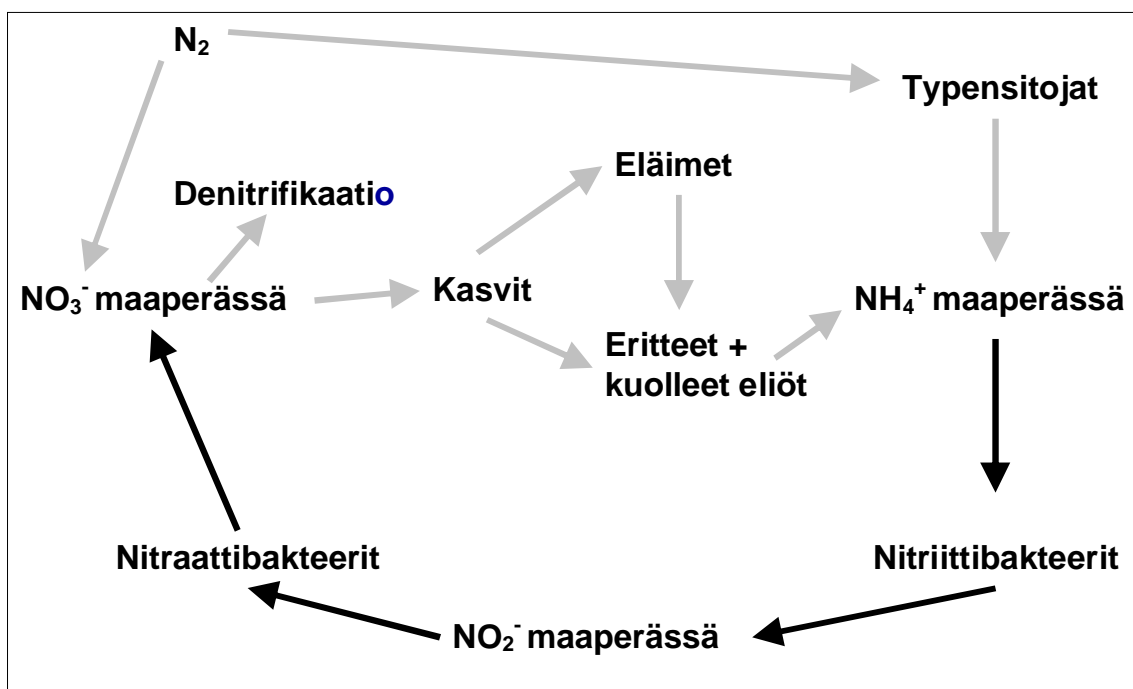


Molemmat nitrifikaatioon osallistuvat bakteeriryhmät käyttävät hiilen lähteenään hiilidioksidia. Nitrifikaatiolle optimaaliset pH-olosuhteet ovat $pH \geq 7,0$, mikä johtuu reaktiota katalysoivan entsyymin optimaalisesta pH-arvosta. Nitrifikaatiossa syntyy metaboliatuotteena oksoniumioneja muodostavia vetyioneja. Nitrifikaatiolla on siis ympäristöä happamoittava vaikutus. Eliöiden metaboliatuotteet inhiboivat suurina pitoisuuksina eliöiden kasvua. Ammoniakkia hapettaville bakteerilajeille optimaalinen ympäristön pH-arvo on 7,5-8,0 ja *Nitrobacter*-lajeille 7,6-7,8. Tehokkaimmillaan

nitrifikaatio on 30 °C –lämpöisessä ympäristössä, jossa hiiltä on 20 kertaa enemmän kuin typpeä. (Virginia Polytechnic Institute and State University) On havaittu myös, että kohonnut hiilidioksidipitoisuus lisää nitrifikaatioaktiivisuutta . Kohonnut hiilidioksidipitoisuus on merkki mikrobiaktiivisuudesta ja hiilidioksidipitoisessa maassa on havaittu nitrifikaation toimivan useita kertoja aktiivisemmin kuin ympäristössä, jossa hiilidioksidipitoisuus on alhaisempi. (Azam, F. ym. 2004)

Nitrifikaation ekologinen merkitys

Nitrifikaatiolla on tärkeä ekologinen merkitys typen kierron kannalta maa- ja vesiekosysteemissä. Typpi sitoutuu biomassaan ja vapautuu eliöiden kuollessa epäorgaaniseksi typeksi. Tässä kierrossa bakteeritoiminta on avainasemassa. Typen kiertokulkua voidaan verrata ravintoketjun kaltaiseen tapahtumasarjaan, joka esitetään kuvassa 1.



Kuva 1. Typen kiertokulku luonnossa. Varsinainen nitrifikaatio esitetään kuvassa mustilla nuolilla.

Kirjallisuus

Azam, F. ym. 2004. Effect of CO₂ on nitrification and immobilization of NH₄⁺-N.

Gottschalk, G. 1979. Bacterial Metabolism. Springer Verlag. New York. S. 281

Madigan, M.T. ym. 2003. Brock Biology of Microorganisms. 10. painos. Prentice Hall International Inc. USA. S. 1019

Ruostesuo, P. 2003. Orgaaninen kemia. Luentomuistiinpano Espoon-Vantaan teknillisessä ammattikorkeakoulussa keväällä 2003.

Tirri, R., Lehtonen, J., Lemmetyinen, R., Pihakaski S., Portin P. 2001. Biologian sanakirja. Keuruu. S. 884

Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA 24061.

Environmental Microbiology: http://soils1.cses.vt.edu/CH/biol_4684/index.html

Viitattu 17.1.2005.