

І. А. Ковальчук, О. О. Хлопась,
член-кореспондент НАН України Б. Ю. Корнілович, П. І. Гвоздяк,
О. Л. Маковецький

Очищення урановмісних підземних вод мікробіологічним методом

Вивчено процеси мікробного відновлення урану в забруднених підземних водах та встановлено ефективність використання для цього природних культур бактерій, взятих з радіоактивно забруднених місць. Отримані результати підтверджують доцільність застосування технології проникних реакційних бар'єрів із залученням природного мікробіоценозу для запобігання забрудненню підземних вод у районі зберігання відходів уранового виробництва в м. Жовті Води.

Забруднення навколишнього середовища сполуками урану в місцях видобутку та перероблення уранової сировини є загально визнаною екологічною проблемою, що потребує невідкладного розв'язку [1–3].

Останнім часом значного розвитку в практиці охорони підземних вод від техногенного забруднення набули так звані реакційноздатні проникні бар'єри, що встановлюються безпосередньо в ґрунті на шляху підземних потоків, містять в активній зоні різноманітні поглинальні реагенти та забезпечують таким чином селективне вилучення небезпечних речовин [4]. Одним з найперспективніших підходів при очищенні вод, забруднених важкими металами або ураном, зокрема з використанням реакційноздатних проникних бар'єрів, є застосування мікробіологічних методів, що забезпечують вилучення токсикантів за рахунок біосорбції, біоаккумуляції, осадження за реакціями з неорганічними лігандами або мікробного відновлення розчинених металів.

Відновна реакція $UO_2^{2+} \rightarrow U^{4+}$, що зумовлена наявністю в природних системах як відновлювачів неорганічних речовин або відповідних мікроорганізмів, відіграє визначальну роль у геобіохімічній поведінці урану в навколишньому середовищі, внаслідок значної розчинності у водних розчинах сполук U(VI) та низької розчинності сполук U(IV). У важливіший для геохімії урану природній асоціації уран — залізо окисно-відновний потенціал реакції U(VI)/U(IV) є більш електропозитивним, ніж реакції Fe^{3+}/Fe^{2+} . Тому Fe(III)-відновні бактерії (*Shewanella putrefaciens* або *Geobacter metallireducens*) мають потужніший метаболічний потенціал до відновлення цього радіонукліда за ферментативним механізмом або за реакцією з Fe(II), що утворюється при бактеріальному відновлюванні Fe(III). Сульфат-редуючі бактерії (*Desulfovibrio desulfuricans* та *Desulfovibrio vulgaris*) також здатні відновлювати уран за ферментативним механізмом [5, 6].

У відкритих системах, до яких належать й реакційноздатні проникні бар'єри, найбільш ефективним при мікробіологічному підході є використання як активного завантаження змішаних культур сульфатредуючих бактерій саме з місць, що підлягають ремедіації [7, 8]. Це зумовлено тим, що такі культури вже адаптовані до умов забрудненого довкілля, зокрема до іонів важких металів і радіонуклідів, менше піддаються контамінуванню іншими мікроорганізмами, які здатні до більш повного окиснення джерел вуглецю з утворенням

потужнішого відновного потенціалу, необхідного для перетворення шестивалентного урану до чотиривалентного [8, 9]. Тому розвиток саме такого підходу, що включає вивчення можливості ефективного використання біоредукторів на основі місцевого біоконсорціуму з одного із забруднених ураном районів України (Жовті Води) для очищення урановмісних підземних вод, є метою даної роботи.

Донні відкладення р. Жовта біля хвостосховища уранових відходів (Жовті Води) обрали нами як джерела культури змішаних бактерій. Консорціум аборигенних культур бактерій культивували впродовж чотирьох тижнів у поживному середовищі з відомим складом Postgate C [10]. Для зниження слідових кількостей залишкового кисню в систему додавали цистеїн, а як редокс-індикатор використовували резазурин. Значення рН (~7,5) корегували 50%-м NaOH.

У порівняльних експериментах як джерело матеріалу для посіву використовували активний мул, отриманий з Бортницької станції аерації (Київ). Осад було тричі ретельно промито дистильованою водою та одразу перенесено до ємностей, які вже містили поживне середовище й уран.

Класичні методи мікробіологічного аналізу (світлова мікроскопія, фарбування за Грамом, наявність капсул, джгутиків, тип рухливості, ріст на активних середовищах, виділення газу, його склад тощо [11–13]) дають підстави стверджувати, що в мулі з дна р. Жовта присутні бактерії родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Alteromonas*, *Desulfovibrio*, *Desulfosarcina* та ін., а в іммобілізованому на волокнистому носіїві “ВІЯ”, активному мулі Бортницької станції аерації (Київ) наявні денітрифікатори, ANAMMOX-бактерії, Fe(III)-відновні й сульфатредуючі бактерії, ацето- й метаногени.

За реактор використовували прозору плексигласову колонку (заввишки 30 см, внутрішній діаметр 8 см), яку в першому досліді заповнювали кварцовим піском та селективною культурою бактерій, що були рівномірно розподілені в піску. В другому — інертне завантаження колонки містило кварцовий пісок із рівномірно розподіленим розпушеним органічним полімерним волокном “ВІЯ”. Полімерне волокно додавали до інертного завантаження, щоб забезпечити кращі умови для іммобілізації анаеробних бактерій в неорганічному кварцовому середовищі. В третьому — колонку заповнювали кварцовим піском з органічним волокном “ВІЯ”, розташованим лише в нижніх шарах інертного матеріалу. Після завантаження інертного неорганічного матеріалу та асоціації бактеріальних культур через колонки пропустили кілька об’ємів пор звільненої від кисню води для забезпечення повного вилучення кисню перед додаванням досліджуваного розчину. В четвертому — використовували асоціацію аборигенних мікроорганізмів й активного мулу, а також кварцовий пісок як інертне завантаження.

У ході дослідів брали підземну воду з району хвостосховища відходів уранового виробництва (Жовті Води). Хімічний склад підземної води визначали у мг/дм³ (рН 7,4):

Складова: Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ + K⁺, NH₄⁺, CO₃²⁻, HCO₃⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, NO₂⁻;
концентрація: 576, 209, 370,4, 0,75, 0, 402, 213, 2189, 49, 0 відповідно.
Складова: U_{заг}, Ni²⁺, Cu²⁺, Co_{заг}, Mn_{заг}, Zn²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Fe_{заг}, мінералізація;
концентрація: 4,0, <0,05, <0,033, <0,06, 0,104, <0,01, <0,19, <0,013, 0,05, 4007 відповідно.

Зразки води барботували азотом для видалення розчиненого кисню і потім використовували для приготування вихідного розчину з концентрацією урану — 10 мг/дм³ (розчиняли сіль UO₂SO₄ · 3H₂O). У розчин також додавали дріжджі та цистеїн у концентрації 1 г/дм³.

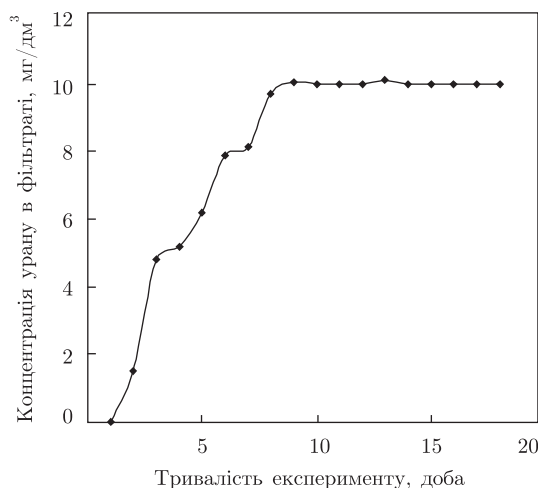


Рис. 1. Зміна концентрації урану в фільтраті в процесі біологічного очищення без додавання цистеїну та дріжджів

Вихідний розчин пропускали через завантаження колонки знизу вгору за допомогою перистальтичного насоса зі швидкістю $50 \text{ см}^3/\text{год}$. Усі експерименти з відновлення урану проводили за анаеробних умов у темряві при кімнатній температурі ($18\text{--}20 \text{ }^\circ\text{C}$). Після закінчення експериментів визначення розподілу U(VI) у завантаженні колонки проводили методом вилуговування. Весь реакційний матеріал з кожної колонки вибирали пошарово (висота шару 1 см) і потім обробляли азотною кислотою. Аналізуючи розчин після вилуговування, визначали вміст урану в кожному шарі. Концентрацію урану в зразках води та в розчинах після вилуговування встановлювали спектрофотометрично за відомими методами з Арсеназо III при $\lambda = 665 \text{ нм}$.

У першому досліді мікробне відновлення урану за участі сульфатредукуючих бактерій було здійснено без додавання цистеїну та дріжджів. За таких умов вміст урану в фільтраті в першу добу експерименту був низьким, що свідчило про ефективність процесу відновлення, але в подальшому спостерігалось зростання концентрації урану в фільтраті до її рівня у вихідному розчині (рис. 1).

Практично повне вилучення U(VI) при біостимулюванні спостерігали у другому й третьому досліді (з полімерним волокном "ВІЯ", розподіленим по всьому об'єму та лише у нижніх шарах колонки) (рис. 2, а). У четвертому досліді з використанням суміші природного біоценозу та активного мулу було досягнуте практично повне вилучення урану із розчину (див. рис. 2, б). Рис. 3, як приклад, ілюструє дані, отримані при вилуговуванні урану з матеріалу завантаження після закінчення другого досліді. Результати, що ґрунтуються на різниці між вихідною концентрацією та концентрацією урану в фільтраті, свідчать, що в цьому досліді вилучено 598 мг урану. За результатами екстракції встановлено, що кількість вилученого урану становить 565 мг , що свідчить про хорошу збіжність отриманих результатів.

Результати виконаного дослідження свідчать про нерівномірність осадження урану в колонках: в обох досліді (другому й третьому) основна частина урану була сконцентрована у нижніх шарах реакційного середовища. Проте, в другій колонці, де полімерне волокно рівномірно розподілялося з піском, забруднення ураном займало більший об'єм завантаження, а в третій колонці уранова пляма була більш ущільнена. Такі відмінності у розпо-

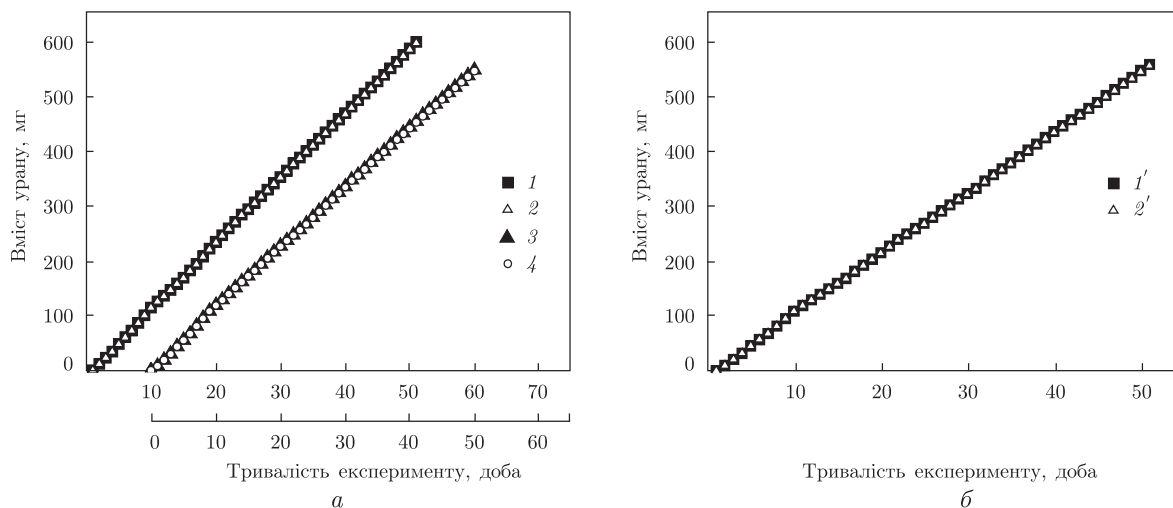


Рис. 2. Біологічне вилучення урану: *а* — мікроорганізмами, селекціонованими з донних відкладень р. Жовта; *б* — сумішшю мікроорганізмів, селекціонованих з донних відкладень р. Жовта та активного мулу.
 Умовні позначення: 1 — внесено (дослід 2), 1' — внесено (дослід 4); 2 — накопичено (дослід 2), 2' — накопичено (дослід 4); 3 — внесено (дослід 3); 4 — накопичено (дослід 3)

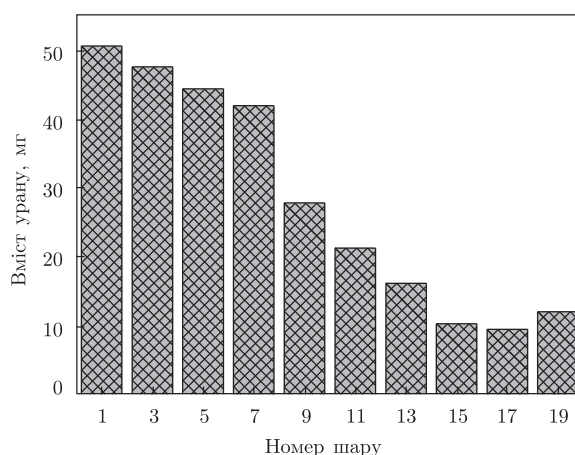


Рис. 3. Розподіл урану в завантаженні колонки по її висоті після завершення експерименту

ділі урану в колонках з різним завантаженням можуть виникати завдяки переважаючій іммобілізації бактеріальних клітин на поверхні розпушеного органічного полімерного волокна, чия краща адсорбційна здатність пов'язана першочергово з його великою площею поверхні. Беручи до уваги високий вміст сульфатів у забруднених підземних водах, які використовували в експериментах, можна стверджувати, що відновлення U(VI) відбувається незалежно від процесу сульфатредукції, більше того, мікробне відновлення U(VI) → U(IV) передре бактеріальному відновленню сульфату та блокує останнє: поки не пройде відновлення урану (VI), не почнеться сульфатредукція [14]. При цьому в таких системах можуть бути реалізовані усі чотири механізми вилучення ураніл-іонів бактеріями: біосорбція, біоаккумуляція, реакції утворення нерозчинних осадів з органічними лігандами і мікробне відновлення розчинених металів до нерозчинних речовин прямим переносом електронів від органічних сполук.

Максимальна концентрація урану в шарах завантаження колонки четвертого досліджу (суміш природного біоценозу й активного мулу) була на дні, що вказує на значну ємність мікробного угруповання для подальшого процесу. Позитивні результати очищення води від U(VI) за участю неадаптованого до урану іммобілізованого активного мулу з Бортницької станції аерації можуть свідчити про те, що значною мірою це є неспецифічний мікробний процес, і його здатні здійснювати нечутливі до токсичної дії урану бактерії, які знижують окисно-відновний потенціал до необхідного рівня.

Таким чином, проведені експерименти показують високу ефективність культур бактерій, взятих з радіоактивно забруднених площадок м. Жовті Води щодо відновлення урану (VI) в анаеробних умовах. Отримані результати підтверджують можливість застосування технології проникних реакційних бар'єрів для запобігання забруднення підземних вод у місцях зберігання відходів уранового виробництва [15]. Проте необхідні подальші дослідження з метою підвищення ефективності та практичного застосування цієї біотехнології в конкретних гідрогеологічних умовах.

Роботу виконано за фінансової підтримки Агентства з охорони навколишнього середовища США та Українського науково-технічного центру в рамках проекту P-322 "Регіональна оцінка забруднення металами, пов'язаного з гірничо-видобувною промисловістю; ризиків й інноваційних технологій в Україні та Грузії".

1. Добыча и переработка урановых руд в Украине / Под ред. А. П. Чернова – Киев: АДЕФ-Украина, 2001. – 238 с.
2. Landa E. R. Uranium mill tailings: nuclear waste and natural laboratory for geochemical and radioecological investigations // J. Environ. Radioactiv. – 2004. – **77**. – P. 1–27.
3. Корнілович Б. Ю., Стрелко В. В., Кошик Ю. І., Павленко В. М. Еколого-хімічні проблеми видобутку та перероблення уранової сировини // Вісн. НАН України. – 2010. – № 10. – С. 8–14.
4. Permeable Reactive Barriers: Lessons Learned // New directions. PRB – **4**. – Washington: D.C., 2005 // www.itrcweb.org.
5. Lloyd J. R., Lovley D. R. Microbial detoxication of metals and radionuclides // Curr. Opin. Biotechnol. – 2001. – **12**. – P. 248–253.
6. Merroun M. L., Selenska-Pobell S. Bacterial interactions with uranium: An environmental perspective // J. Contam. Hydrol. – 2008. – **102**. – P. 285–295.
7. Zhengji Y. Microbial removal of uranyl by sulfate reducing bacteria in the presence of Fe(III) (hydr)oxides // J. Environ. Radioactiv. – 2010. – **101**. – P. 700–705.
8. Chabalala S., Chirwa E. M. N. Removal of uranium (VI) under aerobic and anaerobic conditions using an indigenous mine consortium // Mineral. Eng. – 2010. – **23**. – P. 526–531.
9. Luo J., Weber F.-A., Cirkpa O. A. et al. Modelling in-situ uranium (VI) bioreduction by sulfate-reducing bacteria // J. Contam. Hydrol. – 2007. – **92**. – P. 129–148.
10. Postgate J. R. The sulfate reducing bacteria. – Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1984. – 208 p.
11. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта, Р. Мюррея, К. Робиноу и др. – Москва: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.
12. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Г. А. Заварзина. – Москва: Мир, 1997. – 800 с.
13. Гвоздяк П. І., Сапура О. В. Простий метод виявлення та оцінки інтенсивності анаеробних процесів, що супроводжуються виділенням газів // Мікробіологія і біотехнологія. – 2009. – № 4 (8). – С. 53–57.
14. Martins M., Faleiro M. L., Chaves S. et al. Anaerobic bio-removal of uranium (VI) and chromium (VI): Comparison of microbial community structure // J. Hazard. Mater. – 2010. – **176**. – P. 1065–1072.
15. Kornilovich B., Wireman M., Caruso B. et al. The use of permeable reactive barrier against contaminated groundwater in Ukraine // Centr. Europ. J. Occup. and Environ. Med. – 2009. – **15**, No 1./2. – P. 73–85.

*Інститут сорбції та проблем ендоекології
НАН України, Київ
НТУ України "Київський політехнічний інститут"*

Надійшло до редакції 25.03.2011

I. A. Kovalchuk, O. O. Khlopas,

Corresponding Member of the NAS of Ukraine **B. Yu. Kornilovych, P. I. Gvozdyak,
O. L. Makovets'kyi**

Uranium-containing groundwater treatment using a microbiological method

Processes of microbial reduction of uranium from the contaminated groundwater were studied, and the efficiency of using the natural bacterial cultures taken from the radioactive contaminated areas were determined. The obtained results confirmed the suitability of the technology of permeable reactive barriers involving the natural microbiotic community to prevent the contamination of groundwater in the site of uranium waste storage in the Zhovti Vody town.