

УДК 573.6.086.33:582.274.2

К. ПОПА¹, А. ЧЕКАЛ¹, Д.И. КУЧУРЯНУ¹, Г. НЕМЦОЙ¹,
Д. СИМОН², В.Ф. РУДИК³, Л.Е. ЧЕПОЙ³, А.П. ГУЛЯ⁴

¹Ун-т им. Ал. И. Куза, фак. химии,

Румыния, 6600, Яссы, бульвар Карола I, 11

²Делфский технический ун-т, лаборатория неорган. химии фак. прикладных наук,
Нидерланды, 2628, Делф, ул. Джулианаалаан, 136

³Ин-т микробиологии АН Респ. Молдова,

Молдова, 2028, Кишинев, ул. Академическая, 1

⁴Молдавский госуниверситет, кафедра неорган. химии,

Молдова, 2000, Кишинев, ул. Матеевич, 60

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *SPIRULINA PLATENSIS* (Nordst.) Geitl. В КАЧЕСТВЕ БИООЧИСТИТЕЛЯ ОТ ИОНОВ UO_2^{2+}

Для определения химических и биохимических механизмов биологической очистки воды, содержащей U(VI), с помощью *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. CALU-835 были проведены исследования с использованием методов радиохимии, циклической вольтамперии и электронной сканирующей микроскопии. Установлено, что в отсутствие ионной конкуренции культура спирулины способна накапливать до 90 % имеющихся в растворе $UO_2(NO_3)_2 \cdot 10^{-4}$ М ионов UO_2^{2+} . Полученные результаты свидетельствуют об образовании крупных конгломератов полимеров, соединенных с внешней стороной клеточной мембраны и уранилом, введенным в систему.

Ключевые слова: биоочистка, биосорбция, биоаккумуляция, спирулина.

Введение

Последние 10 лет ознаменованы активизацией работ в области биологической минерализации—деминерализации пород, содержащих уран (Banfield, Welch., 2000).

Оценка роста живых микроорганизмов в процессе миграции радионуклидов в биосфере является важным фактором в решении проблем, связанных с хранением ядерных отходов и надежной защитой окружающей среды (Volesky, Holan, 1995). Это, прежде всего, вопросы, касающиеся биоочистки сточных вод ядерных производств методами биоаккумуляции и биосорбции (Pribil, Marvan, 1976; Horikoshi, et al., 1979; Tsezos, Volesky, 1981; Dodge, Francis, 1994; Gonzalez-Munoz et al., 1997; Bouby et al., 1998). Имеются данные о механизмах микробиологического накопления урана из бедных пород с помощью микроорганизмов (Tsezos, Volesky, 1982; Wade, Dichristina, 2000).

В данной статье продолжены исследования биоаккумуляции урана с помощью живых организмов (Cecal et al., 1997a, b, 1999, 2000, 2001) с целью выяснения механизмов биологической очистки сточных вод от уранил-ионов.

© К. Попа, А. Чекал, Д.И. Кучуряну, Г. Немцой, Д. Симон, В.Ф. Рудик, Л.Е. Чепой, А.П. Гуля, 2004

Материалы и методы

Опыт проводили в отсутствие ионной конкуренции. Радиоактивным источником служил раствор $UO_2(NO_3)_2 \cdot 10^{-1}$ М (жидкость FLUKA). В качестве очистителя использовали альгологически чистую культуру *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. CALU-835, полученную из лаборатории аквакультуры и водной экологии (Пятра Нямц, Румыния). Культивировали ее на среде Заррука (Zargrouk, 1966) в термостате типа Mytron при температуре 32 °С, постоянном освещении ($3.6 \cdot 10^{-3}$ Дж·см⁻¹·с⁻¹). На седьмой день спирулину отделяли от культуральной среды путем фильтрации и ресуспендировали в бидистиллированной воде до концентрации 10 г/л. α -Радиоактивность определяли следующим образом. Девять параллельных проб, содержащих по 10 мл $UO_2(NO_3)_2 \cdot 10^{-1}$ М и 10 мл суспензии спирулины (10 г/л, рН 5,5), инкубировали в термостате. Постоянство рН обеспечивали добавлением $NH_4OH \cdot 5$ М. Из каждой пробы отбирали по 1 мл прозрачной жидкости каждые 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 480 и 900 мин. Отобранную жидкость полностью испарили в фарфоровых бюксах, затем измерили радиоактивность с помощью детектора Geiger-Müller β (1,5 мг·см⁻¹), соединенного со счетчиком "Decimal Vakutronik Scaller 16M". В качестве контроля использовали 1 мл смеси, содержащей $UO_2(NO_3)_2 \cdot 10^{-1}$ М, и бидистиллят в соотношении 1:1.

Для установления взаимосвязи концентрации суспензии водорослей с уровнем биоочистки отбирали также пробы с разным содержанием спирулины. Каждая проба состояла из 10 мл радиоактивного раствора, «х» мл суспензии водорослей (10 г/л) и «10 - х» мл бидистиллята. Через 30 мин пробу подвергали всем описанным выше процедурам и измерениям. В наших исследованиях мы использовали систему "Sistem Electrochimic Voltalab 32" (Radiometer-Copenhaga), состоящую из потенциостата DEA-332, и цифрового электрохимического анализатора DEA-1, включающего измерительную камеру с тремя электродами. Платиновый рабочий электрод имел форму диска диаметром 2 мм, а платиновый контрэлектрод – форму палочки диаметром 1 мм и высотой 10 мм. В качестве контрольного электрода использовали насыщенный каломельный электрод.

Установление рабочих параметров и обработку экспериментальных данных осуществляли путем присоединения электрохимической системы к персональному компьютеру с помощью "VoltaMaster 2". Перед каждым определением рабочий электрод тщательно очищали и промывали. Для создания инертной атмосферы все приготовленные растворы продували азотом в течение 10 мин. Измерения проводили при температуре 18 °С. Использовали следующие растворы: KCl – 0,1 М (электролитный фон); $UO_2(NO_3)_2 \cdot 10^{-1}$ М; суспензию спирулины (10 г/л) в KCl (0,1 М).

Растворы готовили из химически чистых веществ. Рабочие параметры для определений были следующими: область сканирующего потенциала +200 мВ – 500 мВ – +200 мВ; скорость сканирования 25 мВ · с⁻¹; разрешающая способность во времени 0,8 с; программная обработка данных.

При соблюдении этих условий была проведена вольтграмма растворов, содержащих 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0; 1,5 и 2,0 мл суспензии спирулины и доведенных бидистиллированной водой до объема 5 мл. Суспензии подвергали 10-минутному

контакту с ионами UO_2^{2+} (необходимое время для установления биоаккумуляционного равновесия).

Для выявления морфологических изменений спирулины в процессе биоаккумуляции биомассу отделяли фильтрованием и многократно промывали бидистиллированной водой. После последней промывки 0,1 г биомассы вносили в раствор $UO_2(NO_3)_2 \cdot 10^{-1}$ М. Через 2 ч биомассу опять отделяли с использованием фильтрующих бюксов Robu – Glass G₄. С помощью аппарата “Jeol JSM – 5800LV Scanning Microscope” при напряжении 10 кВ были получены трехмерные электронно-микроскопические изображения.

Результаты и обсуждение

В результате исследований установлена зависимость степени ретенции уранил-ионов от времени контакта (рис. 1) и объема суспензии спирулины (рис. 2).

Рис. 1. Зависимость степени ретенции (G) от времени контакта в системе *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. – UO_2^{2+} .

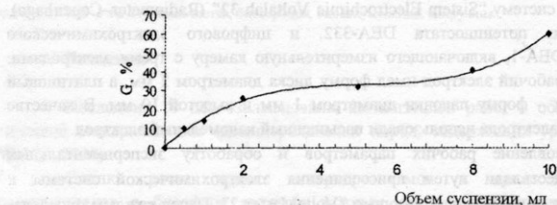
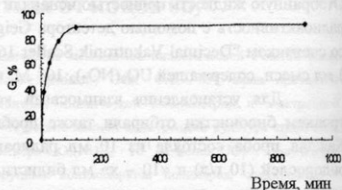


Рис. 2. Зависимость степени ретенции (G) от объема суспензии (V) водоросли в системе *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. – UO_2^{2+} после 30-минутного контакта.

Согласно рис. 1, степень ретенции значительно повышается в течение первых минут контакта. Это объясняется тем, что в данном промежутке времени происходит биосорбция, т.е. радиоактивные катионы притягиваются электростатическими силами клеточной мембраны, где они взаимодействуют со свободными функциональными группами (Haas et al., 2001) и уравнивание концентрации ионов по обе стороны мембраны (насиленная биоаккумуляция вследствие отсутствия питательных ионов).

Через 3 ч наблюдается стабилизация кривой зависимости степени ретенции от времени. В этом промежутке происходит настоящая биоаккумуляция ионов UO_2^{2+} , которые проникают через клеточную мембрану в цитоплазму, а также метаболизация загрязнителя при одновременном накоплении и выделении формы U(VI), токсичной для клетки. В связи с отсутствием питательных элементов в растворе происходит отмирание культуры (примерно через неделю).

На рис. 2 показана зависимость степени ретенции от объема суспензии спирулины, описанная следующим уравнением регрессии:

$$y = 0,67773 + 17,65724 x - 3,3274 x^2 + 0,21567 x^3$$

(коэффициент корреляции 0,997).

На рис. 3 приведены циклические вольтаграммы системы *S. platensis* – UO_2^{2+} в зависимости от объема суспензии водорослей.

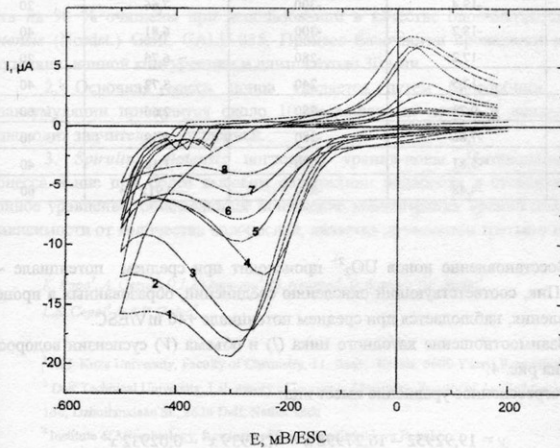


Рис. 3. Циклические вольтаграммы системы *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. – UO_2^{2+} : 1 – контроль; 2 – 0,1 мл; 3 – 3; 4 – 0,5; 5 – 0,7; 6 – 1,0; 7 – 1,5; 8 – 2,0 мл.

Можно наблюдать катодный пик для контрольной пробы в области ~ 300 мВ, что соответствует восстановлению UO_2^{2+} в U(IV) (Ungureanu, 1999). Второй (анодный) пик при +20 мВ соответствует переокислению U(IV) в UO_2^{2+} . Очевидно, значение катодного пика, больше анодного, что можно объяснить частичной обратимостью изучаемой системы. Не все восстановленные в первой

части вольтаграммы ионы перекисляются в анодной части, так как $U(IV)$ трудно растворим (Weast, 1974).

При увеличении содержания спирулины в суспензии интенсивность пиков падает. Эта закономерность доказывает, что ионы UO_2^{2+} инактивируются электрохимически клетками спирулины и экскретируемыми ею экзополимерами.

В таблице приведены значения силы тока, а также восстановительные и окислительные потенциалы, соответствующие процессам, происходящим в каждой системе в зависимости от объема суспензии водорослей.

Таблица. Некоторые электрохимические параметры системы *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. – UO_2^{2+}

Объем суспензии, мл	Катодный пик, μA	Потенциал катодного пика, мV/ESC	Анодный пик, μA	Потенциал анодного пика, мV/ESC
0,0	-19,4	-300	7,66	20
0,1	-18,2	-300	6,81	40
0,3	-17,2	-280	6,76	20
0,5	-12,5	-240	3,72	40
0,7	-9,73	-280	2,66	60
1,0	-7,86	-280	1,59	40
1,5	-5,81	-280	1,18	40
2,0	-4,48	-280	0,915	60

Восстановление ионов UO_2^{2+} происходит при среднем потенциале -280 мV/ESC. Пик, соответствующий окислению соединений, образованных в процессе восстановления, наблюдается при среднем потенциале +40 мV/ESC.

Взаимотношение катодного пика (I) и объема (V) суспензии водорослей показано на рис. 4.

Регрессионное уравнение имеет вид:

$$y = 19,92952 - 16,27998 x + 4,37939 x^2 - 0,02932 x^3$$

(коэффициент корреляции 0,98989).

Данное уравнение точно описывает зависимость пикового тока от объема суспензии водорослей.

Таким образом, ионы UO_2^{2+} могут быть удалены на 90 % из радиоактивного раствора за короткий промежуток времени путем фильтрации биомассы. Столь высокий процент очистки радиоактивного раствора достигается благодаря процессам биосорбции и биоаккумуляции, происходящим в системе. В удерживании ионов металлов спирулиной участвует и карбонат натрия (Cecal et al., 2001).

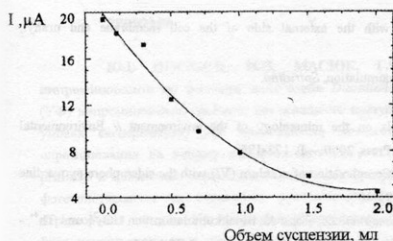


Рис. 4. Зависимость пикового тока (I) от объема суспензии водорослей (V) в системе *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. – UO_2^{2+} .

Выводы

1. Сточные воды, содержащие незначительное количество уранила, могут быть на 90 % очищены при использовании в качестве биоочистителя *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. CALU-835. Процесс биоочистки происходит в условиях отсутствия ионной конкуренции и длится около 30 мин.

2. Основная масса ионов удаляется путем биосорбции. На долю биоаккумуляции приходится около 10 поглощенных ионов, и данный процесс происходит значительно медленней.

3. *Spirulina platensis* поглощает уранил-ионы. Интенсивность этого процесса выше при более высоком содержании водоросли в суспензии. Регрессионное уравнение, описывающее понижение концентрации уранил-ионов в среде в зависимости от количества водорослей, является уравнением третьего порядка.

K. Popa¹, A. Cecal¹, D.I. Kucureanu¹, G. Nemtoi¹, D. Simon², V.F. Rudic³,

L.E. Cepoi³ & A.P. Gulea⁴

¹ Al I. Cuza University, Faculty of Chemistry, 11, Boulv. Karola, 6600 Yassy, Roumania

² Delf Technical University, Laboratory of Inorganic Chemistry, Faculty of Applied Sciences, 136, Dzhulianalaan St., 2628 Delf, Netherlands

³ Institute of Microbiology, Academy of Sciences of Moldova Republic,

1, Akademicheskaya St., 2028 Kishinev, Moldova Republic

⁴ Moldova State University,

60, Mateyevich St., 2009 Kishinev, Moldova Republic

REMOVAL OF UO_2^{2+} IONS USING *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.) GEITL. AS A BIOPURIFIER

The methods of radiochemistry, cyclic voltammetry and electron scanning microscopy were employed in experiments with *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. CALU-835 to determine chemical and biochemical mechanisms of biological purification of waters containing U(VI). It has been established that under the absence of ionic competition, the *S. platensis* culture is able to accumulate up to 90 % of UO_2^{2+} ions, which are present in the solution of $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 10^{-1}$ M. The data obtained indicate the formation of large

polymer conglomerates, which are connected with the external side of the cell membrane and uranyl, introduced into the system.

К е у о р д с: biopurification, biosorption, bioaccumulation, *Spirulina*.

- Banfield J. F., Welch S. A. Microbial controls on the mineralogy of the environment // Environmental Mineralogy. – Budapest: Eötvös Univ. Press, 2000. – P. 173-196.
- Bouby M., Billard I., MacCordick J., Rossini I. Complexation of uranium (VI) with the siderophore pyoverdine // Radiochim. Acta. – 1998. – **80**. – P. 95-100.
- Cecal Al., Gulea A., Rudic V., Palamaru I., Humelnicu D., Popa K. Bioakkumulatıon von UO_2^{2+} und Th^{4+} - Ionen aus Abwässern // Isotopes Environ. Health Stud. – 1997a. – **33**. – P. 327-331.
- Cecal Al., Rudic V., Gulea A., Palamaru I., Humelnicu D., Goanta M., Salaru V.V. Recuperation of uranyl ions from effluents by means of microbiological collectors // Waste Man. – 1997b. – **17**. – P. 97-99.
- Cecal Al., Humelnicu D., Popa K., Rudic V., Gulea A., Palamaru I., Nemtsoi Gh. Biobleaching of uranium (VI) from poor uranium ores by means of cyanobacteria // J. Radioanal. Nucl. Chem. – 2000. – **245**, N 2. – P. 427-429.
- Cecal Al., Palamaru I., Humelnicu D., Popa K., Gulea A., Salaru V.V., Rudic V. Removal of uranyl ions from residual waters using some algae types // Czech. J. Phys. – 1999. – **49**. – P. 987-990.
- Cecal Al., Palamaru I., Popa K., Rudic V., Gulea A. Spectrophotometric studies on the metallic ions bioaccumulation on algae // Rev. Chim. – 2001. – **52**, N 9. – P. 495-499.
- Dodge C.J., Francis A.J. Photodegradation of uranium citrate complex with uranium recovery // Environ. Sci. Techn. – 1994. – **28**, N 7. – P. 1300-1306.
- González-Munoz M.T., Merroun M.L., Ben Omar N., Arias J.M. Biosorption of uranium by *Myxococcus xanthus* // Int. Biodeg. Biodeg. – 1997. – **40**, N 2/4. – P. 107-114.
- Haas J.R., Dichristina T.J., Wade R.Jr. Thermodynamics of U(VI) sorption onto *Shewanella putrefaciens* // Chem. Geol. – 2001. – **180**. – P. 33-54.
- Horikoshi T., Nakajama A., Sakaguchi T. Uptake of uranium by various cell fraction of *Chlorella regularis* // Radioisotopes. – 1979. – **28**, N 8. – P. 485-488.
- Pribi S., Marvan P. Accumulation of uranium by the chlorococcal alga *Scenedesmus quadricauda* // Arch. Hydrobiol., S49, Algal. Stud. – 1976. – **15**. – P. 214-225.
- Tsezos M., Volesky B. Biosorption of uranium and thorium // Biotech. Bioeng. – 1981. – **24**. – P. 583-604.
- Tsezos M., Volesky B. The mechanism of uranium biosorption // Ibid. – 1982. – **24**. – P. 385-401.
- Ungureanu M.E. Introduction in organic electrochemistry. – Bucharest: Technical ed. 1999.
- Volesky B., Holan Z.R. Biosorption of heavy metals // Biotech. Progr. – 1995. – **11**. – P. 235-250.
- Weast R.C. Handbook of chemistry and physics. 55th ed. – Cleveland (USA): CRC Press, 1974.
- Wade R.Jr., Dichristina T.J. Isolation of U(VI) reduction-deficient mutants of *Shewanella putrefaciens* // FEMS Microbiol. Lett. – 2000. – **184**. – P. 143-148.
- Zarrouk C. Contribution a l'etude d'une *Cyanophyceae*. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima* (Getch. et Gardner) Geitler. – Paris, 1966.

Получена 06.09.02

Подписала в печать Шниокова Е.И.