

# ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

## БИОСОРБЦИЯ $^{99}\text{Tc}$ И $^{238}\text{U}$ ОДНОКЛЕТОЧНЫМИ ЗЕЛеныМИ ВОДОРОСЛЯМИ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA*

**О.А. Максимова, Т.Г. Попова\*\*, Н.Н. Попова,  
А.М. Сафиулина\*, И.Г. Тананаев**

Лаборатория радиационных и радиоэкологических проблем  
Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН  
*Ленинский просп., 31, Москва, Россия, 119991*

\*Лаборатория радиохимии  
Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского  
*ул. Косыгина, 19, Москва, Россия, 119991*

\*\* Экологический факультет  
Российский университет дружбы народов  
*Подольское шоссе, 8/5, Москва, Россия, 113093*

Биосорбция является одним из путей самоочищения водоемов. Эффективность сорбции радионуклидов микроводорослями зависит от многих факторов, среди которых — заряд сорбируемого иона.

Испытания ядерного оружия в атмосфере и под землей, деятельность предприятий топливного цикла по наработке оружейного плутония и атомных электростанций, установок надводных и подводных судов привели к тому, что техногенные радионуклиды стали опасным экологическим фактором. При этом, в отличие темы сбросов РАО на суше и в акватории Мирового океана, в литературе практически не освещена проблема очистки внутренних пресных водоемов. Некоторые из них стали водоемами-накопителями жидких радиоактивных отходов (ЖРО), например, известный Теченский каскад водоемов (ТКВ) в районе заводов ФГУП «ПО „Маяк“» (г. Озерск Челябинской области, имеющий общий объем ~340 млн м<sup>3</sup>, ~330 кКи β-излучающих радионуклидов [4]. В настоящее время в водоемы поступает ~2500 Ки/год радиоактивных веществ. Исследование эколо-

гического состояния техногенно измененных водоемов важно как с природоохранной, так и с производственной точек зрения. С одной стороны, эти водоемы испытывают высокую техногенную нагрузку, с другой — качество воды в них необходимо поддерживать на уровне, определяющем характер водопользования.

Среди физических факторов самоочищения первостепенное значение имеют разбавление, растворение и перемешивание поступающих загрязнений. Главными гидродинамическими механизмами переноса радионуклидов в водоемах являются дисперсия и конвекция. Радионуклиды сорбируются на взвеси, поглощаются биотой, переходят в донные отложения, что приводит к уменьшению их концентрации в воде. Оседание взвешенных частиц (совместно с массообменом) ведет к снижению общего загрязнения воды и является одним из главных путей ее самоочищения. Однако это также приводит к тому, что донные отложения становятся долговременным источником вторичного загрязнения. При неблагоприятных гидрометеорологических условиях (например, при сильном ветре) происходит взмучивание донных отложений. А это, в свою очередь, повышает загрязнение воды.

Каждый водоем — это сложная экосистема, на видовой состав которой оказывают влияние происхождение, географическое положение, особенности гидрологического режима. Совокупная жизнедеятельность микроорганизмов, макрофитов, беспозвоночных и позвоночных животных является той силой, которая осуществляет биогенную миграцию элементов в природе. Металлы (термином «металлы» здесь и в дальнейшем обозначены катионы, анионы, комплексные и простые соединения элементов металлов) в малых концентрациях необходимы для нормальной жизнедеятельности организмов, так как они входят в состав активных центров различных ферментных систем. Однако металлы в тех концентрациях, в которых они поступают в окружающую среду с промышленными сточными водами, газовыми выбросами ТЭС и т.д., являются экотоксикантами. В отличие от органических ксенобиотиков (ДДТ, полихлорированные бифенилы и т.д.), которые, пусть крайне медленно, но все же разрушаются до конечных продуктов ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$ ), металлы не могут быть необратимо преобразованы в нетоксичные соединения. Вследствие этого металлы, попадая в окружающую среду, мигрируют и накапливаются в пищевых цепях [1—2]. Способность биологических объектов к аккумуляции металлов положена в основу различных методов биоремедиации водоемов.

Еще в 1929 г. в докладе «О концентрации радия живыми организмами» В.И. Вернадский отметил, что: «выясняется в геохимии радия в биосфере следующий общий процесс: радий из водных растворов поступает в водные организмы; при этом наблюдается значительная — в десятки раз его концентрация...» [3]. В настоящее время известно, что микроорганизмы аккумулируют металлы за счет их отложения на поверхности клетки и/или внутри нее. В результате концентрирования металлов содержание их в биомассе может оказаться в сто и тысячи раз выше, чем в воде.

Сущность процесса биосорбции состоит в связывании лигандов и ионном обмене. Живые и мертвые микроорганизмы обладают обилием функциональных групп, таких как карбоксил-, гидроксил- или фосфат-, которые связывают ионы металлов. Таким же свойством обладают полимеры, секретируемые многими метаболизирующими микробами. Процесс биосорбции непостоянен и зависит от питательной среды, физиологического состояния клетки, рН и наличия высвобождаемых бактериальных экзометаболитов, а также от типа радионуклида, его химической формы, размера частицы, концентрации и состава взвесей, наличия солей и ионов замещения, других факторов. Биоаккумуляция — процесс транспорта металлов в живую клетку и вовлечение их во внутриклеточные взаимодействия, такие как комплексообразование со специфическими компонентами или осаждение. Внутриклеточная аккумуляция металлов имеет место во всех классах микроорганизмов, обычно посредством энергозависимых транспортных систем. После проникновения внутрь клетки металлы могут связываться с белками цитоплазмы и внутренними мембранными структурами или образовывать нерастворимые продукты внутри клетки.

Несмотря на то, что в большинстве случаев аккумуляция металлов микроорганизмами имеет четкую локализацию, иногда металлы распределяются одновременно в клеточной стенке, мембранной и цитоплазматической фракциях [2].

Технеций ( $^{99}\text{Tc}$ ,  $T_{1/2} = 2,1 \cdot 10^5$  лет) представляет значительный интерес для радиоэкологии. Как искусственный элемент, технеций в природе отсутствует. Однако из-за его высокого содержания в облученном ядерном топливе (ОЯТ) (0,6 г на 1 кг  $^{235}\text{U}$  при его 50% выгорании) к настоящему времени в мире накоплено более 60 т Tc. В результате развития ядерного оружейного производства и атомной энергетики в окружающую среду поступило большое количество продуктов деления (ПД), в том числе и Tc.  $^{99}\text{Tc}$  обладает высокой миграционной способностью, ряд его соединений летучи. В водоемах присутствует в форме высокорстворимого и мобильного аниона [4—5].

Целью настоящей работы было оценить биосорбцию технеция одноклеточными зелеными водорослями. Практическое значение водорослей, как положительное, так и отрицательное, всегда было велико. Но в последнее время возросло значение водорослей как объектов исследования при решении физиологических, биохимических, биофизических, экологических и общебиологических задач. Для водорослей, как фототрофных организмов, необходимым условием существования является наличие света, источников углерода и минеральных веществ, а основной средой обитания для них служит свободная вода. Это справедливо для большинства водорослей, но не для всех, потому что физиологическая пластичность водорослей и их приспособляемость к различным экологическим условиям поистине огромна.

Объектом исследования был выбран представитель класса зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda*. Для водорослей рода сценедесмус характерно следующее строение. Ценобий — плоские, иногда загнутые пластинки — «плотики». Они могут состоять из 4—8 (реже 2—16 или даже 32) клеток, срастающихся

своими боками параллельно друг другу. Стенка клеток целлюлозная, гладкая или различным образом орнаментированная. У некоторых видов на краевых или на всех клетках имеются длинные тонкие выросты — «рога». Хлоропласт постенный, с одним пиреноидом, ядро без окраски неразличимо. Размножение происходит автоспорами, которые образуются в одной из клеток ценобия в числе, характерном для ценобиев данного вида. Непосредственно внутри материнской клетки они формируют новый маленький ценобий, который выходит наружу. Есть данные о наличии у некоторых представителей рода полового процесса [6].

Виды рода *Scenedesmus* широко распространены в пресноводном планктоне. Обычно они встречаются в прибрежной зоне среди нитчаток, мхов и пр. Хорошо растут на синтетических средах и являются популярным объектом для научных исследований.

Приборы и оборудование. Люминоста́т, жидкостной сцинтилляционный спектрометр «Векман-4900», центрифуга (ОПН-ЗУХЛ 4.2), автоматический микродозатор, микроскоп, камера Горяева.

Подготовка культуры водорослей. Лабораторная культура водорослей *Scenedesmus quadricauda* была выращена в питательной среде Успенского. Для приготовления среды Успенского растворяют по 2,5 г  $\text{KNO}_3$ , 2,5 г  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 14,4 г  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2,5 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  и 3,45 г  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды в отдельных склянках. Отдельно растворяют 3,7 г трилона Б и 0,3 г  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Все шесть склянок кипятят 10—15 минут, охлаждают и, соблюдая условия стерильности, переносят в колбу на 1 дм<sup>3</sup> по 1 см<sup>3</sup> из каждой склянки (кроме раствора железа и трилона Б). Полученную смесь кипятят, охлаждают и добавляют 1 см<sup>3</sup> смеси солей железа и трилона Б. Приготовленную питательную среду разливают в колбы по 100 см<sup>3</sup> и добавляют 1—5 см<sup>3</sup> концентрированной суспензии водорослей. Закрывают колбы стерильными колпачками из алюминиевой фольги или ватными пробками и ставят в люминоста́т. Во время культивирования водорослей в люминоста́те необходимо 2—3 раза в день встряхивать питательный раствор с водорослями, чтобы обеспечить удаление образующегося углекислого газа, при накоплении которого среда в исследуемых растворах подщелачивается [7].

Ход работы. По 0,5 мл раствора пертехнетата аммония  $\text{NH}_4\text{TcO}_4$  (концентрация технеция 10—5 моль/л) было внесено в колбы с суспензией микроводорослей (плотность микроводорослей: колбы 1 и 2 —  $25 \cdot 10^4$  кл/мл; колбы 3 и 4 —  $112 \cdot 10^4$  кл/мл). Концентрацию  $^{99}\text{Tc}$  определяли радиометрически по бета-активности с применением жидкостного сцинтилляционного спектрометра. Измерялась начальная активность раствора (количество радиоактивных распадов за 100 с), активность раствора через 0,5, 1,5, 3, 24, 48, 72, 192 и 480 часов. Перед измерением радиоактивности раствора (кроме начальной) водоросли от раствора отделялись центрифугированием. Результаты измерений представлены в табл. 1, динамика изменения концентрации технеция в растворе — на рис. 1.

Результаты измерения радиоактивности раствора

Актив- ность (кол-во распа- дов/100 сек)	№ кол- бы	Время/часы								
		0	0,5	1,5	3	24	48	72	192	480
	1	3113	2711	2778	2782	2720	2897	2605	2772	2704
	2	2290	2233	2482	2574	2330	2307	2200	2632	2200
	3	2425	2626	2656	2386	2521	2434	2729	2503	2703
	4	2705	2722	2646	2738	2810	2433	2936	2652	2643

А, распадов/100 сек.

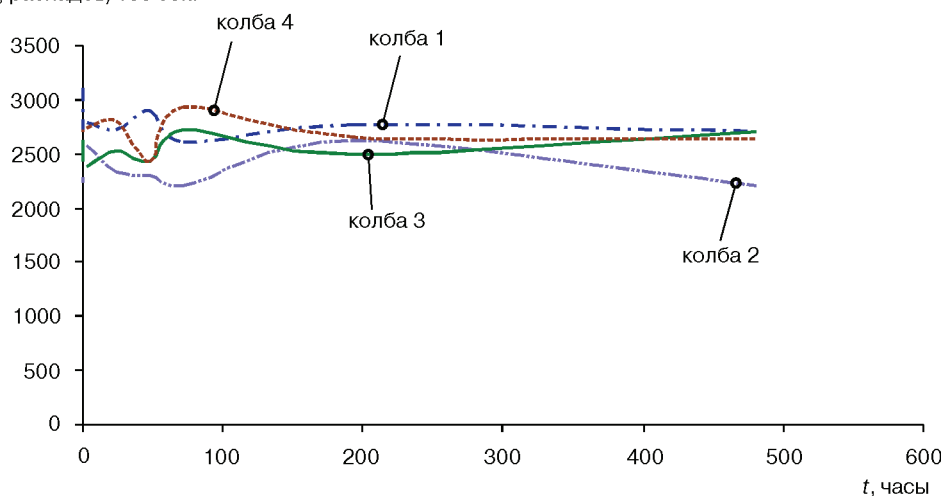


Рис. 1. Динамика изменения радиоактивности раствора

Изменение концентрации технеция в растворе в первые часы сорбции (сорбция 3,2%) незначительно и может не приниматься во внимание при использовании данного метода измерения концентрации металла. Результат совпадает с данными, полученными Andres Y. и Redercher S. [8]. Отсутствие сорбции  $\text{TcO}_4^-$  микробной клеткой авторы исследования объясняют наличием небольшого отрицательного заряда на биологической мембране.

Для проверки этого утверждения и сравнения сорбции анионов ( $\text{TcO}_4^-$ ) и катионов ( $\text{UO}_2^{2+}$ ) металлов живыми клетками одноклеточных зеленых водорослей *Scenedesmus quadricuda* было решено провести эксперимент по биосорбции  $^{238}\text{U}$ . Вследствие низкой  $\alpha$ -активности урана-238 его определение проводили спектрофотометрически.

**Приборы и оборудование.** Спектрофотометр Cary50, центрифуга (ОПН-ЗУХЛ 4.2), автоматический микродозатор, люминодат, микроскоп, камера Горяева.

При изучении сорбции ионов урана (VI) водорослями возникла проблема анализа содержания урана в среде Успенского, состоящей из смеси комплексобразующих солей. Известно, что арсеназо III является лучшим фотометрическим реагентом на уран (VI) [9], но определение урана с этим реагентом в присутствии комплексобразующих солей невозможно из-за их маскирующего действия на уран (VI). Для решения поставленной задачи была разработана методика анализа урана спектрофотометрическим методом и найдена оптимальная концентрация солей, не влияющая на оптическую плотность.

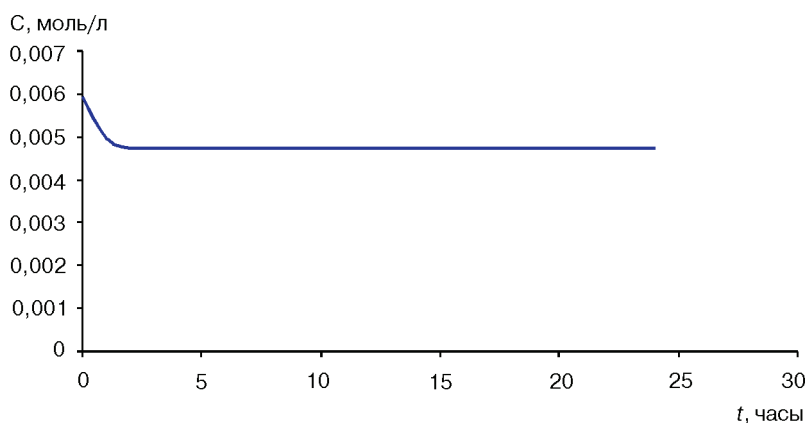
**Подготовка культуры водорослей.** Посев и выращивание культуры водорослей производились по методике, описанной в первом опыте.

**Ход работы.** 10 мл раствора гексагидратуранилнитрата  $UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (концентрация  $^{238}U$  — 10—3 моль/л) вносили в суспензию микроводорослей плотностью  $2 \cdot 10^6$  кл/мл. Перед измерением концентрации урана водоросли от раствора отделяли центрифугированием. Результаты измерений приведены в табл. 2 и на рис. 2. Процент сорбции представлен в табл. 3 и на рис. 3.

Таблица 2

**Усредненные значения концентрации  $^{238}U$  в растворе**

Время, часы	0	1	2	24
Концентрация $^{238}U$ , моль/л	0,005929	0,004971	0,004739	0,004719

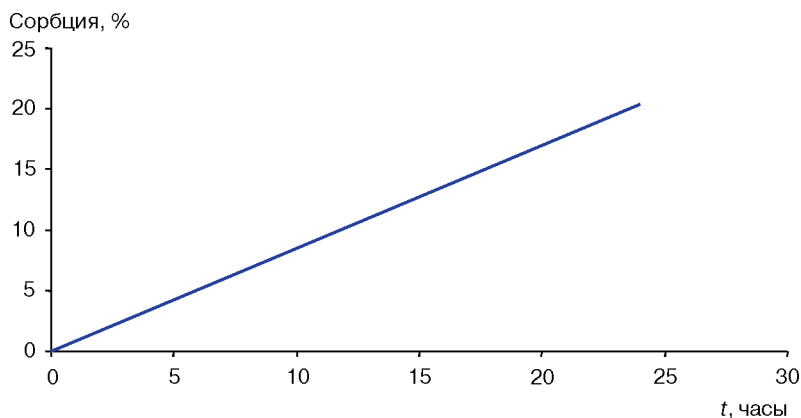


**Рис. 2.** Динамика изменения концентрации урана (VI) в растворе

Таблица 3

**Процент сорбции  $^{238}U$  микроводорослями**

Время, часы	0	24
Сорбция, %	0	20,4



**Рис. 3.** Процент извлечения  $^{238}\text{U}$  из раствора микроводорослями

В первые часы эксперимента наблюдалась существенная (более 20%) сорбция  $^{238}\text{U}$  клетками *Scenedesmus quadricuda*, что говорит о сорбционной активности клеток микроводорослей по отношению к катионам (на примере  $^{238}\text{UO}_2^{2+}$ ). Известно, что в клетках между двумя сторонами плазматической мембраны поддерживается разность потенциалов, иными словами, электрический заряд, и что почти во всех изученных клетках внутреннее содержимое клетки заряжено отрицательно по отношению к внешней среде. Поэтому катионы обычно стремятся в клетку, тогда как анионы клеткой отталкиваются [10]. Это положение необходимо учитывать при разработке методов биоремедиации радиоактивно-загрязненных территорий. Можно предположить, что именно по причине наличия одноименных зарядов клетки и иона металла биосорбция технеция оказалась неэффективной.

Таким образом, эффективность сорбции радионуклидов микроводорослями зависит от заряда сорбируемого иона.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Таишев А.Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов // Микробиологический журнал. — 1994. — Т. 56. — № 6. — С. 77—88.
- [2] Таишев А.Б. Взаимодействие микроорганизмов с металлами // Микробиологический журнал. — 1995. — Т. 57. — № 2. — С. 95—104.
- [3] Вернадский В.И. О концентрации радия живыми организмами // Доклады Академии наук СССР, сер. А I. — 1929. — № 2. — С. 33—34.
- [4] Попова Н.Н., Ровный С.И., Тананаев И.Г., Мясоедов Б.Ф. Технеций: поведение в процессах переработки облученного ядерного топлива и объектах окружающей среды // Успехи химии. — 2003. — Т. 72. — № 2. — С. 115—136.
- [5] Котегов К.В., Павлов О.Н., Шведов В.П. Технеций. — М.: Атомиздат, 1965.
- [6] Горбунова Н.П. Альгология. — М.: Высшая школа, 1991.
- [7] Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков, сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. — М.: Акварос, 2001.

- [8] *Andres Y., Redercher S.* Contribution of biosorption to the behavior of radionuclides in the environment // *Journal of Radionalytical and Nuclear Chemistry*. — 2001. — Vol. 247. — № 1. — P. 89—93.
- [9] *Саввин С.Б.* Арсеназо III. — М.: Атомиздат, 1966.
- [10] *Грин Н., Статут У., Тейлор Д.* Биология. Том 1. — М.: Мир., 1996. — С. 222.

## **BIOSORPTION <sup>99</sup>Tc AND <sup>238</sup>U BY GREEN MICROALGAE SCENEDESMUS QUADRIKAUDA**

**O.A. Maximova, T.G. Popova\*\*, N.N. Popova,  
A.M. Safiulina\*, I.G. Tananaev**

Laboratory for radiation and radioecological problems  
Frumkin Institute of physical chemistry and electric chemistry RAS  
*Leninsky prosp., 31, Moscow, Russia, 119991*

\*Laboratory for radiochemistry  
Vernadsky Institute of geochemistry and analytical chemistry RAS  
*Kosygin str, 19, Moscow, Russia, 119991*

\*\*Ecological faculty  
Peoples' friendship university of Russia, Podolsk highway  
*Podolskoye shosse, 8/5, Moscow, Russia, 113093*

Biosorption is one of ways of autopurification of reservoirs. Efficiency of sorption of radionuclides by microalgae depends on many factors, among which — a charge of an ion of radionuclides.