Fizykochemiczne Problemy Mineralurgii, 27 (1993) 195-204

Jerzy CHMIELOWSKI*, Andrzej WOŹNICA*, Mieczysław PYTLAK*

AKUMULACJA I ŁUGOWANIE RADIONUKLIDÓW PRZEZ DRONOUSTROJE

Omówiono mechanizmy ługowania i akumulacji radionuklidów przez drobnoustroje. Wykazano możliwość uwolnienia tych pierwiastków ze związków nierozpuszczalnych do roztworów wodnych. Omówiono również przypadki wiązania jonów radionuklidów w biomasie drobnoustrojowej i występowanie w postaci związków nierozpuszczalnych w wyniku oddziaływania różnych drobnoustrojów z uranem, torem, radem i cezem. Poznanie tych zależności może być przydatne w procesach biotechnologicznych zmierzających do dekontaminacji i odzysku radionuklidów z wód odpadowych elektrowni atomowych i innych urządzeń nuklearnych oraz w przypadkach usuwania radioaktywnych skażeń środowiska.

1. WSTĘP

Radionuklidy to metale mające niestabilne jądro atomowe z tendencją do rozpadu z równoczesną emisją promieniowania α, β lub γ. Niektóre z nich mają długi czas połowicznego zaniku, wysoką aktywność i często charakteryzują się dużą radiotoksycznością. Radionuklidy uranu, toru i radu są surowcami wykorzystywanymi w technice izotopowej. Radioizotop cezu, podobnie jak neptunu, może występować oprócz uranu w wodach odpadowych i emisjach elektrowni atomowych.

Naturalne pierwiastki promieniotwórcze występują w stanie dużego rozproszenia i tylko niewielka ich część pozostaje związana w rudach. Duże koszty otrzymywania tych radioizotopów i problemy ekologiczne z nimi związane spowodowały rosnące zainteresowanie procesami biotechnologicznymi i ich praktycznym wykorzystaniem. Metody te polegają na mikrobiologicznym ługowaniu rud i odpadów lub akumulacji jonów metali z roztworów wodnych przy udziale mikroorganizmów. Usuwanie radionuklidów z roztworów rozcieńczonych w procesach biologicznej dekontaminacji i ich odzysku może stanowić alternatywę dla konwencjonalnych metod chemicznych.

Zagadnienia związane z mikrobiologiczną dekontaminacją radioaktywnych wód odpadowych są szczególnie istotne w przypadku ochrony środowiska. Problem ten występuje w przemyśle jądrowym oraz, na przykład, w górnictwie węglowym. Dla praktycznego zastosowania biotechnologicznych procesów koncentracji, usuwania i odzysku radionuklidów z roztworów wodnych ważne jest poznanie mechanizmów ich oddziaływania na drobnoustroje (Gadd i Griffiths, 1978; Manchee 1979; Tsezos i Volesky, 1982; Chmielowski i Kłapcińska, 1984; Volesky, 1987; Chmielowski, 1990 i 1991).

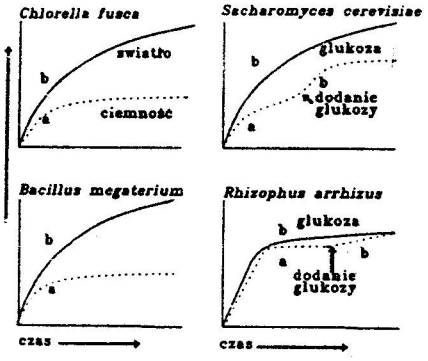
2. AKUMULACJA RADIONUKLIDÓW PRZEZ DROBNOUSTROJE

Różne drobnoustroje: bakterie i promieniowce, drożdże i grzyby strzępkowe, sinice oraz glony wykazują zdolność nagromadzania metali ciężkich i radionuklidów z otaczającego środowiska. Interesujące jest, że także martwe komórki mikroorganizmów mogą wiązać jony tych metali.

*Katedra Biochemii i Pracownia Izotopowa, Uniwersytet Śląski, Katowice

Również wydzielane metabolity drobnoustrojowe reagują z jonami metali. W akumulacji metali przez drobnoustroje uczestniczą procesy fizykochemiczne typu chemisorpcji, wymiany jonowej i kompleksowania. Działają też mechanizmy poboru jonów, zależne od energii metabolicznej, związane z transportem przez błony biologiczne, wytrącaniem lub kompleksowaniem przez wydzielane metabolity.

W poborze jonów metali przez biomasę drobnoustrojów można wydzielić dwie fazy. Pierwsza z nich, występująca również w komórkach martwych, przebiega w warunkach niezależnych od procesów metabolicznych i polega na sorpcji przez grupy czynne związków występujących w powierzchniowych warstwach komórki. Faza ta ma szybki przebieg w odróżnieniu od następnej - powolnego nagromadzania metalu. Jej przebieg, zależny od energii metabolicznej jest związany z transportem przez osłonę komórki i akumulacją wewnątrzkomórkową. Pojawienie się tych faz można wykazać w obserwacjach dynamiki akumulacji metali przez zawiesinę bakterii heterotroficznych, drożdży lub glonów w obecności substratu energetycznego, który umożliwia wzrost, w porównaniu z przebiegiem w warunkach bezwzrostowych (rys. 1).



Rys. 1. Uproszczony przebieg poboru jonów metali przez różne drobnoustroje (a) w warunkach niezależnych oraz (b) w warunkach zależnych od metabolizmu (Gadd, 1989)

Fig. 1. Illustration of (a) metabolism-independent and (b) metabolism-dependent metal ion uptake in suspension of different nongrowing microorganisms (after Gadd, 1989)

Procesy mikrobiologicznej akumulacji jonów metali ciężkich można podzielić na trzy grupy: sorpcję jonów metali na powierzchni komórek, wewnątrzkomórkowy pobór metali oraz chemiczną przemianę w wyniku działania czynników biologicznych. Akumulacja jonów metali ciężkich, w tym nuklidów, może więc następować wskutek nagromadzania metalu we wnętrzu komórek oraz przez wiązanie na powierzchni w obrębie osłony komórkowej (Chmielowski i Kłapcińska, 1984; Gadd, 1989; Mann, 1990; Chmielowski, 1990 i 1991; Gołąb i in.,1991).

Warstwa zewnętrzna komórki większości organizmów wykazuje ładunek elektroujemny. Wynika to z obecności ujemnie naładowanych grup funkcyjnych biopolimerów osłony komórkowej. Ligandy organiczne oraz naładowane ujemnie grupy fosforanowe $(-PO_4)^{3-}$ karboksylowe $(-COO)^-$, sulfhydrylowe $(-SH)^-$ lub hydroksylowe $(-OH)^-$ biopolimerów komórkowych są odpowiedzialne za chemisorpcję i wiązanie dodatnio naładowanych jonów metali z roztworów wodnych. Proces sorpcyjny charakteryzuje się szybkim i odwracalnym przebiegiem, a także jest niezależny od temperatury i energii metabolicznej. Skład i budowa biopolimerów ściany i osłony komórkowej mikroorganizmów decydują o ich zdolności kompleksowania jonów metali (Friis i Myers-Kerth, 1986; Scharer i Byerley, 1989; Birch i Bachofen, 1990).

U bakterii Gram-dodatnich za wiązanie jonów metali odpowiedzialne są grupy karboksylowe kwasu glutaminowego w peptydoglikanie oraz grupy fosforanowe kwasów tejchowych i tejchuronowych muraminy ściany komórkowej. W osłonie komórkowej bakterii Gram-ujemnych za główne miejsca wiązania radionuklidów uważa się polarne grupy fosfolipidów i

lipopolisacharydów oraz grupy czynne polipeptydów błony zewnętrznej. U grzybów za akumulację jonów metali odpowiedzialne są grupy fosforanowe i karboksylowe fosfopolisacharydów i fosfolipidów. Jony metali mogą również ulegać kompleksowaniu przez chitynę oraz mannan i glukan budujący ścianę komórkową grzybów (w tym również drożdży).

Biosorpcja metali jest procesem fizykochemicznym polegającym na reakcjach wiązania jonowego lub kompleksowania pomiędzy kationami metali a anionowymi grupami czynnymi (ligandami) osłony komórkowej. Procesy te nie wymagają energii metabolicznej. Można więc stosować w tym celu martwe komórki drobnoustrojów bez obawy toksycznego oddziaływania jonów metali na metabolizm komórki.

Jony metali mogą ulegać przemianom metabolicznym, które prowadzą do ich wytrącania w postaci związków trudno rozpuszczalnych lub związania w postaci chelatów. Bakterie redukujące siarczany do siarkowodoru powodują wytrącenie nierozpuszczalnych siarczków metali ciężkich, w tym niektórych radionuklidów (Lovley i in., 1991).

Szczególny mechanizm wytrącania jonów metali wykazują niektóre mikroorganizmy o podwyższonej aktywności fosfatazowej. Zlokalizowana na powierzchni komórki fosfataza kwaśna jest zdolna do rozkładu organicznych estrów fosforanowych. Anion fosforanowy łączy się następnie z jonem metalu, strącając nierozpuszczalne fosforany na powierzchni komórki (Macaskie i Dean, 1989). Proces ten jest niespecyficzny w stosunku do metali i dotyczy tworzenia trudno rozpuszczalnych fosforanów, na przykład uranu. Procesy redukcyjne zachodzące w niektórych mikroorganizmach prowadzą natomiast do zmiany wartościowości jonów metali, a nawet wytrącania metalu w postaci wolnej (Lovley i in., 1991).

Pobór radionuklidu do wnętrza komórki drobnoustrojów zależy od energii metabolicznej i przebiega znacznie wolniej od procesów sorpcji powierzchniowej. Mechanizmy transportu zaangażowane w akumulacji radionuklidów nie są dostatecznie poznane. Przewiduje się możliwość ich transportu przez pory osłony komórkowej. Możliwy jest również udział potencjału membranowego w transporcie tych jonów. Obecne w środowisku drobnoustrojów jony metali ciężkich mogą doprowadzić do zwiększonej przepuszczalności błony komórkowej, co powoduje udostępnienie wewnątrzkomórkowych miejsc wiązania metali. U drobnoustrojów występuje również możliwość niespecyficznego poboru niektórych jonów metali. Jony te mogą tworzyć w środowisku otaczającym komórkę kompleksy z substratem pokarmowym (np. glukozą, fruktozą lub pirokatechiną). Substraty takie mogą pełnić rolę cząsteczki nośnikowej dla jonów metali wprowadzonych do komórki przez system transportu specyficzny dla poboru substratów (Chmielowski i Kłapcińska, 1984; Chmielowski, 1990 i 1991).

3. ŁUGOWANIE RADIONUKLIDÓW PRZEZ DROBNOUSTROJE

Radionuklidy mogą ulegać roztworzeniu z nierozpuszczalnych rud i osadów przez mikroorganizmy, które wykorzystują procesy utleniania jonów niektórych metali w procesach metabolicznych. Szczególną rolę w tych procesach wykazują chemoautotroficzne utleniające żelazo bakterie siarkowe *Thiobacillus ferrooxidans*. Bakterie te uzyskują energię dla wzrostu z utleniania jonów żelazawych. Wśród innych bakterii aktywnych w tych procesach uwzględnia się udział *Thiobacillus tiooxidans* wykazujący zdolność utlenienia siarki elementarnej do kwasu siarkowego. Stwarza to środowisko kwaśne, zapobiegające hydrolizie związków żelazowych. Wykazano też rolę mieszanych populacji bakterii siarkowych rodzaju *Tiobacillus* w mikrobiologicznym ługowaniu metali ciężkich, w tym uranu. Wśród mechanizmów ługowania metali można wyróżnić ługowanie bezpośrednie i pośrednie (Lundgren i Malouf, 1983; Chmielowski, 1990 i 1991). Działanie pośrednie, które drodnoustroje mogą wywierać w procesie ekstrakcji metali z rud, wynika z regeneracji jonu żelazowego działającego jako utleniacz

nierozpuszczalnych siarczków lub niektórych tlenków metali ciężkich. *T. ferrooxidans* bierze udział w dwu reakcjach:

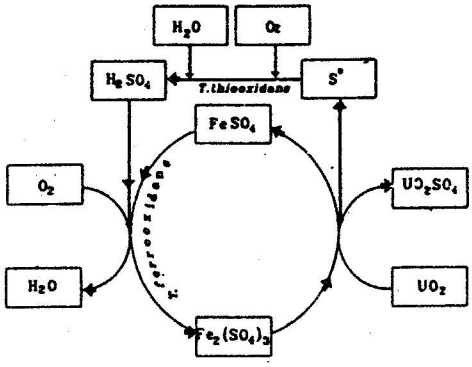
$$FeS_2 + 3\ ^1/_2O + H_2O \rightarrow FeSO_4 + H_2SO_4$$

$$2\ FeSO_4 + ^1/_2O + H_2SO_4 \rightarrow Fe_2(SO_4)_3 + H_2O$$

W warunkach zakwaszenia,poniżej pH 4, bakterie te mogą uzyskiwać energię z utleniania jonu żelazawego. Jon żelazowy Fe^{3+} jest efektywnie działającym utleniaczem wielu minerałów siarczkowych, a także tlenków uranu (UO_2)

$$UO_2 + Fe_2(SO_4) \rightarrow UO_2SO_4 + 2FeSO_4$$

Uproszczony schemat procesów przebiegających podczas pośredniego ługowania uranu przez bakterie rodzaju *Thiobacillus* przedstawiono na rys.2.



Rys. 2. Ogólny schemat mikrobiologicznego ługowania uranu z rud przez bakterie rodzaju *Thiobacillus*
Fig. 2. General scheme of the microbial leaching of uranium ore by thiobacilii

W mechanizmie bezpośredniego ługowania uwzględnia się enzymatyczny atak bakterii na podlegające utlenieniu komponenty minerałów. Substrat siarczkowy może ulegać solubilizacji wskutek dysocjacji:

$$MeS \leftrightarrow Me^{2+} + S^{2-}$$

Układ enzymatyczny drobnoustrojów powoduje utlenienie siarczków do siarczanów. Może również zachodzić utlenienie jonu metalu. Obie te reakcje mogą być źródłem energii dla niektórych mikroorganizmów. Dotychczas jednak brak dowodów potwierdzających możliwości bezpośredniego oddziaływania bakterii na minerały radionuklidów (Lundgren i Malouf, 1983).

Obecność żelaza w układach naturalnych poddawanych ługowaniu prawdopodobnie powoduje równoczesny przebieg mechanizmów bezpośredniej i pośredniej ekstrakcji jonów metali z rud (Chmielowski, 1990 i 1991).

4. MIKROBIOLOGICZNE PRZEMIANY RADIONUKLIDÓW

4 1 Przemiany uranu

Naturalny uran jest mieszaniną trzech izotopów ^{234}U, ^{235}U oraz ^{238}U. Występuje w postaci pierwotnych rud pochodzenia magmowego lub tworzy wtórne rudy osadowe. Pierwotne rudy uranu zawierają głównie nierozpuszczalny uran IV-wartościowy. Rudy wtórne występują

najczęściej w postaci trudno rozpuszczalnych związków uranu VI-wartościowego, który może uwalniać łatwo rozpuszczalne jony uranylowe UO_2^{2+}. W tej postaci uran może migrować w środowisku.

Drobnoustroje biorą udział w geochemicznym obiegu uranu. Są zdolne do pobierania uranu z roztworów wodnych oraz do biologicznego ługowania tego nuklidu z rud i minerałów zawierających nierozpuszczalne związki uranu.

4.1.1. Ługowanie uranu przez drobnoustroje

Wykazano udział bakterii rodzaju *Tiobacillus* w procesie utlenienia związków uranu. Umożliwia to przeprowadzanie nierozpuszczalnych form U(IV) do rozpuszczalnych związków U(VI). Proces ługowania uranu przebiega w obecności jonów żelazowych i siarczanów zgodnie z reakcją

$$UO_2 + H_2SO_4 + {}^1/_2O_2 \rightarrow UO_2SO_4 + H_2O$$

$$O_2 + Fe_2(SO_4) \rightarrow UO_2SO_4 + 2FeSO_4$$

$$2\,FeSO_4 + {}^1/_2O_2 + H_2SO_4 \rightarrow Fe_2(SO_4) + H_2O$$

W procesie tym bakterie *T. ferrooxidans* i *T. acidophillus* przez regenerację jonów żelazowych umożliwiają wymywanie nierozpuszczalnych związków uranu z minerałów, popiołów lotnych i innych układów zawierających nawet niewielkie ilości tego radionuklidu (Machee, 1979; Chwistek i in., 1981; Hutchins i in., 1986; Chmielowski, 1990 i 1991). Wykazano też zdolność mieszanej populacji bakterii heterotroficznych, zdominowanej przez rodzaj *Pseudomonas* i *Bacillus*, do wzmożonego ługowania uranu ze skał granitowych.

Od blisko 30 lat wykorzystuje się tego typu mikrobiologiczne procesy w odzyskiwaniu uranu z rud uranowych. Zwiększono przez to wydajność wydobycia z 30% uzyskiwanych metodami tradycyjnymi do 90% wskutek możliwości penetracji bakterii w strukturę minerałów oraz możliwość ługowania uranu bezpośrednio w złożach.

4.1.2. Mikrobiologiczna redukcja uranu

Lovley i współpracownicy (1991) opisują zdolność niektórych bakterii beztlenowych do redukcji związków uranu U(VI) do U(IV). Stwierdzili oni, że bakterie te mogą uzyskiwać energię z utlenienia octanów przy równoczesnej redukcji uranu, zgodnie z reakcją

$$CH_3COO^- + 4\,U(VI) + 4\,H_2O \Rightarrow 4U(IV) + 2HCO_3 + 9H^+$$

W procesie tym U(VI) jest wykorzystywany jako terminalny akceptor elektronów.

Redukcja uranu przez mikroorganizmy jest ostatnio stwierdzonym alternatywnym szlakiem metabolicznym, który wyjaśnia pojawianie się w osadach zbiorników wodnych nierozpuszczalnych związków uranu U(IV). Wskazuje również na nowe możliwości dekontaminacji wód obciążonych uranem.

4.1.3. Akumulacja uranu porzez drobnoustroje

Tradycyjne metody wytrącania i dekontaminacji uranu z roztworów wodnych są kosztowne ze względu na małe stężenie jonów metali w dużych objętościach roztworu. Niedogodność tę można ominąć przez stosowanie metod mikrobiologicznych.

W trakcie prac nad akumulacją uranu badano różne mikroorganizmy. Były to szczepy bakterii, promieniowców, grzybów, drożdży i glonów. Wykazywały one zdolność akumulacji uranu. Drobnoustroje ujawniające najwyższy poziom akumulacji należały do rodzaju *Streptomyces* (44% suchej masy), *Aspergillus* (21,5% sm) *Rhizophus* (14% sm), *Saccharomyces* (do 15% sm) (Chwistek i in., 1988; Gadd, 1989; Gołąb i in., 1991).

Istotny wpływ na akumulację uranu przez drobnoustroje mają fizykochemiczne warunki środowiska: pH, temperatura, obecność w środowisku inkubacyjnym innych jonów lub związków organicznych. Ważny jest również stan fizjologiczny komórek wynikający z fazy wzrostu (Stranderg i in., 1981; Galun i in., 1984; Gadd, 1989).

Niskie pH powoduje obniżenie akumulacji uranu z powodu współzawodniczenia H_3O^+ o miejsca wiązania kationów przez grupy czynne biopolimerów w osłonie i otoczce komórkowej. W pH<2,5 uran występuje w roztworze w postaci jonów uranylowych UO_2^{2+} i prawdopodobnie nie wykazuje powinowactwa do tych ligandów. Przy pH wyższych od 2,5 w roztworze zaczynają pojawiać się produkty hydrolizy uranylu, takie jak $[(UO_2)_2(OH)_2]^{2+}$, $[(UO_2)(OH)]^+$ i $[(UO_2)_3(OH)_3]^{3+}$. Są one zdolne do tworzenia kompleksów z polisacharydami osłony lub ściany komórkowej. Warunki optymalne umożliwiające maksymalną akumulację uranu odpowiadają odczynowi w zakresie od 4,5 do 6 (Strandberg i in., 1981; Tsezos i Volesky, 1981; Volesky, 1987; Scharer i Byerley, 1989; Mann, 1990).

Czynnikiem decydującym o wpływie temperatury na pobór uranu jest rodzaj mechanizmu akumulacji. Wzrost akumulacji ze wzrostem temperatury świadczy o występowaniu chemisorpcji z udziałem silniejszych wiązań. W przypadku powierzchniowej sorpcji wyłącznie z udziałem sił Van der Walsa wraz ze wzrostem temperatury następuje spadek ilości akumulowanego uranu.

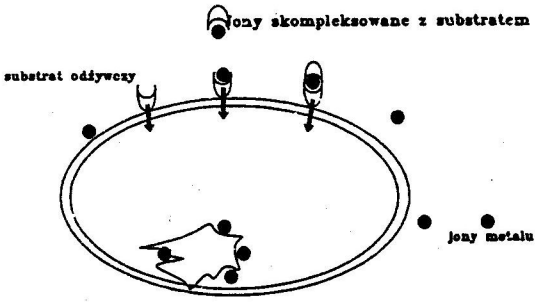
Badania wpływu różnych jonów na akumulację uranu wykazały, że kationy obecne w środowisku inkubacyjnym w niewielkim stopniu obniżają poziom nagromadzania tego metalu. Związane to jest z współzawodnictwem jonów uranu o miejsca wiążące biopolimerów osłony komórkowej. Spośród badanych anionów najsilniej hamowały proces akumulacji jony węglanowe oraz fosforanowe. Uran tworzy trwałe połączenia kompleksowe $[UO_2(CO_3)_3]^{4-}$ oraz $[UO_2(H_2PO_4)_3]^-$, które nie są pobierane przez komórki mikroorganizmów.

Uważa się na przykład, że akumulacja uranu przez grzyby strzępkowe (*Rhizophus arrhizus*) składa się z trzech procesów. Istotne jest tworzenie się kompleksów pomiędzy rozpuszczonymi jonami uranu a łańcuchem chityny. Grupa aminowa chityny dysponuje wolną parą elektronów zdolną do tworzenia wiązania koordynacyjnego, zachowując się jak silna zasada Lewisa. Pojawia się również sorpcja chemiczna w sieci chityny tworzącej ścianę komórkową. Można również stwierdzić występowanie hydrolizy kompleksu uranowo-chitynowego, utworzonego w procesie pierwszym, i osadzanie się nierozpuszczalnych produktów tej hydrolizy wewnątrz ściany komórkowej (Strandberg i in.,1981; Tsezos,Volesky,1981;Tsezos,1982,1984;Scharer,Byerley,1989).

Inaczej przebiega akumulacja uranu przez drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Za sorpcję uranu w ścianie komórkowej odpowiedzialne są grupy polifosforanowe i karboksylowe. Również inne biopolimery ściany, takie jak mannan, glukan i chityna, mogą brać udział w tym procesie.

Interesujące są mechanizmy wewnątrzkomórkowej akumulacji uranu przez drobnoustroje. Wykazano na przykład, że uran może podlegać niespecyficznemu transportowi do wnętrza komórek wskutek tworzenia połączeń kompleksowych z łatwo przyswajalnymi substratami odżywczymi, takimi jak glukoza lub fruktoza (Chmielowski i Kłapcińska, 1984; Chmielowski, 1990 i 1991). Substraty takie mogą pełnić rolę cząsteczki nośnikowej dla jonów metali wprowadzonych do komórki przez system transportu specyficzny dla poboru substratów (rys. 3).

Skompleksowany uran wnika do wnętrza komórki z wykorzystaniem mechanizmu transportu cukrów, substrat cukrowy podlega przemianom metabolicznym, uwolniony zaś uran łączy się z biopolimerami wewnątrzkomórkowymi (np. białka, kwasy nukleinowe, metalotioneiny).



Rys. 3. Uproszczony model niespecyficznego transportu jonów radionuklidu przez osłonę komórkową, skompleksowanych z substratem wzrostowym jako nośnikiem
Fig. 3. Simplified model of nonspecific transport of radionuclide ions across the cell envelope complexed with growth substrate as carrier molecule

Badania nad akumulacją uranu z wody morskiej przez glony *Chlorella regularis* i *Synechococcus elongatus* wykazały, że akumulacja ta ma charakter wewnątrzkomórkowy. Tylko 7% akumulowanego uranu osadzało się w ścianie komórkowej (Horikoshi i in., 1979 i 1981).

4.2. Przemiany toru

Tor naturalny zawiera izotop ^{232}Th, który daje początek torowemu szeregowi promieniotwórczemu. Izotop ten podlega przemianie z okresem połowicznego zaniku wynoszącym 1,4 x 10^{10} lat. W roztworach wodnych przy pH wyższym od 3,5 tor ulega hydrolizie i tworzy koloidalny wodorotlenek toru($Th(OH)_4$)mający zdolność polimeryzacji.

Znaczący wkład w wyjaśnienie mechanizmów akumulacji toru wnieśli Tsezos i Volesky (1981 i 1982). Prowadzili oni badania nad akumulacją tego nuklidu z użyciem grzybów strzępkowych *Rhizophus arrhizus*. Stwierdzili, że akumulacja ta składa się z dwu procesów. Pierwszy z nich to tworzenie się koordynacyjnego wiązania pomiędzy torem a azotem glukozaminy, stanowiącej monomer chityny budującej ścianię komórkową grzyba. W wiązaniu toru biorą też udział grupy hydroksylowe polisacharydów ściany komórkowej, które jednak kompleksują tor w mniejszym stopniu niż azot chityny. Obserwując wiązanie toru przez czysty preparat chityny stwierdzono, że zachodzi niestechiometryczne wiązanie tego pierwiastka. Jest to spowodowane konkurencyjnością jonów H_3O^+, które współzawodniczą z jonami toru w tworzeniu wiązań koordynacyjnych z azotem.

Proces drugi to sorpcja toru w amorficznych strukturach chityny. Tor przy pH 4, wskutek hydrolizy, występuje w postaci cząsteczek $Th(OH)_4$, które łatwo ulegają sorpcji na powierzchni ściany komórkowej. Sorpcja produktów tej hydrolizy zachodzi na zewnętrznej części ściany komórkowej i nie jest związana z właściwym procesem wiązania toru przez chitynę.

Tor przy pH równym 2 występuje w roztworze w postaci jonów Th^{4+}. Przeprowadzone w czasie badania akumulacji toru przez drobnoustroje obserwacje elektronowomikroskopowe wykazały, że przy pH równym 2 zawartość metalu na zewnętrznej części ściany komórkowej była nieznaczna. Pojawiała się natomiast akumulacja wewnątrzkomórkowa. Jony Th^{4+} mają mały promień jonowy i mogą penetrować przez ścianę komórkową.

Interesujące obserwacje poczynili ostatnio Gadd i White, śledząc perzebieg akumulacji toru przez *Saccharomyces cerevisiae, Penicilium italicum,* i *Aspergillus niger* w warunkach silnie kwaśnego odczynu środowiska (pH<1). Obecność jonów Al^{3+} i Fe^{3+} w środowisku inkubacyjnym prowadziła do spadku akumulacji toru zaś, jony Cu^{2+} i Mg^{2+} nie wpływały natomiast na wielkość poboru tego metalu przez badane drobnoustroje. Dodanie detergentu powodowło zwiększenie akumulacji toru. Prawdopodobnie środek wpływający na zmianę

napięcia powierzchniowego powodował rozluźnienie struktury ściany komórkowej i zwiększał przepuszczalność błony dla jonów toru ulegających akumulacji wewnątrzkomórkowej (Gadd i White, 1989)

4.3. Przemiany radu

W ostatnich latach obserwuje się zainteresowanie radem i radiotoksycznością tego nuklidu. Jest to związane z występowaniem radu w wodach odpadowych po ługowaniu uranu z rud i w odpadach przemysłu jądrowego. W naszym kraju ujawnił się ostatnio problem występowania radu w wodach kopalnianych niektórych kopalni węgla kamiennego. Ze względu na długi czas połowicznego zaniku Ra = 1590 lat, emisję wysokoenergetycznych cząstek oraz na właściwości chemiczne, zbliżone do jonów wapnia, radionuklid ten jest jednym z pierwiastków najbardziej radiotoksycznych. W organizmie żywym może zajmować miejsca jonów wapnia i wpływać destrukcyjnie na jego strukturę i metabolizm. Tworząc słabo rozpuszczalne sole, jest trudno usuwalny z organizmów żywych.

4.3.1. Ługowanie radu przez drobnoustroje

Rad wydostający się na powierzchnie w wodach kopalnianych, w obecności siarczanów lub fosforanów, ulega szybkiemu strąceniu i tworzy pokłady nierozpuszczalnych soli. W obecności siarczanu baru ulega współstrąceniu i tworzy $Ba(Ra)SO_4$ (Tomza i Lebecka, 1981).

Wykazano, że niektóre bakterie redukujące siarczany są zdolne do solubilizacji radu (Markose i in., 1985; Landa i in., 1986 i 1991). Mieszane populacje tych bakterii wymywają znacznie większe ilości radu niż izolowane kultury *Desulfovibrio desulfuricans*. Stwierdzono również zdolność *Alteromonas putrafaciens* do ługowania radu. *A.putrafacient* luguje rad z jednoczesną redukcją Fe(III). Proces ten jest jednak mało wydajny. Po jednomiesięcznej inkubacji zaledwie ~3% radu przechodzi do roztworu (Landa i in., 1991). Wyniki badań dowodzą, że niektóre bakterie mogą być użyteczne w odzyskiwaniu radu. Negatywnym efektem działania tych bakterii może być uruchmienie radu z form nierozpuszczalnych i stwarzanie zagrożeń ekologicznych przez radiotoksyczny rad.

4.3.2. Akumulacja radu przez drobnoustroje

Akumulacja radu przez mikroorganizmy przebiega bardziej intensywnie od stosowanej dotychczas sorpcji przez tradycyjne sorbenty chemiczne: zeolity, węgiel aktywny lub żywice jonowymienne. Nagromadzanie radu z roztworu przy udziale *Penicilium chrysogenum* zachodzi na zasadzie sorpcji. Optimum pH tego procesu mieści się w szerokim zakresie od 7 do 10. Przy niskich wartościach pH akumulacja radu przez biomasę drobnoustrojów ulegała znacznemu obniżeniu. Wykazano, że biomasa *Penicilium chrysogenum* może być efektywnym adsorbentem tego radionuklidu (Tsezos i Keller, 1983).

4.4. Przemiany cezu

Izotop cezu ^{137}Cs jest sztucznym radionuklidem o czasie połowicznego rozpadu wynoszącym 33 lata. Występowanie tego izotopu stwierdzono w biomasie organizmów wodnych mórz przyległych do terenów prób jądrowych oraz w wodach odpadowych elektrowni atomowych. Zrzuty radioaktywnego cezu do środowisk wodnych spowodowały zainteresowanie akumulacją tego nuklidu przez glony. Wykazano zdolność nagromadzania cezu przez kilka gatunków rodzaju

Chlorella i *Euglena*. Większe zainteresowanie wpływem ^{137}Cs na organizmy nastąpiło po awarii reaktora atomowego w Czarnobylu w 1986 roku. Zrzut radioaktywnego cezu spowodował pojawienie się zwiększonych zawartości ^{137}Cs w wyniku akumulacji w biomasie sinic i niektórych grzybów, stosowanych jako bioindykatory skażenia radioaktywnego.

Ostatnio izolowano z gleby bakterie wykazujące zdolność zwiększonej akumulacji radioizotopu ^{137}Cs (Tamioka i in., 1992). Zidentyfikowano je jako *Rhodococcus erythropolis*. Biomasa tych bakterii po kontakcie z roztworem cezu zawierała 52 μmole Cs w gramie suchej masy. Akumulowały one znaczne ilości cezu w fazie logarytmicznego wzrostu i uwalniały ten izotop w fazie stacjonarnej. Istotny wpływ na przebieg akumulacji cezu miał odczyn środowiska, który zwiększał się ze wzrostem pH do wartości lekko alkalicznej. Można się spodziewać, że akumulacja jednowartościowych jonów cezu przez drobnoustroje jest związana z mechanizmem transportu potasu. Wykazano, że transport ten jest zależny od energii metabolicznej, co może powodować akumulację tego radionuklidu.

LITERATURA

Birch L.D., Bachofen R., (1990), *Effects of microorganisms in the environmental mobility of radionuclides*, w: Bollag J.M., Stotzky G. Soil biochemistry. Marcel Dekker,Inc.; New York.

Chmielowski J., Kłapcińska B., (1984), *Mechanizmy pobierania metali przez drobnoustroje*, Postępy Mikrobiologii, 23, 63-89.

Chmielowski J., (1990), *Extraction and concentration of metals by microorganisms*. Wiss.Zeitschr THLM, 32, 364-372.

Chmielowski J., (1991), *Mechanizmy ługowania i akumulacji metali przez drobnoustroje*. Biotechnologia, 3-4, 63-73.

Chwistek M., Chmielowski J., Kalus J., Łączny J., (1981), *Biochemiczne ługowanie uranu z węglowych popiołów lotnych*. Fizykochem. Probl. Mineral., 13, 173-183.

Chwistek M., Chmielowski, Tomza I. (1988), *Radiometric determination of uranium accumulated in bacterial cells*, Talanta,35, 227-230.

Friis N., Myers-Keith P., (1986), *Biosorption of uranium and lead by Streptomyces longwoodensis*, Biotechnol. Bioeng., 28, 21-28.

Gadd G.M., Griffiths A.J., (1978), *Microorganisms and heavy metal toxicity*. Microbial Ecology, 4, 303-317.

Gadd G.M., (1989), *Accumulation of metals by microorganisms and algae*. w: Rehm H.J.T., Reed G., *Specal microbial processes*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 6b.

Gadd G.M.,White C., (1989), *Removal of thorium from simulated acid process streams by fungial biomass*. Biotechnol. Bioeng., 33, 592-597.

Galun M., Keller P., Malki D., Feldstein H. Galun E., Siegel S. Siegel B., (1984), *Removal of uranium (VI) from solution by fungial biomass: Inhibition by iron*. Water, Air, and Soil Pollution, 21, 411-414.

Gołąb Z., Orłowska B., Smith W.R., (1991), *Biosorption of lead and uranium by Streptomyces* sp. , Water, Air, and Soil Pollution, 60, 99-106.

Horikoshi T., Nakajima A., Sakaguchi T., (1979), *Uptake of uranium from sea water by Synechococcus elongatus*. J. Ferment. Technol., 57, 191-194.

Horikoshi T.,Nakajima A., Sakaguchi T.(1981), *Studies on the accumulation of heavy metals element in biological systems. XIX Accumulation of uranium by microorganisms*. European J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 12, 90-96.

Hutchins S.R., Davidson M.S.,Brierley J.A., Brierley C.L., (1986), *Microorganisms in reclamation of metals*. Ann.Rev.Microbiol., 40, 311-336.

Landa E.R., Miller C.L., Updegraff D.M., (1986), *Leaching of Ra-226 from U mill tailings by sulfate-reducing bacteria.* Health Physics, 51, 509-518.

Landa E.R., Philips E.J.P., Lovley D.R., (1991), *Release of ^{226}Ra from uranium mill tailings by microbial Fe(III) reduction.* Applied Geochemistry, 6, 647-652.

Lovley D.R., Philips P.J., Gorby A.Y., Landa E.R., (1991), *Microbial reduction of uranium.* Nature, 50, 413-416.

Lundgren D.G., Malouf E.E., (1983), *Microbial extraction and concentration of metals.* Adv. Biotechnol Processes, 1, 223-249.

Macaskie L.E., Dean A.C.R., (1989), *Microbial metabolism, desolubilization, and deposition of heavy metal: uptake by immobilized celis and application to the detoxication of liquid wastes,* w: *Biological Waste Treatment,* wyd. A. Mizrahi.

Manchee R., (1979), *Microbial mining.* TIBS, 4, 77-80.

Mann H. , (1990), *Biosorption of heavy metals by bacterial biomass.* w: Volesky B., *Biosorption of heavy metals,* CRC Press, Boston .

Markose P.M., Raghavayya M., Pillai K.C., (1985), *Leachability of radium from uranium mill tailings,* Water, Air, Soil Pollution, 26, 95-104.

Scharer J.M., Byerley J.J., (1989), *Aspects of uranium adsorption by microorganisms.* Hydrometallurgy, 21, 319-329.

Strandberg G.W., Shumate S.E., Parrot J.R., (1981), *Microbial cells as biosorbents for heavy metals:accumulation of uranium by Saccharomyces cerevisiae and Pseudomonas aeruginosa.* Appl. Eviron. Microbiol., 41, 237-245.

Tomioka N., Uchiyama H., Yagi O., (1992), *Isolation and characterization of cesium-accumulating bacteria.* Appl. Environ. Microbiol., 58, 1019-1023.

Tomza L., Lebecka J., (1981), *Radium-bearing waters in salt mines.Occurrance, methods of measurement and radiation hazard,* Int. Conf. Radiation Hazards in Mining, Colorado, October 1981, 945-951.

Tsezos M., Volesky B., (1981), *Biosorption of uranium and thorium.* Biotechnol. Bioeng., 23, 583-604.

Tsezos M., (1982), *Role of chitin in uranium adsorption by Rhizopus arrhizus.* Biotechnol. Bioeng., 25, 2025- 2040.

Tsezos M.,Volensky, (1982), *The mechanism of thorium biosorption by Rhizopus arrhizus.* Biotechnol. Bioeng., 25, 201.

Tsezos M., Keller D.M., (1983), *Adsorption of Radium-226 by biological origin absorbents.* Biotechnol.Bioeng, 25, 201-215.

Tsezos M., (1984), *Recovery of uranium from biological adsorbents-desorption equilibrium.* Biotechnol. Bioeng., 24, 973-981.

Volesky B.,(1987), *Biosorbents for metal recovery.* Trends in Biotechnol., 5.

Chmielowski J., Woźnica A., Pytlak M., (1993), Accumulation and leaching of radionuclides by microorganisms, *Physicochemical Problems of Mineral Processing,* 27, 195-204 (Polish text)

Mechanisms of leaching and accumulation of radionuclides by microorganisms are discussed. A possibility of a release of these elements from the insoluble compounds into aqueous solution is evidenced. The examples are discussed of radionuclides scavenging by microbial biomass as well as their transformation into the insoluble compounds as a result of microbial activity. The mechanisms of interaction of various microorganisms with uranium, thorium, radium and cesium are reviewed. The possibility is evaluated of application of such biotechnological processes to recovering of radionuclides and decontamination of waste waters from the nuclear facilities as well as to the decontamination of the environment.