

**TRATAREA DRENAJELOR  
MINIERE ACIDE PRIN  
SISTEMUL DE ZONE UMEDE  
CONSTRUITE**

**TREATMENT OF ACID  
MINE DRAINAGE BY MEANS  
OF A SYSTEM OF  
CONSTRUCTED WETLANDS**

**S. GROUDEV**, *Universitatea de Minerit și Geologie “Saint Ivan Rilski” Sofia, Bulgaria*

**I. SPASOVA**, *Universitatea de Minerit și Geologie “Saint Ivan Rilski” Sofia, Bulgaria*

**M. NICOLOVA**, *Universitatea de Minerit și Geologie “Saint Ivan Rilski” Sofia, Bulgaria*

**S. GROUDEV**, *University of Mining and Geology “Saint Ivan Rilski” Sofia, Bulgaria*

**I. SPASOVA**, *University of Mining and Geology “Saint Ivan Rilski” Sofia, Bulgaria*

**M. NICOLOVA**, *University of Mining and Geology “Saint Ivan Rilski” Sofia, Bulgaria*

**Rezumat:** apele acide de canal generate în depozitul de uraniu Curilo, Bulgaria, au fost tratate cu ajutorul unui sistem pasiv care conține două zone umede construite conectate în serie. Apele au un pH între 2 – 4 și au fost foarte poluate cu radionuclizi, câteva metale grele, arsenic și sulfați. Prima zonă umedă a fost caracterizată de flux de apă subterană, o vegetație acvatică și emergentă foarte densă și o mare zonă anaerobă în care diverse bacterii reducătoare de sulfat și specii interdependente metabolice au fost prevalente în microorganisme. A doua zonă umedă a fost un sistem aerob predominant datorat unei construcții de tip cascadă a părții inferioare și fluxului de apă de suprafață. Fluxul de apă prin zonele umede a variat de la aproximativ 0.2 – 0.75 l/s, reflectând durata de rezidență de aproximativ 90 la 25 ore. O eficiență îndepărtare a acestor poluanți a fost realizată de către acest sistem în diferite anotimpuri, chiar și în lunile reci de iarnă la temperaturi ale apei apropiate de punctul de îngheț.

**Cuvinte cheie:** tratare, drenaj, minerit.

## 1. INTRODUCERE

Depozitul de uraniu Curilo, aflat în vestul Bulgariei, la aproximativ 35 km nord de Sofia, a fost vreme îndelungată un loc de activități miniere intensive folosind tehnici de minerit subterane și scurgerea uraniului

**Abstract:** acid drainage waters generated in the uranium deposit Curilo, Bulgaria, were treated by means of a passive system consisting of two constructed wetlands connected in a series. The waters had a pH in the range of about 2 – 4 and were heavily polluted by radionuclides, several heavy metals, arsenic and sulphates. The first wetland was characterized by a subsurface water flow, a very dense water and emergent vegetation and a large anaerobic zone in which different sulphate-reducing bacteria and some metabolically interdependent species were the prevalent microorganisms. The second wetland was a predominantly aerobic system due to the cascade-type construction of its bottom and the surface water flow. The water flow through the wetlands varied in the range of about 0.2 – 0.75 l/s, reflecting total residence times of about 90 to 25 hours. An efficient removal of pollutants was achieved by this system during the different climatic seasons, even during the cold winter months at water temperatures close to the freezing point.

**Keywords:** treatment, drainage, mining

## 1. INTRODUCTION

The uranium deposit Curilo, located in Western Bulgaria, about 35 km north from Sofia, for a long period of time was a site of intensive mining activities including both open-pit and underground mining techniques as well as in situ leaching of uranium. The ore was rich in pyrite and, apart from uranium, contained several non-

in situ. Minereul era bogat în pirită și, în afară de uraniu, conținea câteva metale neferoase și arsenic. Activitățile de minerit s-au încheiat cu douăzeci de ani în urmă și de atunci depozitul este o sursă permanentă de ape reziduale acide. Aceste ape au un pH scăzut (de obicei între 2 – 4) și conțin radionuclizi (în special uraniu și radium), metale grele (cupru, zinc, cadmiu, plumb, nichel, cobalt, fier, mangan), arsenic și sulfatați în concentrații de obicei mult mai mari decât limitele admise pentru apa care va fi folosită în agricultură și/sau industrie.

Diverse metode pentru inhibarea producerii sau pentru tratarea acestor ape au fost testate și unele dintre ele au fost aplicate în mod eficient în condiții reale în depozit (Nicolova et al., 2005; Groudev et al., 2007). O curățare foarte eficientă a apelor s-a obținut prin intermediul unui sistem care conține două zone umede de tipuri diferite conectate în serie. Anumite date referitoare la operația bazată pe un asemenea sistem sunt prezentate în această lucrare.

## 2. MATERIALE ȘI METODE

Zonele umede au fost construite într-o mică râpă care colecta o parte din apele acide generate în depozit. Acestea erau bazine săpate în pământ și pereții lor erau realizați din material plastic impermeabil. Părțile inferioare au fost de asemenea realizate din acest material, dar așezate pe suprafețe stabile din beton rezistent la acid. Prima zonă umedă avea formă dreptunghiulară și avea 12 m lungime, 4 m lățime și 0.9 m adâncime. Partea sa inferioară era acoperită de un strat de 0.4 m din amestec de sol, îngrășământ de plante, bălegar, calcar mărunțit, pietriș și nisip. O barieră permeabilă construită din amestec de calcar mărunțit și pietriș a fost realizată la intrarea acestei zone umede pentru a scădea aciditatea apelor poluate. Câteva bariere permeabile realizate din amestecul de mai sus de sol, îngrășământ de plante, bălegar,

ferrous metals and arsenic. The mining operations were ended twenty years ago but since that time the deposit is a permanent source of acid drainage waters. These waters have a low pH (usually in the range of about 2 – 4) and contain radionuclides (mainly uranium and radium), heavy metals (copper, zinc, cadmium, lead, nickel, cobalt, iron, manganese), arsenic and sulphates in concentrations usually much higher than the relevant permissible levels for waters intended for use in agriculture and/or industry.

Different methods to inhibit the generation or to treat these waters were tested and some of them were efficiently applied under real field conditions in the deposit (Nicolova et al., 2005; Groudev et al., 2007). A very efficient cleanup of the waters was achieved by means of a system consisting of two constructed wetlands of different type connected in a series. Some data about an operation based on such system are shown in the present paper.

## 2. MATERIALS AND METHODS

The wetlands were constructed in a small ravine, which collected a portion of the acid drainage waters generated in the deposit. They were ponds dug into the ground and their walls were made by an impermeable plastic material. The bottoms were also made by this material but were located on stable surfaces prepared by acid-resistant concrete. The first wetland had a rectangular shape and was 12 m long, 4 m wide and 0.9 m deep. Its bottom was covered by a 0.4 m layer consisting of a mixture of soil, plant compost, cow manure, crushed limestone, gravel and sand. A permeable barrier consisting of a mixture of crushed limestone and gravel was constructed at the inlet of this wetland to decrease the acidity of the polluted waters. Several permeable barriers consisting of the above-mentioned mixture of soil, plant compost, cow manure, gravel, crushed limestone and sand were constructed perpendicularly to the direction

calcar mărunțit și nisip au fost realizate perpendicular pe direcția cursului apei.

Această zonă umedă este caracterizată de curs de apă subterană, vegetație acvatică și emergentă foarte densă și o microfloră diversă. *Typha latifolia* și *Typha angustifolia* au fost principalele specii de plante și densitatea lor totală depășea 100 plante/m<sup>2</sup>. Reprezentante ale genurilor *Juncus*, *Eleocharis*, *Potamogeton*, *Carex* și *Poa* precum și diverse alge erau de asemenea prezente. Zona inferioară anaerobă mare din această zonă umedă a fost populată cu diverse bacterii reducătoare de sulfat și de microorganisme interdependente metabolic.

A doua zonă umedă avea de asemenea o formă dreptunghiulară dar m lungime și 6 m lățime. Era caracterizată de curs și suprafață, apă de suprafață destul de însemnată dar cu o adâncime foarte mică (sub 0.2 m) din cauza construcției specifice a părții sale inferioare. Această parte inferioară consta în patru trepte conectate sub formă de cascade pentru a spori aerisirea naturală a apelor. Fiecare treaptă avea 4.5 m lungime și 6 m lățime. Prim treaptă se afla la cm sub nivelul următoarei trepte. Părțile inferioare ale treptelor erau acoperite de un strat care conține un amestec de sol, îngrășământ de plante, pietriș și nisip. Comunitatea de plante avea o compoziție asemănătoare primei zone umede, dar densitatea plantelor a fost considerabil mai mică (mai mică de 20 *Typha spp./m<sup>2</sup>*). Diverse heterotrofe aerobe au fost organismele prevalente în această zonă umedă.

Rata fluxului de apă prin zonele umede varia între 0.2 – 0.75 l/s, reflectând durate de rezidență de aproximativ 90 la 25 hours.

Calitatea apelor a fost monitorizată cel puțin de două ori pe lună pe durata a trei ani în diverse puncte de prelevare localizate în zonele umede. Parametrii măsurati in situ includea: pH, Eh, oxigen dizolvat, solide total dizolvate și temperatură. Analiza

of the water flow.

This wetland was characterized by a subsurface water flow, a very dense water and emergent vegetation and a diverse microflora. *Typha latifolia* and *Typha angustifolia* were the main plant species and their total density exceeded 100 plants/m<sup>2</sup>. Representatives of the genera *Juncus*, *Eleocharis*, *Potamogeton*, *Carex* and *Poa* as well as different algae were also well present. The large anaerobic bottom zone in this wetland was inhabited by various sulphate-reducing bacteria and metabolically interdependent microorganisms.

The second wetland had also a rectangular shape but was 18 m long and 6 m wide. It was characterized by a surface flow, a relatively greater water surface but at a very small depth (less than 0.2 m) due to the specific construction of its bottom. This bottom consisted of four steps connected as cascades to enhance the natural aeration of the waters. Each step was 4.5 m long and 6 m wide. The first step was located 40 cm below the level of the bottom and outlet of the first wetland, and each step was located at a level 40 cm higher than the level of the relevant next step. The bottoms of the steps were covered by a 0.2 m layer consisting of a mixture of soil, plant compost, gravel, and sand. The plant community had a species composition similar to that of the first wetland but the plant density was considerably lower (less than 20 *Typha spp./m<sup>2</sup>*). Various aerobic heterotrophs were the prevalent microorganisms in this wetland.

The water flow rate through the wetlands varied in the range of about 0.2 – 0.75 l/s, reflecting total residence times of about 90 to 25 hours.

The quality of the waters was monitored at least twice per month in a period of about three years at different sampling points located in the wetlands. The parameters measured in situ included: pH, Eh, dissolved oxygen, total dissolved solids and temperature. Elemental analysis was done by atomic adsorption spectrometry and induced coupled plasma spectrometry in the

elementelor s-a efectuat prin spectrometrie cu absorbție atomică și spectrometrie cu plasmă cuplată indusă în laborator. Radioactivitatea mostrelor a fost măsurată folosind resturile solide care rămân după evaporare, cu un spectrofotometru de fundal gamma ORTEC (HpGe- detector cu capacitate mare de distingere). Activitatea specifică a Ra-226 a fost măsurată folosind o cameră de ionizare de 10 l. Analiza mineralogică a fost realizată prin tehnici de difracție cu raze X. Mobilitatea poluanților a fost determinată prin procedura de extracție secvențială (Tessier et al., 1979).

Izolarea, identificarea și enumerarea microorganismelor s-a realizat prin metodele descrise în altă parte (Karavaiko et al., 1988; Groudeva și Tzeneva, 2001; Hallberg și Johnson, 2001).

### 3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

Curățarea eficientă a apelor poluate s-a realizat cu ajutorul zonelor umede și concentrațiile reziduale ale poluanților au scăzut sub limitele permise pentru apele care erau destinate utilizării în agricultură și/sau industrie (Tabelul 1). Îndepărtarea poluanților a depins foarte mult de temperatura apei (Tabelul 2). Cele mai bune rezultate au fost obținute în timpul lunilor mai calde ale anului și au depins de creșterea și activitatea plantei și a comunităților de microbi care populau zonele umede.

Penetrarea apelor poluate prin bariera alcalinizantă permeabilă aflată la intrarea zonei umede a depins de neutralizarea parțială a acidității acestor ape și de creșterea pH-ului lor la valori de obicei între 4 – 6. Aceste valori erau adecvate pentru creșterea și activitatea bacteriilor reducătoare de sulfați și a altor microorganisme interdependente din punct de vedere metabolic din prima zonă umedă, cum ar fi bacteriile care degradează celuloza și bacteriile care fermentează carbohidrați cu producere de gaz (Tabelul 3).

The radioactivity of the samples was measured, using solid residues remaining after their evaporation, by a low background gamma-spectrophotometer ORTEC (HpGe- detector with a high distinguishing ability). The specific activity of Ra-226 was measured using a 10 l ionization chamber. Mineralogical analysis was carried out by X-ray diffraction techniques. The mobility of the pollutants was determined by the sequential extraction procedure (Tessier et al., 1979).

The isolation, identification and enumeration of microorganisms were carried out by methods described elsewhere (Karavaiko et al., 1988; Groudeva and Tzeneva, 2001; Hallberg and Johnson, 2001).

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

An efficient cleaning of the polluted waters was achieved by the wetlands and the residual concentrations of the pollutants were decreased below the relevant permissible levels for waters intended for use in agriculture and/or industry (Table 1). The removal of the pollutants markedly depended on the water temperature (Table 2). The best results were achieved during the warmer months of the year and were connected with the abundant growth and activity of the plant and microbial communities inhabiting the wetlands.

The penetration of the polluted waters through the permeable alkalizing barrier located at the inlet of the first wetland was connected with a partial neutralization of the acidity of these waters and an increase of their pH to values usually in the range of about 4 – 6. These values were suitable for the growth and activity of the sulphate-reducing bacteria and other metabolically interdependent microorganisms inhabiting the first wetland, such as bacteria degrading cellulose, and bacteria fermenting carbohydrates with gas production (Table 3).

**Tabelul 1.** Date referitoare la apele de drenaj înainte și după tratamentul lor

Parametri	Înainte de tratament	După prima zonă umedă	După a doua zonă umedă
pH	2.15 – 4.22	6.71 – 7.81	6.71 – 7.70
TDS, mg/l	570 – 2817	370 – 1595	350 – 1342
DOC, mg/l	0.2 – 2.8	18 – 95	12 – 28
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mg/l	307 – 1590	230 – 884	235 – 860
U, mg/l	0.18 – 3.25	0.02 – 0.10	0.01 – 0.10
Ra-226, Bq/l	0.05 – 0.50	0.01 – 0.05	0.01 – 0.03
Cu, mg/l	0.32 – 9.92	0.07 – 0.44	0.05 – 0.32
Zn, mg/l	0.80 – 25.7	0.09 – 1.72	0.05 – 0.71
Pb, mg/l	0.01 – 0.12	0.008 – 0.03	0.003 – 0.01
Cd, mg/l	0.10 – 0.95	0.04 – 0.32	0.03 – 0.12
Ni, mg/l	0.28 – 3.25	0.09 – 0.28	0.05 – 0.14
Co, mg/l	0.24 – 2.10	0.09 – 0.21	0.03 – 0.10
Fe, mg/l	71 – 990	3.2 – 28	0.7 – 3.2
Mn, mg/l	0.99 – 53	0.3 – 18	0.1 – 0.7
As, mg/l	0.02 – 0.50	0.01 – 0.10	0.003 – 0.01

**Table 1.** Data about the drainage waters before and after their treatment

Parameters	Before treatment	After 1 <sup>st</sup> wetland	After 2 <sup>nd</sup> wetland
pH	2.15 – 4.22	6.71 – 7.81	6.71 – 7.70
TDS, mg/l	570 – 2817	370 – 1595	350 – 1342
DOC, mg/l	0.2 – 2.8	18 – 95	12 – 28
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mg/l	307 – 1590	230 – 884	235 – 860
U, mg/l	0.18 – 3.25	0.02 – 0.10	0.01 – 0.10
Ra-226, Bq/l	0.05 – 0.50	0.01 – 0.05	0.01 – 0.03
Cu, mg/l	0.32 – 9.92	0.07 – 0.44	0.05 – 0.32
Zn, mg/l	0.80 – 25.7	0.09 – 1.72	0.05 – 0.71
Pb, mg/l	0.01 – 0.12	0.008 – 0.03	0.003 – 0.01
Cd, mg/l	0.10 – 0.95	0.04 – 0.32	0.03 – 0.12
Ni, mg/l	0.28 – 3.25	0.09 – 0.28	0.05 – 0.14
Co, mg/l	0.24 – 2.10	0.09 – 0.21	0.03 – 0.10
Fe, mg/l	71 – 990	3.2 – 28	0.7 – 3.2
Mn, mg/l	0.99 – 53	0.3 – 18	0.1 – 0.7
As, mg/l	0.02 – 0.50	0.01 – 0.10	0.003 – 0.01

**Tabelul 2:** Îndepărtarea poluanților din apele de drenaj în timpul diverselor anotimpuri

Poluanți	În timpul lunilor mai calde	În timpul lunilor reci (la 0 – 5°C)
	Îndepărtarea poluantului, g/24 h	
Uraniu	64 – 260	21 – 73
Cupru	114 – 527	37 – 125
Zinc	212 – 725	68 – 240

Cadmiu	1.4 – 6.0	0.3 – 1.7
plumb	19 – 73	6.2 – 23
Nichel	68 – 248	30 – 71
Cobalt	59 – 159	23 – 60
Mangan	140 – 1090	73 – 410
Arsenic	6.8 - 28	1.4 – 7.3

**Table 2:** Removal of pollutants from the drainage waters during the different climatic seasons

Pollutants	During the warmer months	During the cold months (at 0 – 5°C)
Pollutant removal, g/24 h		
Uranium	64 – 260	21 – 73
Copper	114 – 527	37 – 125
Zinc	212 – 725	68 – 240
Cadmium	1.4 – 6.0	0.3 – 1.7
Lead	19 – 73	6.2 – 23
Nickel	68 – 248	30 – 71
Cobalt	59 – 159	23 – 60
Manganese	140 – 1090	73 – 410
Arsenic	6.8 - 28	1.4 – 7.3

Neutralizarea parțială a apelor a depins de precipitarea anumitor metale, în special a fierului, aluminiului și cuprului cu hidroxizi. Acești hidroxizi au fost solvenți eficienți și pentru alte elemente, în special pentru arsenic și uraniu și au dus la co-precipitarea lor. Trebuie să reținem, totuși, că cele mai mari părți ale acestor elemente și ale altor metale grele, cu excepția manganului, în timpul lunilor călduroase ale anului (de obicei decembrie până la sfârșitul lui februarie) au fost îndepărtate în procesul de reducere a sulfatilor microbieni. Ca rezultat al acestui proces, metalele grele dizolvate și arsenicul au fost precipitate ca sulfizi insolubili. Uraniul hexavalent dizolvat a fost redus la stare tetravalentă și a fost precipitat ca peblendă ( $UO_2$ ). Ionii de hidrocarbonat produși în timpul reducerii sulfatilor au crescut pH-ul și l-au stabilizat în jurul punctului neutru.

Porțiuni de uraniu, metale grele și arsenic precum și o mare parte din radium au fost îndepărtate prin absorbția de către biomasa plantei (Tabelul 4) și minerale de argilă prezente în zona umedă. Biomasa

The partial neutralization of the waters was connected with precipitation of some metals, mainly iron, aluminum, and copper, as the relevant hydroxides. These hydroxides were efficient sorbents for some other elements, mainly for arsenic and uranium, and caused their co-precipitation. It must be noted, however, that the largest portions of these elements and of the other heavy metals, with the exception of manganese, during the warmer months of the year (usually from December to the end of February) were removed by the process of microbial dissimilatory sulphate reduction. As a result of this process, the dissolved heavy metals and arsenic were precipitated as the relevant insoluble sulphides. The dissolved hexavalent uranium was reduced to the tetravalent state and was precipitated as uraninite ( $UO_2$ ). The hydrocarbonate ions produced during the sulphate reduction also increased the pH and stabilized it around the neutral point.

Portions of the uranium, heavy metals and arsenic as well as most of the radium were removed by their sorption by the plant biomass (Table 4) and clay minerals present

plantelor moarte a fost un solvent mai eficient decât plantele vii. Unii poluanți au fost detectați în interiorul celulelor acestor plante vii. Totuși, rolul jucat de bioacumulare în îndepărtarea poluanților a fost mai scăzut decât acela jucat de bioabsorbție. Unele alge au fost solvenți eficienți de poluanți și conținutul de metale grele absorbite de acestea a depășit 15 g/kg biomasă. Unele microorganisme, atât bacterii cât și fungi, au absorbit de asemenea poluanții deși în concentrații mai scăzute decât algele.

in the wetland. The dead plant biomass was a more efficient sorbent than the living plants. Some amounts of the pollutants were detected inside the cells of these living plants. However, the role played by bioaccumulation in the removal of the pollutants was much lower than that played by the biosorption. Some algae were efficient sorbents of pollutants and the total content of heavy metals adsorbed by them exceeded 15 g/kg biomass. Some microorganisms, both bacteria and fungi, also adsorbed pollutants, although in lower concentrations than algae.

**Tabelul 3.** Microorganismele în sistem înainte și în timpul tratamentului

<i>În prima zonă umedă</i>			
Microorganisme	Înainte tratamentului	În ape	În sol
▪	Celule/ml (g)		
▪ Bacterii heterotrofe aerobe	$10^1-10^4$	$10^2-10^6$	$10^3-10^7$
Celuloza – bacterii dezintegratoare	$0-10^1$	$10^3-10^5$	$10^3-10^5$
▪ $Fe^{2+}$ litotrofi chemo+oxidanți (pH 2)	$10^4-10^7$	$0-10^3$	$0-10^1$
▪ $Fe^{2+}$ - heterotrofi oxidanți (pH 7)	0	$10^2-10^4$	$0-10^2$
Fungi	$0-10^1$	$10^1-10^4$	$10^1-10^3$
Bacterii heterotrofe anaerobe	0	$10^2-10^5$	$10^4-10^7$
Sulfat – bacterii reducătoare	0	$10^2-10^4$	$10^3-10^6$
<i>În a 2-a zonă umedă</i>			
Microorganisme	Înainte tratamentului	În ape	În sol
▪	Celule/ml (g)		Celule/ml (g)
▪ Bacterii heterotrofe aerobe	$10^1-10^4$	$10^5-10^7$	$10^3-10^5$
Celuloza – bacterii dezintegratoare	$0-10^1$	$10^2-10^5$	$10^1-10^4$
▪ $Fe^{2+}$ litotrofi chemo+oxidanți (pH 2)	$10^4-10^7$	0	0
▪ $Fe^{2+}$ - heterotrofi oxidanți (pH 7)	0	$10^3-10^6$	$10^2-10^4$
Fungi	$0-10^1$	$10^1-10^2$	$10^1-10^3$
Bacterii heterotrofe anaerobe	0	$10^2-10^4$	$10^2-10^4$
Sulfat – bacterii reducătoare	0	$10^2-10^3$	$10^2-10^4$

**Table 3.** Microorganisms in the system before and during the treatment

<i>In the 1<sup>st</sup> wetland</i>			
Microorganisms	Before treatment	In the waters	In the soil
	Cells/ml (g)		
Aerobic heterotrophic bacteria	$10^1-10^4$	$10^2-10^6$	$10^3-10^7$
Cellulose – degrading bacteria	$0-10^1$	$10^3-10^5$	$10^3-10^5$

Fe <sup>2+</sup> oxidizing chemo lithotrophs (pH 2)	10 <sup>4</sup> –10 <sup>7</sup>	0–10 <sup>3</sup>	0–10 <sup>1</sup>
Fe <sup>2+</sup> - oxidizing heterotrophs (pH 7)	0	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>	0–10 <sup>2</sup>
Fungi	0–10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> –10 <sup>4</sup>	10 <sup>1</sup> –10 <sup>3</sup>
Anaerobic heterotrophic bacteria	0	10 <sup>2</sup> –10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup> –10 <sup>7</sup>
Sulphate – reducing bacteria	0	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup> –10 <sup>6</sup>
In the 2nd wetland			
Microorganisms	Before treatment	In the waters	In the soil
	Cells/ml (g)		Cells/ml (g)
Aerobic heterotrophic bacteria	10 <sup>1</sup> –10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup> –10 <sup>7</sup>	10 <sup>3</sup> –10 <sup>5</sup>
Cellulose – degrading bacteria	0–10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>5</sup>	10 <sup>1</sup> –10 <sup>4</sup>
Fe <sup>2+</sup> oxidizing chemolithotrophs (pH 2)	10 <sup>4</sup> –10 <sup>7</sup>	0	0
Fe <sup>2+</sup> - oxidizing heterotrophs (pH 7)	0	10 <sup>3</sup> –10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>
Fungi	0–10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> –10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup> –10 <sup>3</sup>
Anaerobic heterotrophic bacteria	0	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>
Sulphate – reducing bacteria	0	10 <sup>2</sup> –10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup> –10 <sup>4</sup>

**Tabelul 4.** Conținutul de poluanți în biomasa de plante vii și moarte a *Typha latifolia* din prima zonă umedă

Poluanți	Biomasa vie	Biomasa moartă
Conținut, mg/kg biomasă uscată		
Uraniu	23 – 91	32 – 143
Cupru	37 – 152	45 – 370
Zinc	53 – 203	77 – 482
Cadmiu	5.1 – 21	10 – 32
Plumb	10 – 44	15 – 95
Nichel	18 – 95	37 – 154
Cobalt	23 – 88	37 – 122
Mangan	68 – 170	82 – 532
Arsenic	3.7 - 28	14 - 51

**Table 4.** Content of pollutants in living and dead plant biomass of *Typha latifolia* from the first wetland

Pollutants	Living biomass	Dead biomass
Content, mg/kg dry biomass		
Uranium	23 – 91	32 – 143
Copper	37 – 152	45 – 370
Zinc	53 – 203	77 – 482
Cadmium	5.1 – 21	10 – 32
Lead	10 – 44	15 – 95
Nickel	18 – 95	37 – 154
Cobalt	23 – 88	37 – 122
Manganese	68 – 170	82 – 532
Arsenic	3.7 - 28	14 - 51

Plantele și comunitățile de microbi din zonele umede s-au adaptat la concentrațiile de poluanți prezente în apele poluate. Aceasta s-a datorat faptul că proveneau din populații care timp de mulți ani au crescut

The plant and microbial communities in the wetlands were well adapted to the concentrations of pollutants present in the polluted waters. This was due to the fact that they originated from populations which



în contact cu aceste ape. Conținutul total de metale neferoase în anumite specimene de argilă depășea 30 g per kg argilă uscată, deși conținutul mediu al acestor metale absorbite de argilă a fost considerabil mai redus. Cele mai mari conținuturi de uraniu și radium absorbite de argile au depășit 3 g și respectiv 500 Bq per kg.

Rolul mecanismelor de absorbție și a neutralizării chimice au fost în special esențiale în timpul lunilor reci de iarnă când creșterea și activitatea plantei și comunităților microbiene din zonele umede au fost neglijabile sau chiar complet inhibate. Poluanții precipitați în timpul acestor luni reci au fost prezenți în sedimente în special sub formă de componentă ale fracțiilor de mobilitate de eliminare (interschimbabilă și carbonat) și numai porțiuni relativ mici au fost prezente în fracțiile oxidabile (metalele grele ca sulfizi și uraniu insolubili – sub formă de peblendă).

Oxidarea bacteriană a  $Mn^{2+}$  și  $Fe^{2+}$  s-a produs în zona aerobă din prima zonă umedă și, în consecință, aceste metale grele au fost precipitate ca  $MnO_2$  și respectiv  $Fe(OH)_3$ . Bacteriile chemolitotrofice oxidantă acidofilă  $Fe^{2+}$  - *Acidithiobacillus ferrooxidans* și *Leptospirillum ferrooxidans*, care au fost microorganismele prevalente în apele de drenaj acide de dinaintea de tratament, sunt încă prezente în prima jumătate a primei zone umede dar în densitate mai redusă (sub  $10^3$  cells/ml). În cazurile în care pH-ul apelor din această zonă era încă acid (de obicei între 3.5 – 4.5) acestea puteau oxida o porțiune din ionii de  $Fe^{2+}$  rezidual. Diverse bacterii oxidante de fier acidofile moderat au fost de asemenea prezente în această zonă. Aceste bacterii au fost izolate dintr-un ecosistem similar în timpul Proiectului Minier Wheal Jane (Hallberg și Johnson, 2005). Unele dintre ele au fost heterotrofe înrudite cu speciile *Thiomonas intermedia* (Johnson și Hallberg, 2004) sau cu *Ferrimicrobium acidiphilum* (Brafft et al., 2002). În a doua jumătate a

for many years grew in contact with these waters. The total content of non-ferrous metals in some clay specimens exceeded 30 g per kg dry clay, although the average content of these metals adsorbed by the clays was considerably lower. The highest contents of uranium and radium adsorbed by the clays exceeded 3 g and 500 Bq per kg, respectively.

The role of the sorption mechanisms and of the chemical neutralization were particularly essential during the cold winter months when the growth and activity of the plant and microbial communities in the wetlands were negligible or even completely inhibited. The pollutants precipitated during these cold months were present in the sediments mainly as components of the easily leachable mobility fractions (exchangeable and carbonate) and only relatively small portions were present in the relevant oxidizable fractions (the heavy metals as insoluble sulphides and uranium – as uraninite).

Some bacterial oxidation of  $Mn^{2+}$  and  $Fe^{2+}$  occurred in the aerobic zone in the first wetland and, as a result of this, these heavy metals were precipitated as  $MnO_2$  and  $Fe(OH)_3$ , respectively. The acidophilic  $Fe^{2+}$  - oxidizing chemolithotrophic bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*, which were the prevalent microorganisms in the acidic drainage waters before treatment, were still present in the first half of the first wetland but in lower density (less than  $10^3$  cells/ml). In the cases when the pH of the waters in this zone was still acidic (usually in the range 3.5 – 4.5) they were able to oxidize a portion of the residual  $Fe^{2+}$  ions. Some moderately acidophilic iron-oxidizing bacteria were also present in this zone. Such bacteria have been isolated from a similar ecosystem during the Wheal Jane Mine project (Hallberg and Johnson, 2005). Some of them were heterotrophs closely related to the species *Thiomonas intermedia* (Johnson and Hallberg, 2004) or to *Ferrimicrobium acidiphilum* (Brafft et al., 2002). In the second half of this wetland, where the pH was usually higher than 5, these bacteria

acestei zone umede, unde pH-ul a fost de obicei mai mare de 5, aceste bacterii au fost oxidanți prevalenți de fier și au fost prezente în special în zona aerobă. Concentrațiile majorității poluanților din afluenții din prima zonă umedă au scăzut sub valorile permise pentru apele destinate utilizării în agricultură și/sau industrie. Acești afluenți au fost îmbogățiți în compuși organici dizolvați și, în unele cazuri, conțineau încă fier și mangan în concentrații mai mari decât aceste valori.

A doua zonă umedă a fost un sistem predominant aerob în care compușii organici au fost degradați prin diversele heterotrofe care populau această zonă umedă (Tabelul 3). Concentrațiile reziduale ale fierului și manganului au fost de asemenea îndepărtate, în special ca rezultat al oxidării anterioare a ionilor de  $Fe^{2+}$  și  $Mn^{2+}$  realizată de bacteriile heterotrofe care produc peroxid ca agent real de oxidare. Unele dintre aceste bacterii și alte bacterii care trăiesc în simbioză cu ele produc catalaza enzimei, care degradează excesul de peroxid, evitând în acest fel efectul toxic.

#### 4. CONCLUZII

Datele din acest studiu au dezvăluit că apele de drenaj acide care au poluat foarte mult cu radionuclizi, metale grele, arsenic și sulfatați, pot fi tratate eficient printr-un sistem care conține două zone umede mixte (prima dintre ele predominant anaerobă și a doua predominant aerobă) conectate în serie. Compoziția, densitatea și distribuția plantei și a comunității microbiene în acest sistem sunt factorii esențiali care determină această eficiență. Pe de altă parte, expresia acestor factori depinde de tipul de construcție, forma și dimensiunea zonelor umede precum și de condițiile climatice ale zonei în care se află. Sunt de asemenea necesare condiții geologice și hidrogeologice adecvate la locul construcției acestui sistem pentru un management eficient și pentru tratarea

were the prevalent iron-oxidizers and were present mainly in the top aerobic zone. The concentrations of most pollutants in the effluents from the first wetland were decreased below the relevant permissible levels for waters intended for use in agriculture and/or industry. These effluents were enriched in dissolved organic compounds and in some cases still contained iron and manganese in concentrations higher than these levels.

The second wetland was a predominantly aerobic system in which the organic compounds were degraded by the various heterotrophs inhabiting this wetland (Table 3). The residual concentrations of iron and manganese were also removed, mainly as a result of the prior bacterial oxidation of the  $Fe^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  ions carried out by heterotrophic bacteria producing peroxide as the real oxidizing agent. Some of these bacteria or other bacteria living in symbiosis with them produced the enzyme catalase, which degraded the excess of peroxide and in this way avoided its toxic effect.

#### 4. CONCLUSIONS

The data from this study revealed that acid drainage waters heavily polluted with radionuclides, heavy metals, arsenic and sulphates can be efficiently treated by means of a system consisting of two mixed wetlands (the first of them predominantly anaerobic and the second predominantly aerobic) connected in a series. The composition, density and distribution of the plant and microbial communities in this system are the most essential factors determining this efficiency. On the other side, the expression of these factors depend on the type of construction, shape and size of the wetlands as well as on the climatic conditions in the area where they are located. Suitable geological and hydrogeological conditions in the site for construction of this system are also needed

apelor poluate. Dacă sunt dimensionate corect în ceea ce privește fluxul de apă, un asemenea sistem de curățare poate funcționa câțiva ani și poate fi considerat cel mai bun exemplu de dezvoltare durabilă a ecosistemelor antropogene, foarte asemănător cu ecosistemele naturale de același tip.

## 5. BIBLIOGRAFIE

1. Brafft, J.E., McArthur, J.V. și Shimkets, L.J. Recuperarea noii diversități bacteriene din zona umedă împădurită afectată de cărbunele rebut, *Microbiologia mediului*, 4:764-769, 2002.
2. Groudev, S.N., Georgiev, P.S., Spasova, I.I. și Nicolova, M.V.. Bioremedierea drenajului minier acid într-un depozit de uraniu, *Cercetarea avansată a materialelor*, 20-21 : 248-257, 2007.
3. Groudeva, V.I. și Tzeneva, V.. Biodiversitatea bacteriilor reducătoare de sulfat (SRB) în reactorul anaerob pentru îndepărtarea metalelor grele din apa poluată în: *Protecția mediului și biotehnologia (Aspecte inovatoare)*, A. Kujumdjieva, ed., pp. 91-120, Sofia: Banca Națională pentru Microorganismele Industriale și Culturile de Celule, 2001.
4. Hallberg, K.B. și Johnson, D.B.. Biodiversitatea microorganismelor acidofile, *Microbiologie avansată și aplicată*, 49 : 37-84, 2001.
5. Hallberg, K.B. și Johnson, D.B.. Microbiologia unui ecosistem de zonă umedă realizat pentru a remedia drenajul minier dintr-o mină cu metale grele. *Știința Mediului Total*, 338 : 53 – 66, 2005.
6. Johnson, D.B. și Hallberg, K.B.. Biogeochimia componentelor bioreactoare ale îngrășămintelor unui sistem de remediere pasiv a drenajului minier acid compus, *Știința Mediului Total*, 338 : 81-93, 2005.
7. Karavaiko, G.I., Rossi, G., Agate, A.D., Groudev, S.N. și Avakyan, Z.A., eds..

for the efficient management and treatment of the polluted waters. If properly sized with respect to the relevant water flow, such cleaning system can operate several years and can be regarded as one of the best example of sustainable development of anthropogenic ecosystems, very similar to the natural ecosystems of the same type.

## 5. REFERENCES

1. Brafft, J.E., McArthur, J.V. and Shimkets, L.J. Recovery of novel bacterial diversity from a forested wetland impacted by reject coal, *Environmental Microbiology*, 4:764-769, 2002.
2. Groudev, S.N., Georgiev, P.S., Spasova, I.I. and Nicolova, M.V.. Bioremediation of acid mine drainage in a uranium deposit, *Advanced Materials Research*, 20-21 : 248-257, 2007.
3. Groudeva, V.I. and Tzeneva, V.. Biodiversity of sulphate-reducing bacteria (SRB) in anaerobic reactor for removal of heavy metals from polluted water, in: *Environmental Protection and Biotechnology (Innovative Aspects)*, A. Kujumdjieva, ed., pp. 91-120, Sofia: National Bank for Industrial Microorganisms and Cell Cultures, 2001.
4. Hallberg, K.B. and Johnson, D.B.. Biodiversity of acidophilic microorganisms, *Advanced and Applied Microbiology*, 49 : 37-84, 2001.
5. Hallberg, K.B. and Johnson, D.B.. Microbiology of a wetland ecosystem constructed to remediate mine drainage from a heavy metal mine. *Science of the Total Environment*, 338 : 53 – 66, 2005.
6. Johnson, D.B. and Hallberg, K.B.. Biogeochemistry of the compost bioreactor components of a composite acid mine drainage passive remediation system, *Science of the Total Environment*, 338 : 81-93, 2005.
7. Karavaiko, G.I., Rossi, G., Agate, A.D., Groudev, S.N. and Avakyan, Z.A., eds..

- Biogeotehnologia metalelor. Manual, Moscova: Centrul pentru proiecte internaționale GKNT, 1988.
- 8.Nicolova, M.V., Spasova, I.I. și Groudev, S.N.. Prevenirea drenajului acid într-un depozit de uraniu în: Ingineria Protecției și Securității, C.A. Brebbia, T. Bucciarelli, F. Garzia și M. Guarascio, eds., pp. 665-673, Southampton: WIT Press, 2005.
- 9.Tessier, A., Campbell, P.G.C. și Bisson, M.. Extragerea secvențială pentru anumite metale detectabile. Chmie analitică, 51 (7), 844 – 851, 1979.
- Biogeotechnology of Metals. Manual, Moscow: Center for International Projects GKNT, 1988.
- 8.Nicolova, M.V., Spasova, I.I. and Groudev, S.N.. Prevention of acid drainage in a uranium deposit, in: Safety and Security Engineering, C.A. Brebbia, T. Bucciarelli, F. Garzia and M. Guarascio, eds., pp. 665-673, Southampton: WIT Press, 2005.
- 9.Tessier, A., Campbell, P.G.C. and Bisson, M.. Sequential extraction procedure for speciation of particulate trace metals. Analytical Chemistry, 51 (7), 844 – 851, 1979.