

CERCETĂRI ECOLOGICE LA INSTITUTUL UNIFICAT DE CERCETĂRI NUCLEARE DIN DUBNA

Inga ZINICOVSCAIA^{1,2}

¹Institutul de Chimie al AȘM

²Institutul Unificat de Cercetări
Nucleare, Dubna, Federația Rusă

ECOLOGICAL RESEARCHES AT THE UNIFIED INSTITUTE OF NUCLEAR RESEARCH FROM DUBNA

The increasing contamination of soil, sediment, and water with heavy metals by natural and industrial processes is a worldwide problem. Biosorption and bioaccumulation of heavy metals are the most promising technology involved in the removal of toxic metals from industrial waste streams and natural waters. Metal removal treatment systems using microorganisms are cheap because of the low cost of sorbent materials used and as they do not add other ions or toxic chemicals to the environment. Many bacteria and microalgae have demonstrated ability to absorb toxic elements. The present review discusses processes of: (a) chromium accumulation by *Arthrobacter* genera, (b) mercury accumulation by bacteria *Arthrobacter globiformis* and biosorption by microalgae *Spirulina platensis*; (c) zinc biosorption from model systems and waste water by *Spirulina platensis*. Most powerful primary analytical technique, neutron activation analysis, was applied to study elemental composition of microorganisms.

Introducere

Problemele de mediu, inclusiv încălzirea globală, poluarea apei, aerului, solului sunt subiecte majore de discuție at t la nivel global, c t și local [1,2], activitatea antropogenă fiind principala sursă de contaminare a mediului ambiant cu metale grele. Cunoscut sub forma unui grup de poluanți periculoși, metalele grele conduc la apariția unor probleme ecologice serioase,  ntruc t nu pot fi degradate ca poluanți organici și se acumulează în diferite părți ale lanțului alimentar[3].

Pentru îndepărtarea metalelor grele sunt folosite o serie de metode fizice și chimice. Acestea însă au unele dezavantaje, printre care: limitările eficacitate-cost, generarea unor coproduși periculoși sau ineficiența în cazul în care concentrația poluantului este mai mare de 100 mg/l[4]. Metodele biologice,

bazate pe microorganisme și plante, ajută la evitarea acestor curențe,  ntruc t sunt ușor de operat, nu produc poluări secundare și dovedesc eficiența la concentrații mici cu metale. Mecanismele prin care acționează microorganismele includ: biosorbția, biomineralizarea, acumularea intracelulară și transformările catalizate de enzime[5].

Aceasta lucrare este o revizuire a studiilor anterioare pe care subsemnata (Inga Zinicovscaia – n. r.) le-a efectuat timp de 4 ani la Institutul Unificat de Cercetări Nucleare din Dubna, în cadrul Sectorului de analiză prin activare cu neutroni, în vederea studierii proceselor de acumulare și adsorbție a metalelor grele (crom, mercur, zinc) din soluri și ape. Analiza prin activare cu neutron (AAN) a fost aplicată pentru determinarea compoziției elementare a probelor biologice.

Eliminarea cromului din mediul ambiant

Cromul este un metal greu care se utilizează în proporții considerabile în industrie și există în 9 stări de valență. Cromul hexavalent [Cr (VI)] și cromul trivalent [Cr (III)] sunt cele mai importante, deoarece au cele mai stabile forme în mediul ambiant[6,7].

Procesul de acumulare a cromului a fost studiat prin utilizarea a trei tipuri de bacterii gram-pozitive: *Arthrobacter* genera – *A. oxydans* (izolate în USA din roci bazaltice), *Arthrobacter* sp. (61 B) și *A. globiformis* (151 B) (izolate din cea mai poluată regiune a Republicii Georgia).

Procesul de cultivare a bacteriilor este descris în detaliu[8]. Pentru studierea acestui proces s-a folosit sarea cromului K_2CrO_4 în concentrații de 35, respectiv, 200 mg/l.

Compoziția elementară a probelor a fost determinată prin activare cu neutroni la reactorul IBR-2, Dubna [9,10]. Pentru determinarea izotopilor de viață-scurtă (Cu, I, Br, Mn, Mg, Na, V, K, Cl și Ca), probele au fost iradiate timp de 3 minute și măsurate după un interval de 3-5, respectiv, 20 de minute.  n cazul izotopilor de viață-lungă (Na, K, Sc, Cr, Fe, Co, Ni, Zn, As) probele au fost iradiate timp de 5 zile și măsurate de 2 ori după un interval de 4, respectiv, 20 de zile. Procesarea datelor și determinarea concentrației au fost performate în baza materialelor standard, utilizându-se programul elaborat în FLNP IUCN [11].

Concentrațiile următoarelor elemente: Na, Al, Cl, K, Fe, Co, Zn, As, Br, Rb, Sr, Sb, Ba, Tb, Th, U au fost determinate în celulele bacteriene.

Datele pentru crom arată o acumulare înaltă a metalului în bacteriile studiate (Fig. 1). Conțin-

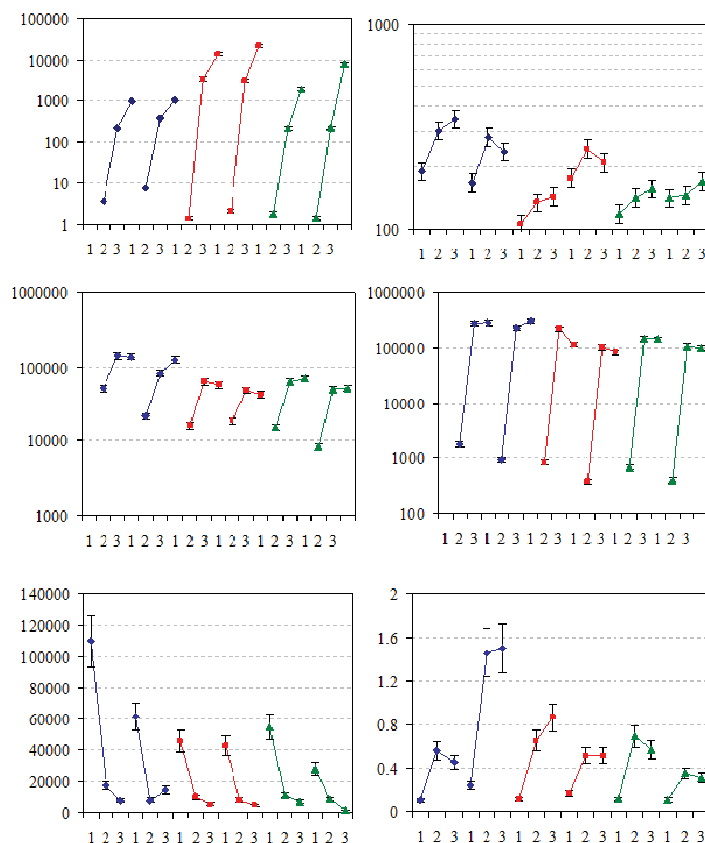


Fig. 1. Concentrația cromului în diferite specii de *Arthrobacter*: 1 – control; 2 – 35 mg/l Cr(VI); 3 – 200 mg/l Cr(VI) și concentrațiile Fe, Na, Cl, K, și U ($\mu\text{g/g}$) [12]

tul cromului în probele de control a fost mai mic de $10 \mu\text{g/g}$, însă după 4 zile de expunere a bacteriei *Arthrobacter* sp. la o concentrație de 35 mg/l a Cr(VI), concentrația în probă a ajuns la $3 \cdot 10^3 \mu\text{g/g}$. În bacteriile tratate cu cromatul de potasiu au fost observate unele similarități în comportamentul următoarelor metale: Na, K, Cl, Fe. În primul rând, expunerea la Cr(VI) a cauzat micșorarea concentrației de potasiu și mărirea concentrației de sodiu și de clor. Micșorarea concentrației de K presupune că o parte a cromului a penetrat celula bacteriană. Estimările NAA pentru fier susțin această concluzie. În bacteriile studiate crește semnificativ conținutul fierului la adăugarea Cr(VI), fapt ce indică activarea sistemului protectiv al bacteriilor.

U, Rb, Nd, As au fost depistate în toate bacteriile. Aceste elemente sunt toxice pentru celulă. Comportamentul unora dintre ele (spre exemplu U), arată că permeabilitatea peretelui celular al bacteriilor s-a schimbat după tratarea cu ioni de crom.

În cazul bacteriei *Arthrobacter globiformis* 151B, s-a studiat procesul de acumulare a cromului în prezența sărurilor de mercur ($500 \mu\text{g/l}$). Concentrația K_2CrO_4 a variat în intervalul 50-1000 mg/l. Probele au fost iradiate la reactorul „Hoger Onderwijs Reactor” în Institutul de Tehnologie din Delft [13,14]. Pentru determinarea compoziției multielementare complexe a probelor au avut loc două ira-

dieri și trei măsurări.

Recent, Tsibakhashvili et al. au arătat că acumularea cromului de către *A. globiformis* 151B este dependentă de concentrația sării, iar caracterul ei se schimbă semnificativ la concentrații înalte a Cr(VI) [15]. Fig. 2 ilustrează caracterul de acumulare a Cr, care se schimbă semnificativ atunci când se adaugă în mediul de cultivare o concentrație de $500 \mu\text{g/l}$ Hg(II). În acest caz, nivelul de acumulare a cromului este mai înalt.

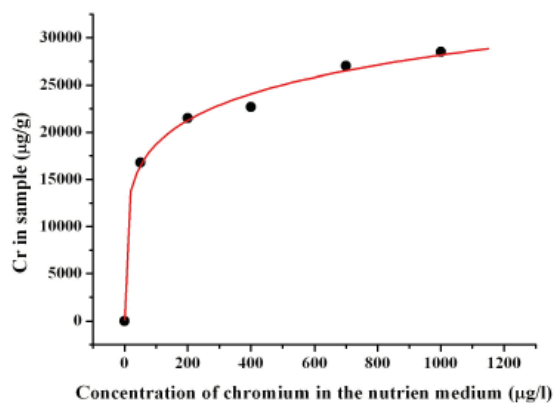


Fig. 2. Acumularea cromului de către *A. globiformis* 151B în prezența ionilor de Hg(II) (○) respectiv fără ioni de Hg(II) (Δ) în mediul de cultivare [17]

Rezultatele obținute pot fi explicate în modul următor: ionii de Hg(II) pot fi legați de grupele funcționale încărcate negativ de pe suprafața celulei bacteriene, ceea ce ar putea ajuta la contactul între ionii de Cr(VI) și celula bacteriană. Este bine cunoscut faptul că ionii de Cr(VI) se acumulează ușor prin canalele SO₄²⁻ [16].

Eliminarea mercurului din mediul ambiant

Mercurul este eliberat în mediul ambiant ca urmare at t a proceselor naturale, c t și a activităților antropogene.

Procesul de acumulare a mercurului s-a studiat utiliz ndu-se bacteria *A. globiformis* 151B.  n mediul de cultivare[8] a fost adăugată sarea mercurului [Hg(NO₃)₂·H₂O] în diferite concentrații, 50–5000 μg/l. Probele au fost iradiate la reactorul „Hoger Onderwijs Reactor”  n Institutul de Tehnologie din Delft[13,14].

Rezultatele obținute sunt prezentate în Fig. 3. Acestea ilustrează că procesul de acumulare a mercurului include doua faze – rapidă ( n intervalul concentrațiilor 50-1000 μg/l) și lentă ( ncep nd cu 1000 μg/l).

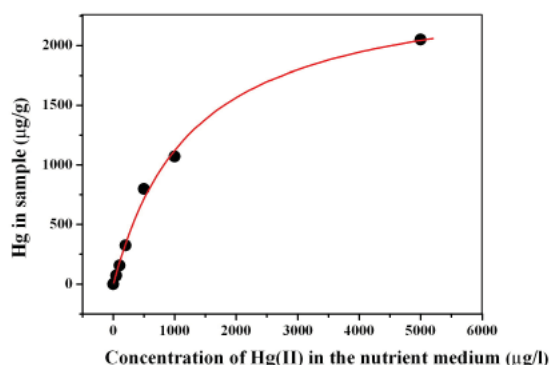


Fig. 3. Acumularea mercurului de către *A. globiformis* 151B

Faza rapidă poate fi asociată cu legarea metabolismului – independența ionilor de Hg(II)  n raport cu suprafața bacteriană. Peretele celular al *Arthrobacter* conține lipide, un strat de peptidoglycan, acizi teichoici și proteine[18]. Grupele funcționale ale acestor biomolecule furnizează grupele amino, carboxylice, phosphate și thiolice, toate acestea capabile de a lega ionii metalelor.

Faza lentă de acumulare a mercurului poate fi explicată prin asimilarea intercelulară a ionilor de Hg(II), care depinde de metabolismul celular. Odată ce ionii metalelor pătrund în interiorul celulei, ele pot fi preferențial localizate între organele specifice și/sau legate de proteine, precum metalloteonina.

Procesul de biosorbție a mercurului a fost stu-

diat folosind microalga *Spirulina platensis* de la Institutul de Fiziologie a Plantelor „Timiryazev” a Academiei de Științe a Rusiei.

Microalga *Spirulina platensis* (*S. platensis*) este pe larg folosită ca bază pentru preparate farmaceutice[19] și pentru îndepărtarea metalelor, precum nichel, cupru, crom, etc. din obiectele mediului ambiant[20-22].

Pentru a studia adsorbția ionilor de Hg(II), în mediul de cultivare a fost adăugat HgNCH₂COOH în concentrație de 500 μg/l. Dinamica procesului de adsorbție a fost studiată în timpul unei ore, însa de obicei acesta durează 1-2 ore. Probele au fost obținute după 2, 10, 20, 40, respectiv, 60 de minute de la începutul cultivării.

Conținutul mercurului în probe a fost determinat la reactorul IBR-2 după linia γ cu energia izotopului ²⁰³Hg de 279.1 keV.

Rezultatele investigației procesului de adsorbție al ionilor de mercur sunt prezentate în Fig. 4. După cum se poate lesne observa, concentrația maximă a mercurului este adsorbită în 50 de minute, după care are loc o diminuare a concentrației.

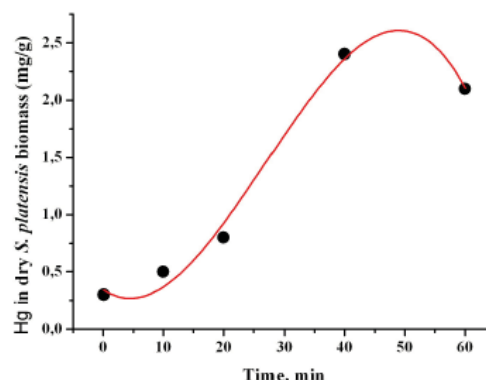


Fig. 4. Hg(II) adsorbția de către *Spirulina platensis*

Ionii de metale interacționează cu grupări încărcate negativ – carboxil și fosfat de pe suprafața celulelor și a membranei celulare sau pătrund prin canalele specifice de transport, cum ar fi canalele de Mg²⁺, Mn²⁺ și Ca²⁺. Metalele care au pătruns în celulă se găsesc în diferite structuri celulare: ADN și ribozomi.

Eliminarea zincului din mediul ambiant

Zincul este un microelement esențial pentru mai multe microorganisme, inclusiv microalgele. Cu toate acestea, el devine toxic atunci c nd este disponibil în concentrații mai mari[23].

Pentru a studia procesul de biosorbție a zincului au fost create două sisteme model ( n biomasa *S. Platensis* s-a adăugat sarea zincului ZnSO₄ în

concentrații de 100mg/l și 1000mg/l). S-a utilizat *S. platensis* de la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM. Probele au fost obținute după un interval de 5, 15, 30, respectiv, 60 de minute de la începutul cultivării. În afară de experimente, s-au studiat modele și procesul de adsorbție a zincului din apele reziduale de la Uzina „Moldagrotehnica” din or. Bălți. Probele urmează să fie iradiate la reactorul nuclear IBR-2, Dubna, în iunie 2012.

Concluzii

- Prin metoda AAN este posibil de controlat procesul de acumulare și biosorbție a metalelor de către microorganisme.

- Biomasa *S. platensis* și a *Artrobacter* poate fi cu succes folosită pentru eliminarea metalelor din obiectele mediului ambiant.

Mulțumiri

Țin să aduc mulțumiri: Acad. Gh. Duca și Dr. M. Frontasyeva pentru posibilitatea de a realiza cercetări în cadrul Institutului Unificat de Cercetări Nucleare din Dubna, precum și echipei de cercetători din Sectorul de analiză prin activare cu neutroni. Îi mulțumesc în mod deosebit pentru ajutorul acordat la pregătirea acestui articol Andrei Oprea de la Institutul Național de Fizică și Inginerie Nucleară „Horia Hulube”, Romania.

Bibliografie

1. Duca, Gh.; Furdui, T.; Toderaș, I.; Lupașcu, T.; Guceac, I.; Alcaz, V.; Voloșciuc, L.; Teleuță, A.; Dediu, I.; Sandu, M.; Stegărescu, V.; Porubin, D.; Andrieș, S.; Ungurean V. (2011) Cercetări științifice în domeniul protecției mediului. Starea mediului în Republica Moldova în anii 2007-2010 (Raport. Național), 155-159.
2. Smejkalová, M.; Mikanová, O.; Borůvka, L. (2003) Effects of heavy metal concentrations on biological activity of soil micro-organisms. *Plant Soil Environ.* 49, 2003, 7, 321-326.
3. Wang, J.; Chen, C. *Biotechnology Advances.* (2009) Biosorbents for heavy metals removal and their future. 27, 195-226.
4. Haferburg, G.; Kothe, E. J. (2007) Microbes and metals: interactions in the environment *Basic Microbiol.* 47, 453-467.
5. Smith, W. A.; Apel, W. A.; Petersen, J. N.; Beyton, B.M. (2002) Effect of carbon and energy source on bacterial chromate reduction. *Bioremed. J.* 6, 205-215.
6. Francisco, R.; Alpoim, M.C.; Morais, P.V. (2002) Diversity in chromium resistant and reducing bacteria in a chromium-contaminated activated sludge. *J. Appl. Microbiol.* 92, 837-843.
7. Tsibakhashvili, N. Ya.; Mosulishvili, L.; Kirkesali, E.; Kalabegishvili T.; Kerkenjia, S.; Frontasyeva, M.V.; Duca, Gh.; Zinicovscaia, I. (2009) Epithermal neutron activation analysis for bacterial transformations of chromium. *Chem. J. Mold.* 4 (2), 8-13.

8. Frontasyeva, M.V. (2011) Neutron activation analysis for the Life Sciences. A review. „Physics of Particles and Nuclei”, 42, 2.
9. Frontasyeva, M.V.; Pavlov, S.S. (1999) REGATA Experimental Setup for Air Pollution Studies. In „Problems of Modern Physics”. Editors: A.N. Sissakian, D.I. Trubetskoy. Dubna, JINR, 152-158.
10. Ostrovnaia, T. M.; Nefedyeva, L. S.; Nazarov, V. M.; Borzakov, S. B.; Strelkova, L. P. (1993) Proceedings, Activation Analysis in Environment Protection, Dubna, p. 319, preprint D-14-93-325.
11. Tsibakhashvili, N.Ya.; Mosulishvili, L.; Kirkesali, E.; Kalabegishvili, T.; Kerkenjia, S.; Frontasyeva, M.V.; Duca, Gh.; Zinicovscaia, I. (2009), Epithermal neutron activation analysis for bacterial transformations of chromium. *Chem. J. Moldova.* 4, 8-13.
12. Bode, P. (2000) Quality and project management for scientific research in INAA. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 245,127-132.
13. Koster-Ammerlaan, M. J. J.; Bode, P. (2009) Improved accuracy and robustness of NAA results in a large throughput laboratory by systematic evaluation of internal quality control data. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 280, 445-449.
14. Tsibakhashvili, N.; Mosulishvili, L.; Kalabegishvili, T.; Kirkesali, E.; Murusidze, I.; Kerkenjia, S.; Frontasyeva, M.; Holman, H-Y. (2008) *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 278, 565-569.
15. Kalabegishvili, T.; Tsibakhashvili, N.; Murusidze, I.; Pataraya, D.; Gurielidze, M.; Holman, H-Y. (2006) In: *Modern Multidisciplinary Applied Microbiology* Wiley-VCH 516-520.
16. Tsibakhashvili, N.; Mosulishvili, L.; Kirkesali, E.; Murusidze, I.; Frontasyeva, M. V.; Pavlov, S. S.; Zinicovscaia, I. I.; Bode, P.; van Meerten, Th. G. (2010) NAA for studying detoxification of Cr and Hg by *Arthrobacter globiformis* 151B. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 286, 533-537.
17. Salzman, G.; Holz, O. (2002) *The Bacterial Cell Wall*, fourth ed., Springer-Verlanger, Berlin. Heidelberg, New York, pp. 211-217.
18. Belay, A.; Ota, Y.; Miyakawa, K.; Shimamatsu, H. (1993) Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *J. Appl. Phycol.* 5, 235-241.
19. Solisio, C.; Lodi, A.; Torre, P.; Converti, A.; Del Borghi, M. (2006) Copper removal by dry and re-hydrated biomass of *Spirulina platensis*. *Bioresource Technol.* 97, 1756-1760.
20. Doshi, H.; Ray, A.; Kothari, I. L. (2007) Bioremediation Potential of Live and Dead *Spirulina*: Spectroscopic, Kinetics and SEM Studies. *Biotechnol. Bioeng.* 96, 264-277.
21. Disyawongs, G. (2002) Accumulation of Copper, Mercury and Lead in *Spirulina Platensis* studied in Zarrouk's Medium. *The Journal of KMITNB.* 12, 4.
22. Monteiro, C. M.; Fonseca, S. C.; Castro, P. M. L.; Xavier Malcata, F. (2011) Toxicity of cadmium and zinc on two microalgae, *Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus pleiomorphus*, from Northern Portugal. *Appl. Phycol.* 23, 97-103.