

VI САБИНИНСКИЕ ЧТЕНИЯ

Доклад

«Взаимодействие микроводорослей
с металлами на примере
Arthrospira (Spirulina) platensis»

(И. Зиньковская)

Москва, 2017

УДК 581.1+581.6+574+574.522+574.58+582.22+574.583

ББК 28.591я473

Ш52

Сабининские чтения, посвященные памяти выдающегося советского физиолога растений Д.А.Сабина, проводятся кафедрой физиологии растений Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и научным информационно-аналитическим интернет-журналом «*Вопросы современной альгологии*»

Ш52 VI Сабининские чтения. Доклад «Взаимодействие микроводорослей с металлами на примере *Arthrospira (Spirulina) platensis*» (И. Зиньковская) – М.: Издательство «Перо», 2017. – 33 с.

ISBN 978-5-907016-65-1

В докладе Инги Зиньковской «*Взаимодействие микроводорослей с металлами на примере Arthrospira (Spirulina) platensis*», представленном в 2017 г. на ежегодных VI Сабининских чтениях, проводимых кафедрой физиологии растений Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и журналом «Вопросы современной альгологии» при поддержке Московского общества испытателей природы (МОИП) дается обзор работ по изучению взаимодействия микроводоросли *Arthrospira (Spirulina) platensis* с металлами. Показано, что основными механизмами данного взаимодействия являются биосорбция, биоаккумуляция и биотрансформация металлов до наночастиц. Определены оптимальные условия получения наночастиц золота и серебра. Показано влияние различных факторов на биосорбцию ионов металлов. Проведен сравнительный анализ процессов биоаккумуляции и биосорбции металлов из промышленных стоков. Результаты исследований позволяют сделать вывод, что микроводоросль *A. platensis* может быть успешно применена для процессов биоремедиации водных систем и получения наночастиц металлов.

УДК 581.1+581.6+574+574.522+574.58+582.22+574.583

ББК 28.591я473

ISBN 978-5-907016-65-1

© Зиньковская И.И., 2017

© Составление, оформление. «Вопросы современной альгологии», 2017

*Памяти Дмитрия Анатольевича
Сабинина посвящается...*



**Дмитрий Анатольевич Сабинин
(1889 – 1951)**

Дмитрий Анатольевич Сабинин (1889 – 1951) – выдающийся советский ученый, крупнейший специалист в области физиологии растений, основоположник отечественной научной школы физиологов растений. Доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии растений МГУ им. М.В. Ломоносова (1932–1948). Лауреат премии им. К.А.Тимирязева (1941), лауреат премии Президиума АН СССР за монографию «Физиология развития растений» (1957, посмертно). Имя Сабинина присвоено малой планете № 6591, открытой 1986 году. В 1989 году МГУ была учреждена премия им. Д.А. Сабинина, которая присуждается за большой вклад в развитие биологических наук.

Павел Александрович Генкель, ученик Дмитрия Анатольевича, писал о нем: «В лице Д.А. Сабинина наука имела глубоко принципиального ученого, в котором хорошо сочетались огромная эрудиция теоретика и талант экспериментатора, умевшего не только точно, но и красиво работать. Эрудиция Д.А. Сабинина помогала ему строить предположения и гипотезы, которые далеко превосходили выводы цитируемых им авторов. При этом Д.А. Сабинин всегда стремился связать свои теоретические разработки с практикой.

Роль его в науке не ограничивалась только личными исследованиями. Д.А. Сабинин явился создателем школы физиологов растений. Он ярко, с поразительным блеском мысли и глубоким проникновением в существо вопроса читал лекции и вел семинары сначала в Пермском, а затем в Московском университетах, в которых он в течение многих лет возглавлял кафедру физиологии растений.

Пройдет время, уйдут из жизни все люди, знавшие, ценившие и любившие Д.А. Сабинина, но память о нем не должна кануть в Лету, а его жизнь должна стать славным примером глубокой преданности Родине, честного и

принципиального служения науке для всех тех, кто видит в ней свое жизненное призвание».

Любознательный и эрудированный ученый, Д.А. Сабинин проявлял интерес к разным группам фототрофных организмов. В молодости, помимо высших растений, в сфере его научных интересов были пресноводные микроводоросли. Будучи уже известным физиологом растений, работая на Геленджикской биостанции, он одним из первых российских ученых стал заниматься физиологией морских макрофитов. Его интересовали рост и развитие, продукционные характеристики, минеральное питание этой группы организмов и даже возможности определения их возраста. Позднее он разрабатывал теорию о биогеохимической роли морских водорослей в биосфере планеты.

Проводя в рамках **Сабининских чтений** научно-практические конференции «Экологическая физиология водных фототрофов: распространение, запасы, химический состав и использование» мы тем самым демонстрируем преемственность его идей новыми поколениями физиологов и подтверждаем актуальность включения новых объектов исследований в сферу интересов физиологии растений.

Идеи Д. А. Сабинина и современность

Вода, находящаяся в различных физико-химических состояниях, одновременно является и средой обитания, условием, и ресурсом, а также основной составной частью всех живых организмов, включая гидробионтов, таким образом, **в широкой трактовке, границы гидросферы должны практически совпадать с границами биосферы.**

За последние 100 лет потребление воды для бытовых и производственных нужд в мире увеличилось в семь раз, что превысило допустимые нормы в 10 раз. Параллельно, с увеличением роста населения и индустриализации наблюдается мощнейшее загрязнение водной среды. Образовавшийся и постоянно усиливающийся дефицит и загрязнение пресной воды приводит к тому, что **пресная вода становится критическим фактором развития мировой экономики и самой жизни людей.**

В 1964 г. американские физики К. Девис и Дж. Дэй назвали воду зеркалом науки. Перефразируя это выражение, выдающийся отечественный исследователь и популяризатор науки Владимир Федорович Дерпгольц писал: «...отношение к воде – зеркало ученого-естествоиспытателя». Жизнь возможна даже без кислорода (анаэробы), но невозможна без воды (Дерпгольц, 1979).

Таким образом, **современная гидроэкология реально является экологической дисциплиной биосферного масштаба.** Более того, сегодня формируется новое отношение к гидроэкологии как стратегической науке, имеющей государственное и планетарное значение, что, в свою очередь, обязывает все государства выводить ее в ранг приоритетных научных дисциплин современности. Кроме того, по-новому начинает звучать тема биогеохимии и ее неотъемлемой связи с гидроэкологией. В связи с мощным загрязнением водной среды вновь появляется необходимость анализа или

правильной оценки переноса и вклада живого вещества, а соответственно химических элементов, в пределах трех геосфер: гидросферы, литосферы и атмосферы на современном этапе.

Безусловно, сегодня правильное решение задач гидроэкологии и загрязнения водной среды возможно только при системном и комплексном подходе и обязательно совместно со специалистами других областей науки.

Интересно отметить, что за два десятилетия до активного развития биогеохимических исследований, включая анализ антропогенного вклада в биогеохимические процессы, большой интерес к различным аспектам этой науки проявил Д.А. Сабинин. Более того, он одним из первых проявил интерес к водной среде, а помимо высших наземных растений уже в конце 40-х годов обратил серьезное внимание на водоросли.

Важно подчеркнуть, что работы Д.А. Сабинина, связанные с различными аспектами минерального питания высших растений и водорослей, имеют одинаковое значение как для физиологии растений, так и биогеохимических исследований наземных и водных экосистем. Более того, эти знания могут быть использованы для практических целей, например при очистке водной среды, для процессов биоремедиации, а также для получения редких минеральных элементов, используемых во многих отраслях промышленности.

Фундаментальность работ Д.А. Сабинина неоспорима. Анализируя его труды, можно проследить, как высказанные им идеи со временем реализовались в целые направления. Вниманию читателей представляется работа, которая блестяще подтверждает эти слова.

Камнев А.Н.

Взаимодействие микроводорослей с металлами на примере *Arthrospira (Spirulina) platensis*

Инга Зиньковская^{1,2,3}

¹Объединённый институт ядерных исследований, Дубна, Россия

²Национальный институт физики и ядерной технологии
имени Хории Хулубея, Бухарест, Румыния

³Институт химии АН Молдовы, Кишинев, Молдова

Представлен обзор работ по изучению взаимодействия микроводоросли *Arthrospira (Spirulina) platensis* с металлами. Показано, что основными механизмами данного взаимодействия являются биосорбция, биоаккумуляция и биотрансформация металлов до наночастиц. Определены оптимальные условия получения наночастиц золота и серебра. Показано влияние различных факторов на биосорбцию ионов металлов. Проведен сравнительный анализ процессов биоаккумуляции и биосорбции металлов из промышленных стоков. Результаты исследований позволяют сделать вывод, что микроводоросль *Arthrospira (Spirulina) platensis* может быть успешно применена для процессов биоремедиации водных систем и получения наночастиц металлов.

Ключевые слова: микроводоросль, *Arthrospira (Spirulina) platensis*, биосорбция, биоаккумуляция, наночастицы, нейтронный активационный анализ

Введение

Микроорганизмы взаимодействуют с металлами в естественных и искусственных средах, изменяя их состояние. Металлы, в свою очередь, оказывают значительное влияние на рост и активность микроорганизмов. Взаимодействие микроорганизмов с металлами включает в себя несколько ключевых механизмов, таких как: биосорбция, биоаккумуляция, биотрансформация, биоминерализация, биовыщелачивание и т.д., способствующих снижению токсичности металлов, их удалению из среды, а также образованию наночастиц.

Микроводоросли представляют собой морфологически разнообразную группу фототрофных прокариотов с

высокой степенью адаптации к условиям окружающей среды. Среди микроводорослей *Arthrospira (Spirulina) platensis* (артроспира/спирулина платенсис) привлекает особое внимание благодаря своему уникальному химическому составу, который позволяет использовать ее в различных физиологических, биохимических и молекулярно-биологических исследованиях. Помимо применения спирулины для получения биомассы, обогащенной микроэлементами (Se, I, Cr), она все чаще используется для удаления или извлечения металлов из водных растворов и промышленных стоков. Штамм, использованный в настоящем исследовании – *Arthrospira (Spirulina) platensis* CNM-CB-11, был получен из коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии и биотехнологии Академии наук Молдовы.

Для описания процессов взаимодействия микроорганизмов с металлами используется широкий спектр аналитических методов (таблица 1).

Таблица 1. Аналитические методы, используемые в биотехнологических исследованиях (Park et al. 2010)

Метод	Применение
ААС, ИСП-МС, ИСП-АЭС	Определение концентрации металлов в растворе
НАА	Определение концентрации металлов в биомассе
РЭМ/ПЭМ	Визуализация микроорганизмов
ЭДС	Элементный состав биомассы
Титрование	Определение активных центров и их количества
ИК, ЭПР, ЯМР	Определение активных центров
ТГА, ДСК	Определение термической стабильности биомассы
Рентгеноструктурный анализ	Определение кристаллической структуры и химического состава металла связанного с биомассой
РФЭС	Определение окислительного состояния металла связанного с биомассой

Традиционно для определения элементного состава биомассы используются такие методы как атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС), атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС), масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС), нейтронный активационный анализ (НАА) (Zinicovscaia et al., 2015; Zinicovscaia et al., 2013; Greenberg et al., 1990; Frontasyeva et al., 2006; Mosulishvili et al., 2002) и др. ААС, ИСП-АЭС и ИСП-МС требуют предварительной пробоподготовки исследуемых образцов, что часто является дополнительным источником погрешности результатов анализа. В то время как НАА является неразрушающим методом анализа, позволяющим определять более 45 элементов в биологических образцах. К преимуществам НАА также относятся высокие чувствительность, селективность, точность, отсутствие матричных эффектов, независимость результатов от формы химических соединений, простота подготовки проб (Frontasyeva, 2011; Anonymus, 2001). Ограниченное использование метода объясняется необходимостью наличия источника нейтронов, в качестве которого обычно выступает ядерный реактор.

В данной работе рассматриваются некоторые примеры взаимодействия микроводоросли *Arthrospira (Spirulina) platensis* с металлами, изученные с помощью аналитических методов исследования.

1. Биосинтез наночастиц металлов

В последние годы микробные технологии получения наночастиц металлов нашли широкое применение в промышленности и медицине. Основными преимуществами биологических методов синтеза наночастиц по сравнению с традиционными, химическими и физическими, методами являются более мягкие условия синтеза и возможность получения биосовместимых наночастиц. Среди наночастиц металлов особый интерес представляют

наночастицы золота и серебра, благодаря их оптическим, каталитическим, антимикробным свойствам, что позволяет использовать их в электронике, катализе, медицине, фармакологии, химическом зондировании, биосенсорных исследованиях и фотонике. В медицине наночастицы могут быть использованы в онкологии, кардиологии, иммунологии, неврологии и эндокринологии (Zang et al., 2008; Dykman, Khlebtsov, 2011).

1.1. Получение наночастиц золота

Наночастицы золота обладают стабильностью, стойкостью к окислению и биосовместимостью. Благодаря своим оптическим и химическим свойствам они могут использоваться для ранней диагностики и лечения рака (Das, Marsilli, 2010).

Процесс образования наночастиц золота биомассой *A. platensis* был изучен в зависимости от: (1) концентрации золотохлористоводородной кислоты в растворе и (2) продолжительности инкубации. Для изучения зависимости образования наночастиц золота от концентрации золотохлористоводородной кислоты, 1 г биомассы, промытой от питательной среды, смешивали со 100 мл раствора золотохлористоводородной кислоты с различными концентрациями (10^{-2} – 10^{-4} М) и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 дней при непрерывном встряхивании (рН 5,5, T=21°C).

При добавлении золотохлористоводородной кислоты к биомассе спирулины наблюдалось изменение цвета суспензии от зеленого к фиолетовому, что указывает на образование наночастиц золота. Спектры оптического поглощения полученных коллоидных растворов приведены на рис. 1. Наличие пика плазмонного резонанса в области 550 нм характерно для наночастиц золота (рис. 1).

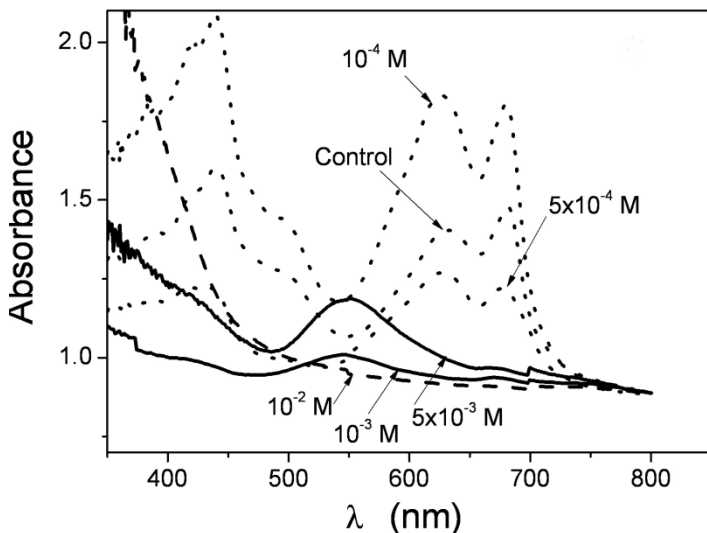


Рис. 1. Спектры суспензии *A. platensis* (УФ-вид), полученные при различных концентрациях золотохлористоводородной кислоты (Kalabegishvili et al., 2013; Zinicovscaia, 2013)

Изображения, полученные с помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ) (рис.2), показывают, что процесс образования наночастиц золота происходит внеклеточно. В контрольном образце и в биомассе, с добавлением HAuCl_4 в концентрации 10^{-4} М, наночастиц не наблюдались. Увеличение концентрации HAuCl_4 до $5 \cdot 10^{-4}$ и 10^{-3} М привело к образованию сферических наночастиц со средним линейным размером 14 нм. При концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М на поверхности клеток образовывались сферические, треугольные, гексагональные и другие формы наночастиц. Размер частиц, образующихся при концентрации 10^{-2} М, варьировал от нескольких нм до примерно 10 мкм.

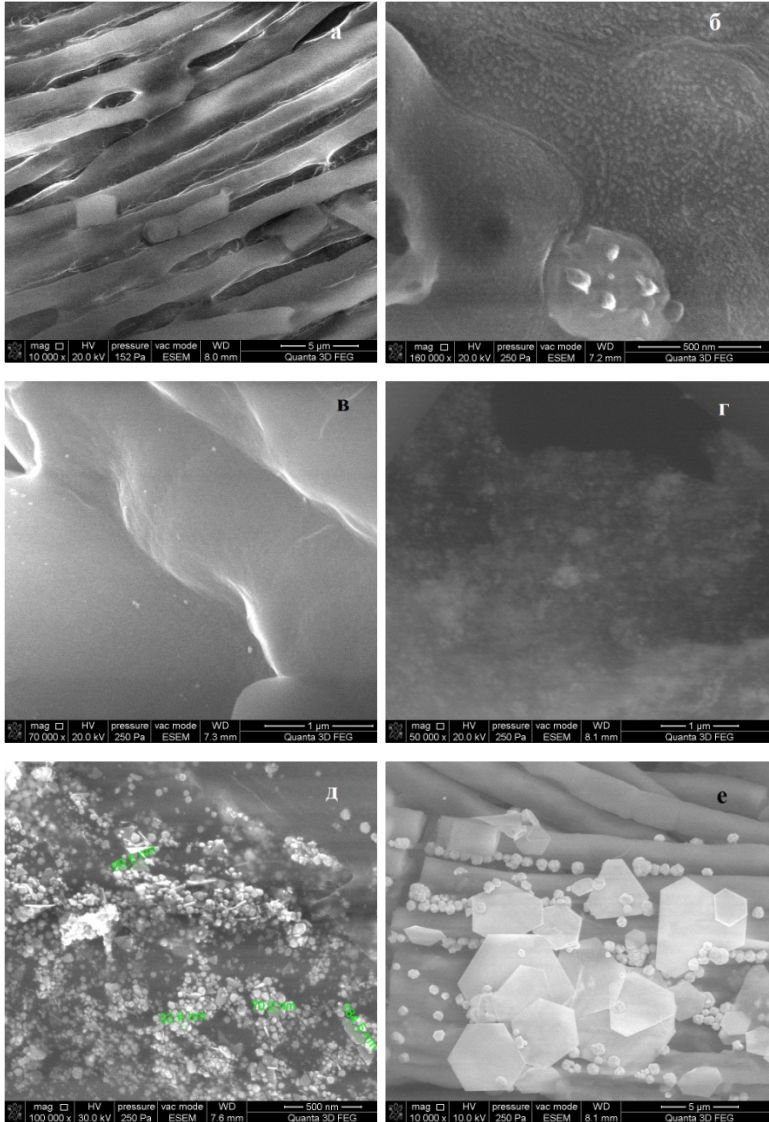


Рис. 2. РЭМ изображения *A. platensis* при различных концентрациях золотохлористоводородной кислоты: (а) контроль, (б) 10^{-4} М, (в) $5 \cdot 10^{-4}$ М, (г) 10^{-3} М, (д) $5 \cdot 10^{-3}$ М, (е) 10^{-2} М (Kalabegishvili et al., 2013; Zinicovscaia, 2013)

Для объяснения механизма образования наночастиц различных форм и размеров была предложена схема представленная на рис. 3. При низких концентрациях ионов золота относительно содержание биомолекул в клетках высоко и образование наночастиц протекает с высокой скоростью, а полученные наночастицы в основном изотропны. При высокой концентрации ионов золота первоначально формирующиеся наночастицы являются термодинамически неустойчивыми из-за недостаточной лигандной защиты, что приводит к: (i) быстрому росту частиц в более крупные образования, путем постоянного добавления атомов золота, образующихся при восстановлении AuCl_4^- или (ii) агрегации и слиянию нестабильных частиц в более крупные формы (Das et al., 2010).

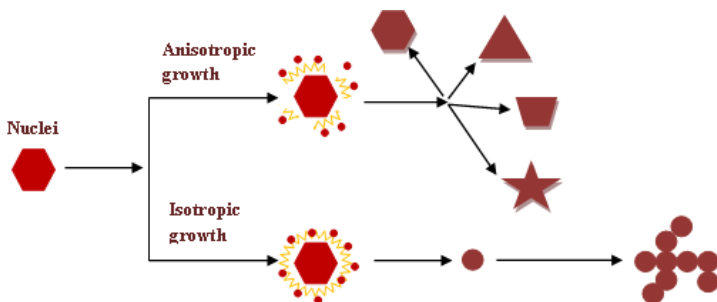


Рис. 3. Механизм образования наночастиц золота различных форм (Das et al., 2010)

Как известно, реакционная способность наночастиц сильно зависит от их размера. Более активными считаются наночастицы меньшего размера. На основании этого можно сделать вывод, что оптимальная концентрация золотохлористоводородной кислоты для образования наночастиц золота составляет 10^{-3} М. Таким образом, для изучения влияния продолжительности инкубации на образование наночастиц золота использовался раствор золотохлористоводородной кислоты в концентрации 10^{-3} М. 1 г влажной биомассы спирулины смешивали со 100 мл HAuCl_4 ($\text{pH} \approx 5,5$, $T=21^\circ\text{C}$) и инкубировали при комнатной температуре и постоянном встряхивании в течение нескольких дней (1–6 дней).

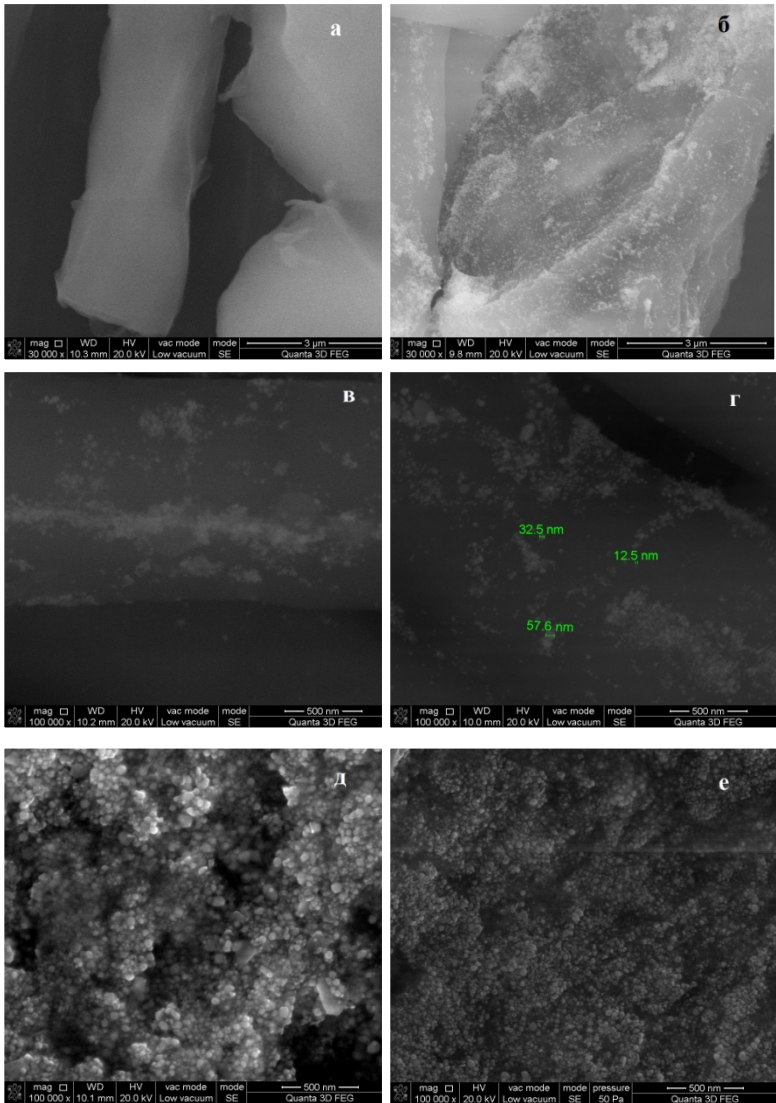


Рис. 4. РЭМ изображения *A. platensis* при различной продолжительности инкубации: (а) контроль, (б) 1 день, (в) 2 дня, (г) 3 дня, (д) 5 дней, (е) 6 дней

Полученные изображения РЭМ показали, что размер и распределение наночастиц золота зависят от продолжительности инкубации. Наночастицы золота, полученные при продолжительности инкубации один день, были равномерно распределены на поверхности клеток микроводоросли (рис. 4). Через 2 и 3 дня инкубации были получены наночастицы в основном сферических форм, которые создают небольшие агломераты на поверхности клеток. Крупные агломераты наночастиц наблюдались после 5–6 дней инкубации. Размеры частиц варьировали от 16 до 200 нм (Kalabegishvili et al., 2013).

Спектр ЭДС подтвердил наличие наночастиц золота в биомассе *A. platensis* (рис. 5).

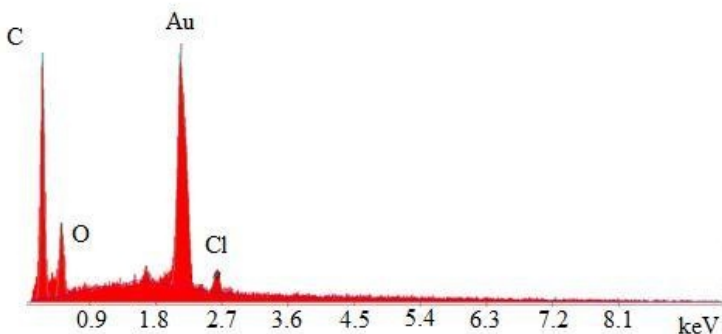


Рис. 5. ЭДС спектр биомассы *A. platensis* с наночастицами золота после контакта с ионами хлороаурата в течении 5 дней (Kalabegishvili et al., 2013; Zinicovscaia, 2013)

Как показали полученные данные, оптимальное время, необходимое для образования наночастиц золота, не должно превышать 1–2 дня.

1.2. Биосинтез наночастиц серебра

Наночастицы серебра нашли применение в нелинейной оптике, текстильной и химической промышленности, биотехнологии, биоинженерии, водоподготовке и медицине (Seshadri et al., 2012; Jena et al., 2013).

Процесс образования наночастиц биомассой *A. platensis* исследовали в течение разных интервалов времени (24–72 часа) при концентрации AgNO_3 10^{-3}M , $\text{pH}\approx 5,6$, $T=21^\circ\text{C}$. Добавление цианобактериальной биомассы к раствору нитрата серебра привело к изменению цвета раствора от зеленого к желто-зеленому. Наличие пика в области 438 нм в спектрах поглощения ультрафиолетового излучения характерно для сферических наночастиц серебра (рис. 6).

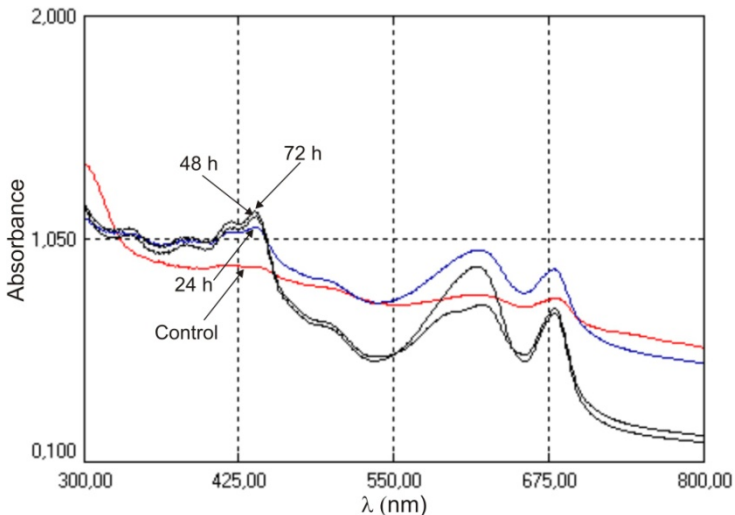


Рис. 6. Спектры суспензии *A. platensis* (УФ-вид), полученные при различном времени инкубации (Ceroi et al., 2015)

РЭМ-изображения, полученные после взаимодействия биомассы *A. platensis* с раствором нитрата серебра, подтвердили внеклеточное образование сферических наночастиц серебра в форме агломератов (рис. 7).

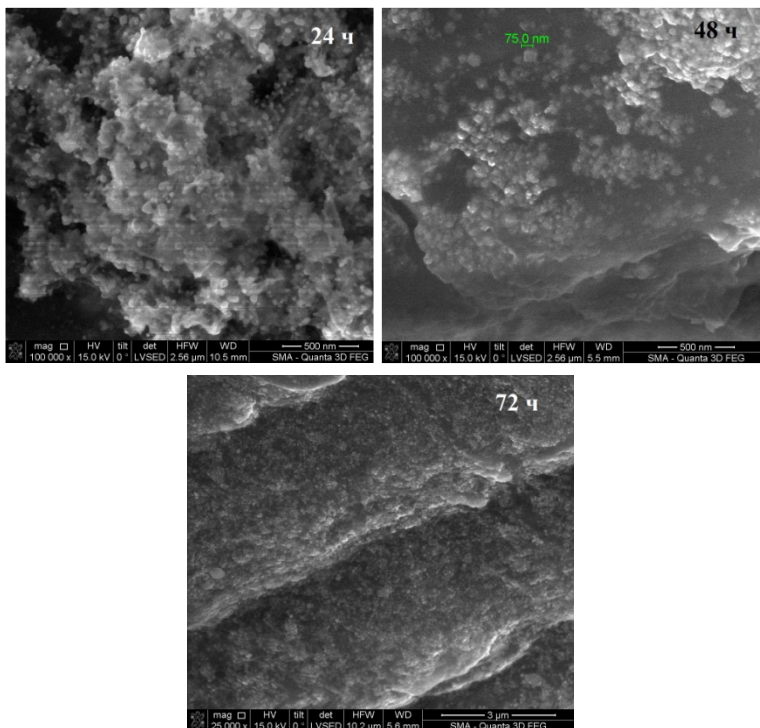


Рис. 7. РЭМ изображения *A. platensis* с наночастицами серебра (Cepoi et al., 2015)

Помимо исследования процесса образования наночастиц золота, также было изучено изменение содержания белков, липидов, углеводов и фикобилинов в биомассе в процессе образования наночастиц. Полученные результаты показали, что содержание основных компонентов биомассы значительно уменьшилось после 48–72 часов взаимодействия. Наиболее выраженным было уменьшение

содержания фикобилинов (приблизительно на 90%). Резкое снижение содержания биомолекул указывает на разрушение биомассы спирулины. Можно сделать вывод, что оптимальное время для производства наночастиц не должно превышать 24 часа (Серои et al. 2015).

Общее содержание золота и серебра в образцах было определено методом НАА (рис. 8). Данные НАА показали быстрое накопление ионов металлов биомассой в первые 24 часа взаимодействия, после чего оно существенно не изменялось в течение остального периода.

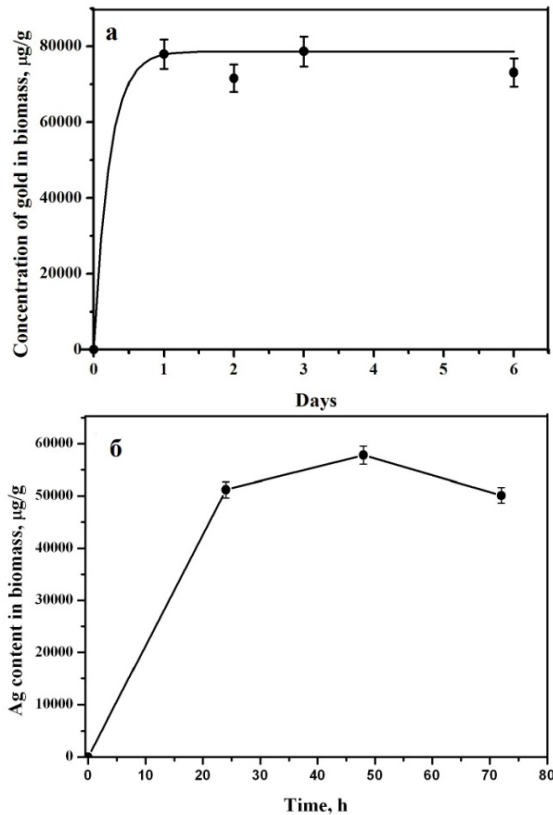


Рис. 8. Содержание (а) золота и (б) серебра в биомассе *A. platensis* (Серои et al., 2015; Kalabegishvili et al., 2013)

Схема образования наночастиц (на примере золота) может быть представлена следующим образом (рис. 9). Первый этап (биосорбция) включает электростатическое взаимодействие между положительно заряженными группами на поверхности клетки и отрицательно заряженными ионами золота.

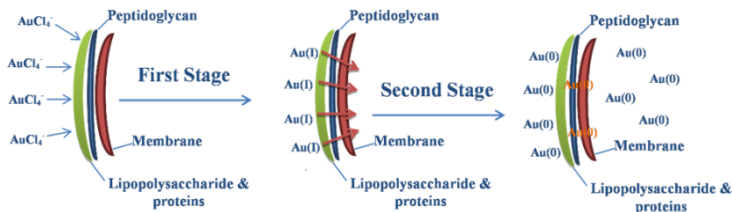
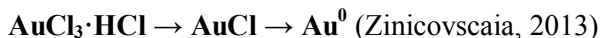


Рис. 9. Схема образования наночастиц золота

На втором этапе (аккумуляция) ионы золота проникают внутрь клетки, где имеет место восстановление Au (III) до Au (I), а затем и до Au (0). Процесс образования наночастиц золота может быть описан следующей реакцией:



2. Извлечение металлов из модельных растворов и промышленных стоков

Традиционно для удаления металлов из промышленных стоков применяют такие методы как: коагуляция–осаждение, ионный обмен, комплексообразование, обратный осмос, химическое окисление или восстановление и сорбция. Основными недостатками данных методов являются высокое потребление энергии, эксплуатационные расходы, образование большого объема отходов, низкая эффективность, особенно при концентрациях металлов 1–100 мг/л, а в некоторых случаях – вторичное загрязнение (Sulaymon et al., 2013; Sun et al., 2008).

Применение биологических объектов для удаления металлов из стоков является простым, экономичным, эффективным и экологически безопасным методом. Металлы могут быть удалены из стоков в процессе биоаккумуляции или биосорбции. *Биосорбция* представляет собой физико-химический процесс удаления загрязняющих веществ, протекающий на живых и мертвых клетках микроорганизмов. *Биоаккумуляция* – процесс намного более сложный, который помимо биосорбции включает и перенос загрязняющих веществ внутрь клеток. Таким образом, при биоаккумуляции доступно больше связывающих центров и может быть достигнута более высокая эффективность удаления металлов (Chojnaska, 2010; Javanbakht et al., 2014). Ниже приведены примеры биоаккумуляции и биосорбции некоторых металлов.

2.1. Биоаккумуляция

Хорошо известно, что поведение металлов в многокомпонентных системах может существенно отличаться от однокомпонентных. В связи с этим в экспериментах по биоаккумуляции изучали процесс накопления ионов лантана, урана, ванадия и хрома (III) клетками *A. platensis* из моно- и многокомпонентных систем. Металлы, в концентрации 100 мг/л на металл, добавляли в качестве компонента питательной среды в первый день культивирования биомассы и растили ее до стационарной фазы. Данные, полученные методом НАА (рис. 10), показали высокую скорость накопления лантана и хрома в обоих типах систем. Количество лантана и хрома в биомассе после 10 дней культивирования в однокомпонентных системах увеличилось до 15 мг/г. Невысокая эффективность накопления урана (от 0,06 до 735 мкг/г) и ванадия (от 0,01 до 83 мкг/г) может быть объяснена их токсичностью для клеток спирулины.

В многокомпонентной системе поведение металлов отличалось от однокомпонентных систем. В частности, содержание лантана и хрома в биомассе уменьшилось по

сравнению с моносистемами: в два раза для лантана и в 1,5 раза для хрома. Уменьшение содержания ионов металлов, представленных в катионной форме, можно объяснить их конкуренцией за места связывания. В то время как увеличение содержания ванадия в биомассе по сравнению с однокомпонентным раствором может быть связано со спариванием заряда ионов ванадата с зарядами металлов, присутствующих в растворе в катионной форме, что уменьшает отталкивание между отрицательными ионами ванадата, адсорбированными на поверхности.

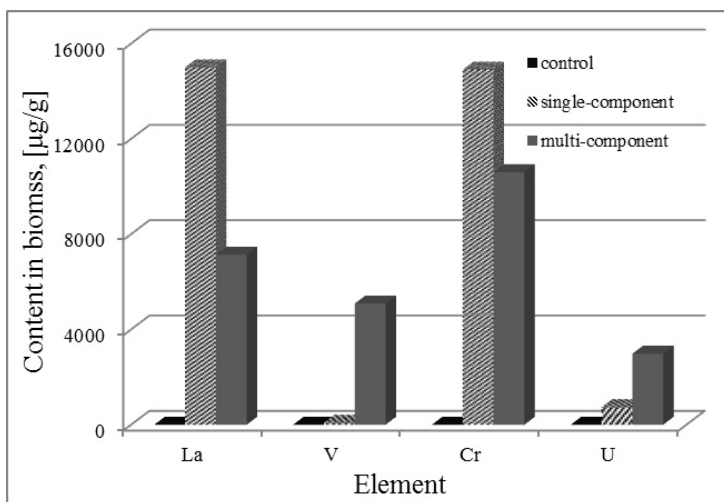


Рис. 10. Содержание La, V, Cr и U в биомассе *A. platensis* (Zinicovscaia et al., 2016)

Биомасса спирулины может быть использована для удаления металлов, в частности лантана и хрома, из моно- и многокомпонентных систем. Однако для промышленного применения накопление металлов биомассой спирулины экономически невыгодно из-за высокой стоимости процесса.

2.2. Биосорбция

Определяющими факторами, влияющими на биосорбцию, являются исходная концентрация металлов, температура, рН, продолжительность взаимодействия и масса биомассы в растворе. Поскольку биосорбция является внеклеточным процессом, основная роль в связывании металлов принадлежит функциональным группам клеточной стенки (карбоксил, фосфонат, амин, гидроксил и т.д.). Помимо связывания металла с функциональными группами в процессе биосорбции также имеет место ионный обмен и осаждение металлов. В качестве примера показано влияние различных параметров на биосорбцию ионов серебра в модельных растворах.

Влияние рН

рН является одним из ключевых параметров, влияющих на биосорбцию ионов металлов. Процесс биосорбции серебра биомассой спирулины изучали в растворе с диапазоном рН 3 – 8. Максимальная биосорбционная емкость, которая соответствует удалению 49% ионов серебра, была достигнута при рН 5. При значениях рН 4 – 6 поверхность клеток спирулины отрицательно заряжена, что способствует удалению ионов, присутствующих в водных растворах в катионной форме (Zinicovscaia et al., 2017).

Влияние массы сорбента

Влияние дозы биосорбента на эффективность удаления серебра исследовали путем изменения его массы от 0,1 до 0,5 г. Увеличение массы сорбента привело к увеличению сорбции серебра. При увеличении биомассы (т.е. массы сорбента) возрастает количество функциональных групп, и, следовательно, эффективность извлечения ионов металлов из раствора возрастает (Zinicovscaia et al., 2017).

Модели адсорбции

Для изучения влияния концентрации ионов серебра на сорбционную емкость биомассы начальную концентрацию серебра в растворе варьировали в диапазоне от 5 до 30 мг/л. Для описания сорбционной емкости биомассы использовали модели Ленгмюра и Фрейндлиха (Zinicovscaia et al., 2017). Модель Ленгмюра основана на том, что на поверхности сорбента образуется мономолекулярный слой адсорбата, а все активные центры обладают равной энергией и энтальпией, в то время как модель Фрейндлиха используется для описания адсорбции на гетерогенной поверхности. При биосорбции серебра биомассой спирулины изотерма адсорбции точнее описывается уравнением Фрейндлиха с $R^2 = 0,987$ (рис. 11).

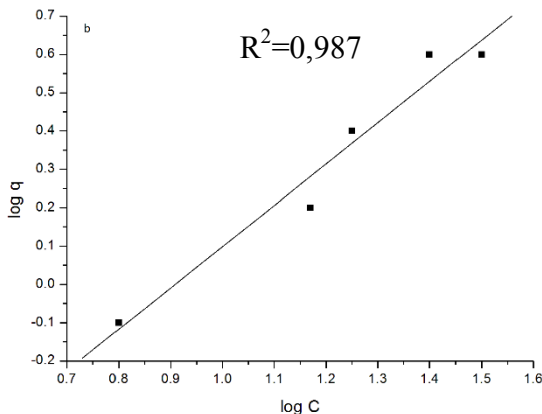


Рис.11. Экспериментальные данные по адсорбции серебра в координатах линейного уравнения Фрейндлиха (Zinicovscaia et al., 2017).

Кинетика биосорбции

Для определения продолжительности контакта, необходимого для максимального извлечения ионов серебра, продолжительность эксперимента варьировали от 5 до 120 мин. Максимальное количество серебра было

сорбировано из раствора в течение первых 5 минут взаимодействия, и оно не изменилось значительно в течение следующего периода. Был проведен кинетический анализ экспериментальных данных на основе кинетических моделей псевдо-первого и псевдо-второго порядков. Константы моделей представлены в таблице 2.

Таблица 2. Сравнение параметров моделей псевдо-первого и псевдо-второго порядков (Zinicovscaia et al. 2017)

Модель псевдо-первого порядка				
C_e , мг/л	q_e (exp), мг/г	q_e (cal), мг/г	k_a , (мин ⁻¹)	R^2
30	2,64	2,55	0,67	0,983
Модель псевдо-второго порядка				
C_e , мг/л	q_e (exp), мг/г	q_e (cal), мг/г	K_b , г/мг*мин	R^2
30	2,64	2,6	0,73	0,99

Как видно из данных, представленных в таблице 2, кинетика биосорбции лучше описывается уравнением псевдо-второго порядка.

Термодинамическое исследование

Температура является важным параметром, влияющим на биосорбцию металлов. Термодинамические расчеты показали, что адсорбция серебра биомассой спиролины носит преимущественно физический характер. Отрицательное значение ΔH° показало, что процесс адсорбции является экзотермическим. Более подробную информацию об этом исследовании можно найти в работе Zinicovscaia et al. (2017).

2.3. Извлечение ионов металлов из сточных вод

С практической точки зрения большой интерес представляет удаление металлов из промышленных стоков. В качестве примера показана способность микроводоросли *A. platensis* извлекать ионы Zn (II) из сточных вод. Сточные воды, содержащие цинк в концентрации 95 мг/л, были получены от крупнейшего производителя

современной сельскохозяйственной техники в Республике Молдова компании «Молдагротехника» (вода была взята из гальванической ванны). Были проведены эксперименты по биоаккумуляции и биосорбции цинка из стока. В эксперименте по биоаккумуляции 100 мл сточной воды смешивали со 100 мл культуры спирулины (третий день культивирования) и 100 мл питательной среды SP-1. Микроводоросль выращивали до достижения ею стационарной фазы (шестой день после инокуляции). В эксперименте по биосорбции 0,75 г клеток *A. platensis* суспендировали в 100 мл раствора сточной воды (в стеклянных колбах емкостью 250 мл на роторном шейкере, установленном со скоростью 100 об/мин). Динамику адсорбционного процесса изучали в течение 1 часа. Образцы были отобраны через 5, 15, 30 и 60 минут.

В эксперименте по биоаккумуляции количество цинка, накопленного биомассой спирулины после взаимодействия со сточными водами в течение 3 дней, составляло 52 г/кг. Помимо цинка, биомасса *A. platensis* аккумулировала 51,7 г/кг железа, что превышает его содержание в контрольной биомассе в 3854 раз. Также в биомассе были определены такие элементы, как мышьяк и вольфрам, которые не были обнаружены в контрольном образце. В то же время, уменьшение содержания калия указывает на нарушение проницаемости клеточной мембраны и блокирование натриево-калиевого насоса. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. Содержание Zn, Fe, K, As и W в биомассе *A. platensis*

Элемент	Содержание элементов в биомассе, мг/кг				
	Zn	Fe	K	As	W
	52000±982	51700±3882	9890±989	2,5±0,2	3,5±1,1
Контроль	50±1	1356±27	18025±901	n.d.	n.d.

Несмотря на высокую эффективность процесса аккумуляции, его промышленное применение, как уже отмечалось выше, ограничено высокой стоимостью. Таким образом, для промышленного применения биосорбция является более подходящим процессом.

Результаты исследования процесса сорбции ионов цинка клетками *A. platensis* представлены на рис. 12. Максимальное содержание цинка (3 мг/г) было сорбировано биомассой спирулины примерно через 30 минут контакта со стоками. Данные, полученные с помощью ААС, показали, что через 5 мин взаимодействия концентрация цинка в растворе уменьшилась почти в два раза (до 43 мг/л) (Zinicovscaia et al. 2015).

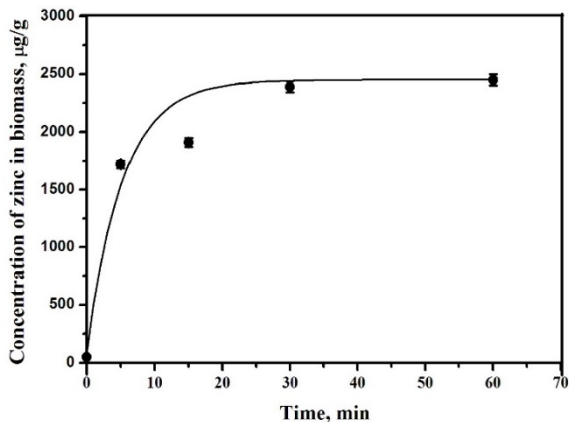


Рис. 12. Содержание цинка в биомассе *A. platensis* после взаимодействия со сточными водами

Помимо цинка, биомасса сорбировала из раствора железо, мышьяк, вольфрам и сурьму, что указывает на возможность использования *A. platensis* для комплексной очистки сточных вод. При этом максимальное количество металлов было сорбировано в течение первых 5 мин контакта. Результаты, полученные для железа и сурьмы, приведены на рис. 13.

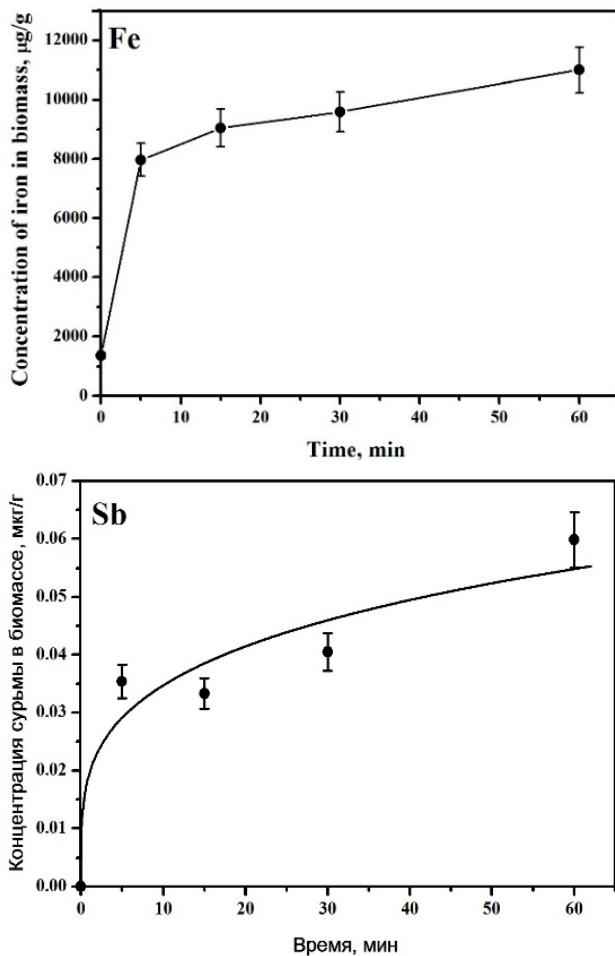


Рис. 13. Изменение концентрации Fe и Sb в биомассе *A. platensis* в зависимости от времени взаимодействия со сточной водой (Zinicovscaia, 2013)

Заключение

1. Образование наночастиц золота и серебра биомассой *A. platensis* происходит внеклеточно, что дает

преимущество перед внутриклеточным образованием с практической точки зрения.

2. «Зеленый» способ получения наночастиц металлов является простым, экономически выгодным и экологически чистым процессом, который позволяет получать наночастицы различных форм и размеров с широким применением в медицине и промышленности.

3. Биомасса *A. platensis* может быть эффективно использована для удаления ионов металлов из модельных растворов, а также из промышленных стоков.

4. По сравнению с биосорбцией накопление металлов микроорганизмами является менее целесообразным из-за длительности и стоимости процесса.

5. Более широкое использование микроорганизмов позволило бы преобразовать традиционную химию очистки окружающей среды, использующую невозобновляемые ресурсы и производящую различные токсические вещества, в экологически чистую «зеленую химию».

Список литературы

1. Park D., Yun Y.S., Park J.M. (2010) The Past, Present, and Future Trends of Biosorption // *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 2010. V.15. P. 86–102.

2. Zinicovscaia I., Duca Gh., Cepoi L., Chiriac T., Rudi L., Mitina T., Frontasyeva M.V., Pavlov S., Gundorina S.F. (2015) Biotechnology of metal removal from industrial wastewater: zinc case study // *Clean – Soil, air, water.* 2015. V.43. № 1. P. 112–117.

3. Zinicovscaia I., Duca Gh., Rudic V., Cepoi L., Chiriac T., Frontasyeva M.V., Pavlov S.S., Gundorina S.F. (2013a) *Spirulina platensis* as biosorbent of zinc in water // *Environ. Eng. Manage. J.* 2013, V.12. P. 1079–1084.

4. Greenberg R. R., Kingston H. M., Zeisler R., Woittiez J. (1990) Neutron activation analysis of biological samples with a preirradiation chemical separation // *Biol. Trace Elem. Res.* 1990. V.26. №1. P. 17–25.

5. Frontasyeva M.V., Kirkesali E.I., Aksenova N.G., Mosulishvili L.M., Belokobylsky A.I., Khizanishvili A.I. (2006) Neutron activation analysis for development of mercury sorbent

based on blue-green alga *Spirulina platensis* // J. Neutron Res. 2006. V.14. №2. P. 131–138.

6. *Mosulishvili L.M., Kirkesali Ye.I., Belokobylsky A.I., Khizanishvili A.I., Frontasyeva M.V., Gundorina S.F., Oprea C.D.* (2002) Epithermal neutron activation analysis of blue-green algae *Spirulina platensis* as a matrix for selenium-containing pharmaceuticals // J. Radioanal. Nucl. Chem. 2002. V.252. №1. P. 15–20.

7. *Frontasyeva M.V.* (2011) Neutron activation analysis for the life sciences // PEPAN. 2011. V.42. №2. P. 332–378.

8. Use of research reactors for neutron activation analysis. Report of an Advisory Group meeting held in Vienna, 22–26 June 1998. – IAEA, Austria, 2001. – 104 p. – ISSN 1011–4289.

9. *Zang L., Gu F.X., Chen J.M., Wang A.Z., Langer R.S., Farokhad O.C.* (2008) Nanoparticles in medicine: Therapeutic applications and developments // Clin. Pharmacol. Ther. 2008. V.83. №5. P. 761–769.

10. *Dykman L.A., Khlebtsov N.G.* (2011) Gold nanoparticles in biology and medicine: Recent advances and prospects // Acta Naturae. V.3. №2. P. 34–55.

11. *Das S.K., Marsilli E.* (2010) A green chemical approach for synthesis of gold nanoparticles: Characterization and mechanistic aspect // Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 2010. V.9. P. 199–204.

12. *Kalabegishvili T., Kirkesali E., Rcheulishvili A., Ginturi E., Murusidze I., Kuchava N., Bagdavadze N., Tsertsvadze G., Gabunia V., Frontasyeva M.V., Pavlov S.S., Zinicovscaia I., Raven M.J., Seaga N.M.F., Faanhof A.* (2013). Synthesis of gold nanoparticles by blue-green algae *Spirulina platensis* // Adv. Sci. Eng. Med. 2013. V.5. №1. P. 30–36.

13. *Zinicovscaia I.* (2013). Study of the interaction of metals (Hg, Cr, Zn, Ag, Au) with *Arthrobacter* genera and *Spirulina platensis*: PhD Thesis. – Chisinau, Republic of Moldova. – 21 p.

14. *Das S.K., Das A.R., Guha A.K.* (2010). Microbial synthesis of multishaped gold nanostructures // Wiley–VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2010. V.6, №9. P. 1012–1021.

15. *Seshadri S., Prakash A., Kowshik M.* (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles by marine bacterium, *Idiomarina sp. PR58-8* // Bull. Mater. Sci. 2012. V.35. P. 1201–1205.

16. *Jena J., Pradhana N., Prasad Dashb B., Behari Suklaa L., Kumar Panda P.* (2013). Biosynthesis and characterization of silver

nanoparticles using microalga *Chlorococcum humicola* and its antibacterial activity // Int. J. Nanomater. Bios. 2012. V.3. P. 1–8.

17. *Cepoi L., Rudi L., Chiriac T., Valuta A., Zinicovskaia I., Duca Gh., Kirkesali E., Frontasyeva M.V., Culicov O., Pavlov S.S., Bobrikov I.* (2015) Biochemical changes in some cultures of cyanobacteria at the synthesis of silver nanoparticles // Canad. J. Microbiol. 2015. V.61, №1. P. 13–21.

18. *Sulaymon A.H., Mohammed A.A., Al-Musawi T.J.* (2013) Competitive biosorption of lead, cadmium, copper, and arsenic ions using algae // Environ. Sci.Poll. Res. 2013. V.20. P. 3011–3023.

19. *Sun X.F., Wang S.G., Liu X.W., Gong W.X., Bao N., Gao B.Y.* (2008). Competitive biosorption of zinc (II) and cobalt (II) in single- and binary-metal systems by aerobic granules // J. Colloid Interface Sci. 2008. V.324. P. 1–8.

20. *Chojnacka K.* (2010). Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications // Environ. Int. 2010. V.36. P. 299–307.

21. *Javanbakht V., Alavi S.A., Zilouei H.* (2014) Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent // Water Sci. Technol. V.69. P. 1775–1787.

22. *Zinicovskaia I., Safonov A., Tregubova V., Cepoi L., Chiriac T., Rudi L., Frontasyeva M.* (2016) Uptake of metals from single and multi-component systems by *Spirulina platensis* biomass // Ecol. Chem. Eng. 2016. V.23, №3. P. 401–412.

23. *Zinicovskaia I, Cepoi L, Chiriac T, Mitina T, Grozdov D, Yushin N, Culicov O.* (2017) Application of *Arthrospira (Spirulina) platensis* biomass for silver removal from aqueous solutions // Int. J. Phytoremediation. 2017. doi: 10.1080/15226514.2017.1319332.

Сведения об авторе

Зиньковская Инга – к.х.н., с.н.с., Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия (Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia), Сектор нейтронного активационного анализа и прикладных исследований, Лаборатория нейтронной физики им. И.М.Франка; м.н.с., Национальный институт физики и ядерной технологии им. Хории Хулубея, г. Бухарест, Румыния (Horia Hulubei National Institute for R&D in Physics and Nuclear Engineering, Bucharest, Romania); м.н.с., Институт химии Академии наук Молдовы, г. Кишинев, Республика Молдова (Institute of Chemistry of the Academy of Science of Moldova, Chisinau, Moldova); zinicovskaia@mail.ru

Корреспондентский адрес: Россия, 141980, г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, 6, ОИЯИ; телефон (496) 216-36-53.

Microalga interaction with metals: *Arthrospira (Spirulina) platensis* case study

Inga Zinicovscaia^{1,2,3}

¹Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

²Horia Hulubei National Institute for R&D in Physics and Nuclear Engineering, Bucharest, Romania

³Institute of Chemistry of the Academy of Science of Moldova, Chisinau, Moldova

A review of the works on the interaction of microalgae *Arthrospira (Spirulina) platensis* with metals is presented. It is shown that the main mechanisms of this interaction are biosorption, bioaccumulation, and biotransformation of metals to nanoforms. The optimal conditions for gold and for silver nanoparticles production have been determined. The effect of different parameters on metal ions biosorption is shown. A comparative analysis of metal bioaccumulation and biosorption from industrial effluents has been performed. The obtained results have shown that microalga *Arthrospira (Spirulina) platensis* can be efficiently used for water bioremediation and metal nanoparticle production.

Key words: microalga; *Arthrospira (Spirulina) platensis*; biosorption; bioaccumulation; nanoparticles; Neutron activation analysis

ISBN 978-5-907016-65-1



VI Сабининские чтения.
Доклад
«Взаимодействие микроводорослей с металлами на
примере *Arthrospira (Spirulina) platensis*»
(И. Зиньковская)

Редакционно-издательская подготовка осуществлена
редакцией журнала «Вопросы современной альгологии».

Главный редактор – А. Камнев

Корректор, верстка – И. Стуколова

Издательство «Перо»

109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 15, ком. 536

Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36

Подписано в печать 23.11.2017. Формат 60×84/16.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,918. Тираж 50 экз. Заказ 789.