

Małgorzata RAJFUR¹, Andrzej KŁOS¹ i Maria WACŁAWEK¹

WPŁYW CZASU PRZECHOWYWANIA PREPAROWANYCH PRÓBEK GLONÓW NA ICH WŁAŚCIWOŚCI SORPCYJNE

INFLUENCE OF STORAGE TIME OF PREPARED ALGAE SAMPLES ON THEIR SORPTION PROPERTIES

Abstrakt: Zbadano wpływ sposobu preparowania (liofilizacja, suszenie termiczne) oraz czasu przechowywania preparowanej biomasy glonów *Spirogyra* sp. na kinetykę sorpcji jonów miedzi. Stwierdzono, że w porównaniu z żywą biomasą sposób preparowania nie wywołuje statystycznie istotnych zmian w wydajności sorpcji, natomiast parametry sorpcji ulegają pogorszeniu podczas przechowywania preparatów. Wykazano, że pomiar zmian konduktywności wody zdemineralizowanej, w której zanurzano preparowane glony, może być prostym sposobem oceny zmian ich właściwości sorpcyjnych.

Słowa kluczowe: glony *Spirogyra* sp., preparacja, sorpcja, metale ciężkie

Terminem glony (z gr. *phykos*) określa się grupę organizmów plechowych, tj. beztkankowych. Autorem jednej z pierwszych monografii poświęconej w całości tej grupie organizmów jest S.G. Gmelin (1744-1774). W swojej pracy pt. *Historia Fucorum* (*fucus* - termin określający glony, wprowadzony przez Rzymian i obowiązujący do końca XVIII w.) opublikowanej w 1768 r. opisał 99 gatunków glonów. Wiele z tych opisanych przez Gmelina już nie istnieje. Obecnie termin glony obejmuje ponad 20 tysięcy gatunków należących do rozmaitych grup systematycznych roślin plechowych. Do polskiej terminologii botanicznej termin ten wprowadził prof. J. Rostafiński (1850-1928) [1, 2].

Opisane w literaturze badania prowadzone z wykorzystaniem glonów wskazują na ich praktyczne zastosowania np. do biomonitoringu zanieczyszczenia wód powierzchniowych [3-6], w fitoremediacji [7, 8] lub jako sorbenty w procesie oczyszczania ścieków [9-12].

Od wielu lat prowadzone są badania laboratoryjne na różnych rodzajach i gatunkach zarówno wysuszonych, jak i żywych glonów [13].

Analizując wyniki prowadzonych badań, można stwierdzić, że maksymalna pojemność sorpcyjna plech glonów jest różna w zależności m.in. od rodzaju czy gatunku glonów, czasu i temperatury suszenia biomasy glonów, czasu ich aktywacji w wodzie zdemineralizowanej oraz rodzaju sorbowanego analitu. Autorzy nie podają jednak niepewności zastosowanych metod pomiarowych. Wyniki badań własnych wskazują, że niepewność wyznaczania pojemności sorpcyjnej na podstawie izotermy Langmuira jest o rząd większa niż jej wyznaczona wartość [14], co może tłumaczyć duże rozbieżności w wartościach pojemności sorpcyjnych podawanych w literaturze. Dla przykładu wykazano, że pojemność sorpcyjna glonów *Spirogyra* sp. w odniesieniu do Cu wynosi 133,3 mg/g s.m. [15], a glonów *Cladophora glomerata* 15,0 mg/g s.m. [16].

Badania kinetyki procesu sorpcji jonów metali ciężkich na glonach wskazują, że stan równowagi zostaje osiągnięty po czasie od kilkunastu do kilkudziesięciu minut [4-6, 15].

Przedmiotem prowadzonych badań było ustalenie wpływu czasu przechowywania różnie preparowanych próbek glonów *Spirogyra* sp. na ich właściwości sorpcyjne.

¹ Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 4, 45-032 Opole, tel. 77 401 60 42, email: mrjfur@o2.pl

Właściwości sorpcyjne glonów przeanalizowano poprzez ocenę kinetyki sorpcji jonów miedzi w ich plechach. Parametry sorpcji preparowanych glonów porównano z parametrami sorpcji glonów żywych.

Metodyka badań

Do badań wykorzystano glony *Spirogyra* sp. pobrane z mało zanieczyszczonych wód zbiornika, powstałego po eksploatacji żwiru położonego w granicach miasta Opola (PL). Próbkę glonów po oczyszczeniu z zanieczyszczeń roślinnych i organizmów wodnych przepłukiwano wodą zdemineralizowaną o konduktywności $\kappa = 0,5 \mu\text{S/cm}$. Oczyszczone próbki przeznaczano do badań laboratoryjnych.

Aparatura i odczynniki

Do oznaczania miedzi wykorzystano absorpcyjny spektrometr atomowy SOLAAR 969 firmy UNICAM, produkcji Thermo Electron Corporation, USA. Dla miedzi granice wykrywalności (*IDL*) i oznaczalności (*IQL*) aparatu wynoszą odpowiednio 0,0045 i 0,041 mg/dm³. Największe stężenie wzorca (produkcji: ANALYTIKA Ltd. (CZ)) używanego do kalibracji (5 mg/dm³) przyjęto za granicę liniowej zależności sygnału od stężenia. Niepewność metody pomiarowej wyrażona odchyleniem standardowym wynosiła $\pm 11\%$ stężenia miedzi w [mg] odniesionego do 1 g s.m. (suchej masy) glonów. Do badania konduktywności wykorzystano konduktometr CC-551 firmy Elmetron z Zabrze (PL) - niepewność wskazań przyrządu $\pm 0,1 \mu\text{S/cm}$. Roztwory sporządzano, wykorzystując odczynniki firmy MERCK.

Sposób prowadzenia badań

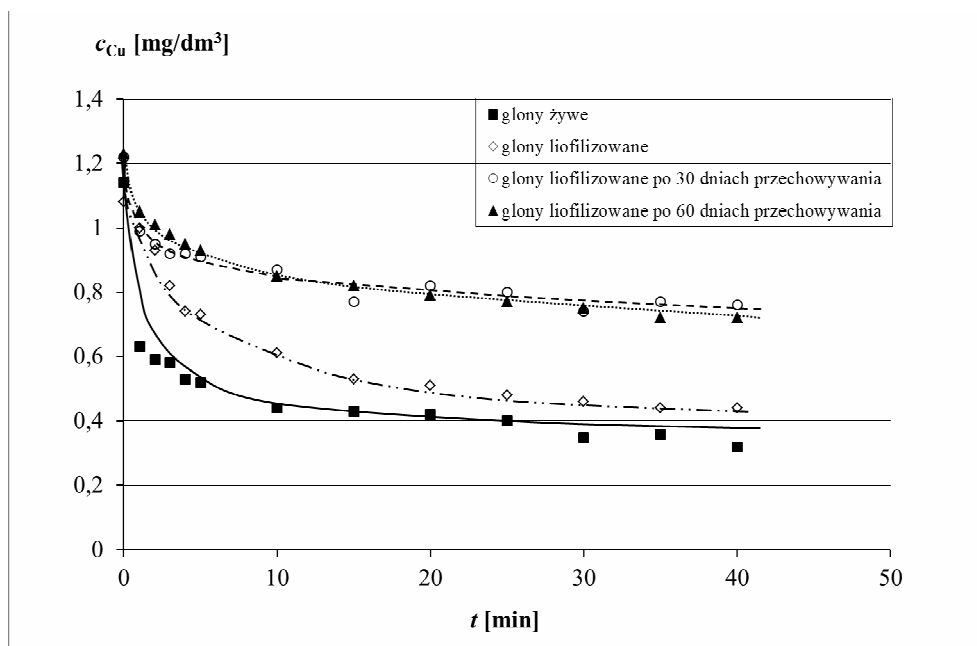
Badania wykonano na żywych oraz suchych glonach. Badania na glonach żywych prowadzono bezpośrednio po ich oczyszczeniu. Odwadnianie glonów prowadzono metodą liofilizacji w temp. 223 K przez 20 h oraz poprzez odparowanie wody w temperaturze 323 K (24 h) i 353 K (12 h). Wykorzystywane do doświadczeń roztwory siarczanu miedzi $c_{\text{Cu},0} = 1,07 \pm 0,05 \text{ mg/dm}^3$ były zakwaszane kwasem azotowym do wartości pH ok. 5 w celu uniknięcia tworzenia się niezdysocjowanych wodorotlenków [17].

Próbki glonów umieszczano w perforowanym pojemniku o objętości ok. 15 cm³ i wraz z nim zanurzano w roztworze soli miedzi o objętości 200 cm³. Wysuszone glony przed eksperymentem zanurzano na 30 min w wodzie zdemineralizowanej. Czynność ta miała na celu uaktywnienie struktur sorpcyjnych glonów [14]. Masy wysuszonych glonów użytych do doświadczeń odniesione do masy glonów żywych (8,0 mokrej masy) i wysuszonych, po przeprowadzeniu doświadczeń, wynosiły $0,58 \pm 0,02 \text{ g}$. Roztwór mieszano, wykorzystując mieszadło magnetyczne. Okresowo, bezpośrednio z naczynia, w którym prowadzono doświadczenie, zaciągano roztwór w celu oznaczenia (AAS) stężenia miedzi. Proces prowadzono przez 40 min.

Prowadzono także pomiary zmian konduktywności wody zdemineralizowanej ($\kappa = 0,5 \mu\text{S/cm}$; $V = 100 \text{ cm}^3$), w której zanurzano próbki żywych i spreparowanych glonów (0,04 g s.m.). Spreparowane glony przed doświadczeniem zwilżono i pozostawiono na 30 min.

Wyniki badań i ich analiza

Na rysunku 1 przedstawiono przykładowe zmiany stężeń roztworów soli miedzi po zanurzeniu w nich żywych i spreparowanych (zliofilizowanych) próbek glonów.



Rys. 1. Wpływ czasu przechowywania biomasy liofilizowanych glonów na kinetykę sorpcji jonów Cu^{2+}

Fig. 1. Influence of the storage time of the freeze-dried algae biomass on the Cu^{2+} ions sorption kinetics

W tabeli 1 podano, przeliczone na 1 g s.m., wartości stężeń miedzi zakumulowanej w glonach, po 40 min procesie sorpcji, w zależności od sposobu preparowania i czasu przechowywania glonów.

Tabela 1
Stężenie miedzi w żywych i w preparowanych próbkach glonów [mg/g s.m.] w zależności od czasu przechowywania

Table 1
Influence of the storage time on concentration of copper in alive and prepared algae samples [mg/g d.m.]

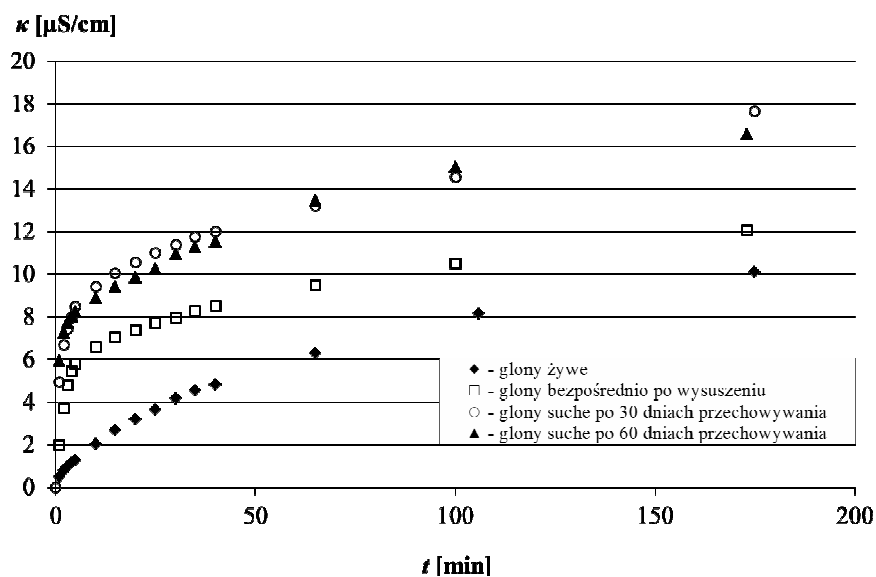
Czas przechowywania glonów	Głony żywe		
	0,25 ± 0,027 mg/g s.m.		
	Sposób preparowania glonów		
	Liofilizacja	Suszenie termiczne w 323 K	Suszenie termiczne w 353 K
0 dni	0,243	0,266	0,238
30 dni	0,159	0,175	0,152
60 dni	0,172	0,188	0,161

Wyniki badań (rys. 1) wskazują na różnice w intensywność sorpcji jonów miedzi przez żywe i świeżo zliofilizowane glony w początkowej fazie procesu (15 min). Po około 30 min właściwości sorpcyjne są statystycznie porównywalne (tab. 1).

Z danych przedstawionych na rysunku 1 i w tabeli 1 wynika, że parametry sorpcyjne preparowanej biomasy glonów, przechowywanej przez 30 dni w szczelnie zamkniętych plastikowych pojemnikach, uległy zmianie. Niezależnie od sposobu suszenia w próbkach glonów zakumulowało się mniej jonów miedzi. Zwiększenie czasu przechowywania preparowanej biomasy glonów do 60 dni nie wywoływało dalszych zmian.

Można przypuszczać, że obserwowane zmiany we właściwościach sorpcyjnych preparowanych glonów, które nie następują zaraz po wysuszeniu (tab. 1), są wynikiem chemicznego rozkładu zniszczonej w procesie suszenia części struktury sorpcyjnej, zachodzącego np. wskutek utleniania.

Do oceny destrukcji błon komórkowych wykorzystano proste doświadczenie polegające na badaniu zmian konduktywności wody zdeminielizowanej, w której zanurzano glony. Taki sposób badań był wykorzystywany do oceny destrukcji błon komórkowych w porostach [18]. Stwierdzono, że miarą destrukcji błon jest wyciekanie substancji jonowych z wnętrza komórek, co z kolei wywołuje zmiany konduktywności wody zdeminielizowanej. Wyniki przedstawiono na rysunku 2. Na wykresie naniesiono średnie wartości zmian konduktywności wody zdeminielizowanej wywołane spreparowanymi glonami. Wartości te dla glonów liofilizowanych i suszonych termicznie były statystycznie porównywalne.



Rys. 2. Wpływ czasu przechowywania glonów na zmiany konduktywności wody zdeminielizowanej, w której je zanurzano

Fig. 2. Influence of the algae storage time on conductivity changes of deionized water in which the algae were immersed

Porównanie wyników przedstawionych graficznie na rysunkach 1 i 2 wskazuje, że ilość sorbowanej miedzi w glonach (rys. 1, z którego można odczytać stężenie miedzi w roztworze po procesie sorpcji) jest odwrotnie proporcjonalna do zmian konduktywności wody zdemineralizowanej, w której zanurzono glony (rys. 2).

Podsumowanie i wnioski

Wyniki badań wskazują, że zastosowane sposoby suszenia nie mają znaczącego wpływu na parametry sorpcji kationów miedzi w glonach *Spirogyra* sp., natomiast właściwości sorpcyjne spreparowanych glonów zmieniają się podczas ich przechowywania. Z przeprowadzonych badań wynika także, że prostym sposobem oceny właściwości sorpcyjnych spreparowanych glonów może być pomiar zmian konduktywności wody zdemineralizowanej, w której je zanurzono.

Zaprezentowane wyniki są częścią programu badań, którego celem jest opracowanie miarodajnego biosorbentu do oceny zanieczyszczenia wód metalami ciężkimi.

Literatura

- [1] Silva P.C., Basson P.W. i Moe R.L.: Catalogue of the Benthic Marine Algae of the Indian Ocean. University of California Publications in Botany, California, USA 1996.
- [2] Skowroński T., Kalinowska R. i Pawlik-Skowrońska B.: *Glony środowisk zanieczyszczonych metalami ciężkimi*. Kosmos, 2002, **2**, 165-173.
- [3] Duda-Chodak A., Kubica M. i Tarko T.: *Biosorpcja metali ciężkich. Cz. III. Glony*. Laboratorium, 2008, **12**, 52-55.
- [4] Matheickal J.T. i Yu Q.: *Biosorption of lead(II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae*. Bioresource Technol., 1999, **69**, 223-229.
- [5] Harris P.O. i Ramelow G.J.: *Binding of metal ions by particulate biomass derived from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda**. Environ. Sci. Technol., 1990, **24**, 220-228.
- [6] Apiratikul R. i Pavasant P.: *Batch and column studies of biosorption of heavy metals by *Caulerpa lentillifera**. Bioresource Technol., 2008, **99**, 2766-2777.
- [7] Kaonga C.C., Chiotha S.S., Monjerezi M., Fabiano E. i Henry E.M.: *Levels of cadmium, manganese and lead in water and algae; *Spirogyra aequinoctialis**. Int. J. Environ. Sci. Tech., 2008, **5**(4), 471-478.
- [8] Atici T., Ahiska S., Altındag A. i Aydin D.: *Ecological effects of some heavy metals (Cd, Pb, Hg, Cr) pollution of phytoplanktonic algae and zooplanktonic organisms in Sarıyar Dam Reservoir in Turkey*. Afr. J. Biotechnol., 2008, **7**(12), 1972-1977.
- [9] Karadede-Akin H. i Ünlü E.: *Heavy metal concentrations in water, sediment, fish and some benthic organisms from Tigris River, Turkey*. Environ. Monit. Assess., 2007, **131**, 323-337.
- [10] Conti M.E. i Cecchetti G.: *A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas*. Environ. Res., 2003, **93**, 99-112.
- [11] Giusti L.: *Heavy metal contamination of brown seaweed and sediments from the UK coastline between the Wear river and the Tees river*. Environ. Int., 2001, **26**, 275-286.
- [12] Strezov A. i Nonova T.: *Environmental monitoring of heavy metals in Bulgarian Black Sea green algae*. Environ. Monit. Assess., 2005, **105**, 99-110.
- [13] Pawlik-Skowrońska B.: *Tajemnice odporności glonów i sinic na toksyczne metale ciężkie*. Kosmos, 2002, **51**(2), 175-184.
- [14] Rajfur M., Kłos A. i Waclawek M.: *Sorption of copper(II) ions in biomass of alga *Spirogyra* sp.* Bioelectrochemistry, 2011, złożone do druku.
- [15] Gupta V.K., Rastogi A., Saini V.K. i Jain N.: *Biosorption of copper(II) from aqueous solutions by *Spirogyra* species*. J. Colloid Interface Sci., 2006, **296**, 59-63.
- [16] Yalçın E., Çavuşoğlu K., Maraş M. i Bıyıkoğlu M.: *Biosorption of lead(II) and copper(II) metal ions on *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. (Chlorophyta) algae: Effect of algal surface modification*, Acta Chim. Slov., 2008, **55**, 228-232.

- [17] Kamala-Kannan S., Prabhu Dass Batvari B., Jae Lee K., Kannan N., Krishnamoorthy R., Shanthi K. i Jayaprakash M.: *Assessment of heavy metals (Cd, Cr and Pb) in water, sediment and seaweed (Ulva lactuca) in the Pulicat Lake, South East India*. Chemosphere, 2008, **71**, 1233-1240.
- [18] Garty J., Weissman L., Cohen L., Karnieli A. i Orlovsky L.: *Transplanted lichens in around the Mount Carmel National Park and the Haifa Bay Industrial Region in Israel: Physiological and chemical response*. Environ. Res., 2001, **A85**, 159-176.

INFLUENCE OF STORAGE TIME OF PREPARED ALGAE SAMPLES ON THEIR SORPTION PROPERTIES

Chair of Biotechnology and Molecular Biology, Opole University

Abstract: The influence of the preparation method (freeze-drying, thermal drying) and storage time of the prepared algae biomass *Spirogyra* sp. on sorption kinetics of copper ions were investigated. It was found that in comparison with living biomass the preparation method does not produce statistically significant change in sorption capacity, but sorption parameters deteriorate during storage of the material. It was shown that the measurement of changes in conductivity of deionized water in which the prepared algae were immersed, can be a simple way to assess changes in their sorption properties.

Keywords: algae *Spirogyra* sp., preparation, sorption, heavy metals