

Raport stiintific
privind implementarea proiectului "Investigarea fundamentala si holistica a fractiunilor
materiei organice dizolvate in vederea dezvoltarii unei metode inovative de semnalare" in
perioada ianuarie –decembrie 2012

Cod proiect: PN-II-RU-TE-2011-3-0077

Faza actuala: Faza 2, 16.12.2011-15.12.2012

Introducere

In ultimele decenii, spectroscopia de fluorescenta a fost utilizata intens pentru analiza materiei organice dizolvate (engl. DOM) si a poluantilor din apa. Tehnica prezinta numeroase avantaje, printre care se numara: sensibilitate mare, masurare rapida, necesitatea unei cantitati reduse de proba pentru masurare, fara tratare prealabila a probei. In plus, spectroscopia de fluorescenta se coreleaza cu parametrii standard, precum consumul biochimic de oxigen, carbonul organic total si oxigenul dizolvat [1]. Pe baza acestor considerente, cateva studii au sugerat posibilitatea utilizarii spectroscopiei de fluorescenta pentru a monitoriza calitatea apei, in vederea identificarii caracteristicilor DOM la scala temporală, detectarii poluantilor si ca surrogat al metodelor standard [2, 3]. Insa, doar cateva studii s-au axat pe monitorizarea continua si *in-situ*, din cauza lipsei aparatelor necesare.

Obiectiv

Obiectivul acestei faze a fost de a evalua, la scala diurna, a componentelor DOM din sistemele acvatice, precum si a poluantilor de natura petroliera, care interfereaza cu semnalul de fluorescenta al DOM. Pentru a atinge scopul fazei, au fost monitorizate 2 sisteme acvatice: un sistem natural urban si sistem antropic, folosind un montaj experimental conceput in acest sens. Pe baza experimentelor de monitorizare, au fost analizate atat specificitatile de fluorescenta ale componentelor DOM, cat si versatilitatea metodei si impactul unor factori care pot afecta spectrele de fluorescenta.

Activitatea 1. Definirea protocolului experimental

Au fost alese doua sisteme acvatice diferite, un rau urban si un canal artificial, asupra carora s-au realizat experimente de monitorizare continua, prin fluorescenta, utilizand montajul experimental din figura 1. Fluorimetrul, amplasat intr-o statie laborator, este conectat la o fibra optica inserata intr-un recipient de colectare. Apa este extrasa din sistemul acvatic prin tuburi de plastic, folosind o pompa cu vid, care trimite apa catre recipientul de colectare. Recipientul are 2 orificii (intrare - iesire), pentru a putea permite recircularea apei. Intervalul de masurare trebuie sa fie de cel putin 30 min, in vederea identificarii rapide a unor contaminari accidentale, si maxim 3 min, pentru a evita incarcarea cu date a computerului si suprasolicitarea fluorimetrului.

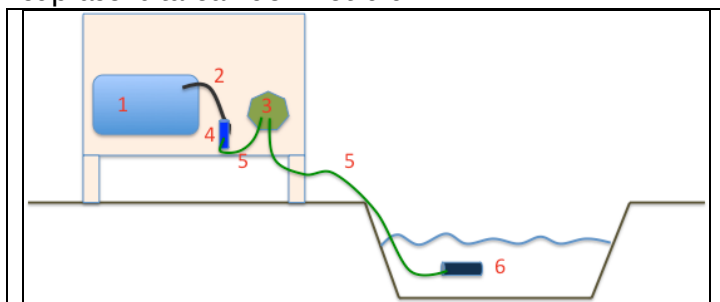


Figura 1. Montajul experimental: 1 – spectrofluorimetru, 2 – fibra optica, 3 – pompa cu vid, 4 – recipient colectare proba, 5 – tub plastic, 6 – cilindru cu sita.

Pentru achiziția spectrelor de fluorescență s-au folosit următorii parametri: domeniul de excitație 200 – 400 nm, pas de 5 nm, domeniul de emisie 280 - 500 nm, cu pas de 2 nm, fantele de excitație și emisie 5 nm. Parametrii de achiziție pot fi modificați în funcție de capacitatea fluorimetrului pentru a atinge cel mai bun compromis între timpul de măsurare și maximum de informație oferit de spectrele de fluorescență. În cadrul acestui studiu, s-au înregistrat matrici de excitație-emisie (engl. EEM), dar se pot înregistra

doar spectre de emisie cu excitație la 260 nm, pentru a detecta componentele principale ale DOM. Se recomandă o curățare ușoară a sistemului de colectare la fiecare 2 săptămâni, în cazul în care nu există contaminare a sistemului acvatic și o curățare riguroasă, după o contaminare cu ape menajere sau produse petroliere. În paralel, se recomandă analiza, la intervale regulate, a probelor cu echipamente standard. Probele, în acest caz, au fost măsurate pentru: temperatură, pH și absorbție.

Activitatea 2. Evaluarea factorilor care afecteaza spectrele de fluorescenta

Semnalul de fluorescenta este puternic afectat de temperatura, compozitia, concentratia si pH-ul solutiei. In general, cel mai important factor care afecteaza fluorescenta probelor de apa este temperatura. Intensitatea fluorescentei scade odata cu cresterea temperaturii, iar studiul realizat de Baker [4] arata ca la o descrestere a temperaturii de la 45⁰ C la 10⁰ C intensitatea fluorescentei DOM creste cu ~48 %. Totusi, in cazul unei monitorizari in timp real prin fluorescenta, temperatura apei poate scadea, iarna, sub 10⁰ C. De aceea, pentru aceasta faza, s-a evaluat modificarea intensitatii fluorescentei materiei organice prin varierea temperaturii de la 20⁰ C la 0⁰ C. S-a observat o crestere a intensitatii fluorescentei triptofanului si a substantelor humice, in procente diferite (pana la 47 % si, respectiv, 25 %) in functie de tipul de proba analizat. Pentru corectia spectrelor, se realizeaza o curba de calibrare la mai multe temperaturi si se foloseste ecuatia data de Watras et al. [5].

Un alt factor care afecteaza fluorescenta este efectul de auto absorbtie (engl. IFE). IFE reprezinta o scadere a eficientei cuantice si o deformare a formei benzii in urma absorbtiei radiatiei de excitare si emisie de catre compusii din proba [3]. Acest fapt induce un fenomen de deplasare spre rosu a fluorescentei in functie de concentratie, care este observat la sistemele multifluoroforice [6]. S-au sugerat diferite metode de a corecta spectrele in cazul aparitiei IFE, cele mai frecvente fiind: corectia empirica bazata pe maximul Raman [7], corectia matematica bazata pe absorbtia aceleiasi probe [8], utilizarea relatiei neliniare dependenta de lungimea de unda rezultanta, intre intensitatea fluorescentei si concentratie [3], dilutia probei pana la o concentratie la care efectele IFE sunt neglijabile si verificarea absorbtiei cu prag de 0,01 [9, 10] sau utilizarea unor algoritmi PARAFAC pentru aplicarea corectiei IFE pe EEM [11]. Varianta optima pentru eliminarea IFE din spectrele obtinute in timp real este prin algoritmi PARAFAC, dar se poate utiliza si metoda simpla a dilutiei.

De asemenea, valoarea pH-ului probei afecteaza fluorescenta unui fluorofor. Intensitatea fluorescentei DOM creste odata cu cresterea pH-ului pana la valoarea 10 [12]. In general, nu este indicata alterarea pH-ului unei probe, insa trebuie sa se acorde atentie deosebita asupra valorii pH-ului, iar spectrele trebuie corectate [13].

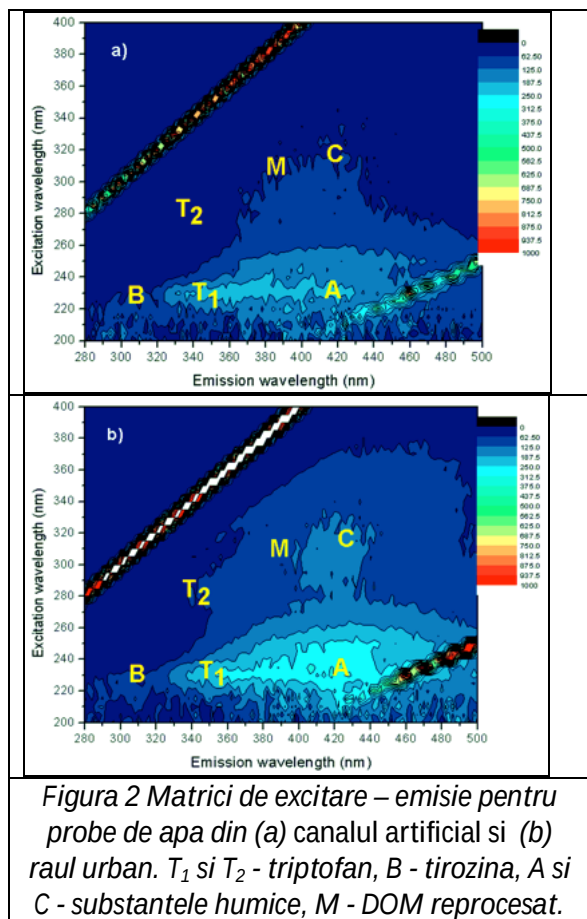
Acesti factori apar, in general, la probele foarte poluate, care implica o concentratie mare a contaminantului, iar in acest caz se recomanda masurarea absorbtiei pentru a verifica aparitia IFE. De asemenea, se recomanda masurarea pH-ului si temperaturii probei, unde este posibil, iar spectrele trebuie corectate daca valorile parametrilor mentionati depasesc pragul normal. Nu este necesara corectia spectrelor, daca temperatura probei, este intre 20⁰ C si 25⁰ C, pH-ul intre 6 si 8, sau absorbtia prezinta o valoare sub 0,1 la 300 nm. In cazul monitorizarii din prezentului studiu, cele 2 sisteme acvatice au prezentat parametri cu valori care nu au depasit pragul limita, nefiind necesara corectia spectrelor.

Activitatea 3. Monitorizarea continua prin spectroscopia de fluorescenta.

Fluorescenta DOM prezinta 5 maxime majore, denumite A, C, M, B si T, nomenclatura introdusa de Coble [14] pentru identificarea zonelor corespunzatoare compusilor DOM din EEM. Astfel, maximele T si B indica activitatea microbiana, triptofan si respectiv tirozina [15] si se coreleaza cu consumul biochimic de oxigen [1]. Maximele C si M sunt asociate substantelor humice reprocesate chimic si microbian, in timp ce maximul A arata o sursa terestra primara [16]. Perechile de lungimi de unda excitare / emisie sunt specifice fiecarei fractiuni: T₁ si T₂ pentru triptofan ($\lambda_{excitatie} / \lambda_{emisie} \sim 225 / \sim 350 \text{ nm} - T_1$, $\lambda_{excitatie} / \lambda_{emisie} \sim 280 / \sim 350 \text{ nm} - T_2$), B pentru tirozina ($\lambda_{excitatie} / \lambda_{emisie} \sim 225 / \sim 305 \text{ nm}$), A si C pentru substantele humice ($\lambda_{excitatie} / \lambda_{emisie} \sim 225 / 400 - 500 \text{ nm} - A$, $\lambda_{excitatie} / \lambda_{emisie} 300 - 350 / 400 - 500 \text{ nm} - C$) si M pentru DOM reprocesat ($\lambda_{excitatie} / \lambda_{emisie} 310 - 320 / 380 - 420 \text{ nm}$). In figura 2, sunt prezentate exemple de EEM pentru cele doua sisteme acvatice investigate.

Activitatea 3.1 Compararea spectrelor de fluorescenta ale celor doua sisteme acvatice analizate

Scopul compararii spectrelor de fluorescenta, rezultate din monitorizarea continua, ale celor doua sisteme a fost de a obtine o mai buna intelegere a caracteristicilor componentelor DOM, la scala diurna, si de a testa versatilitatea montajului experimental. Monitorizarea continua a demonstrat ca cele doua sisteme prezinta caracteristici diferite ale DOM nu numai in ceea ce priveste amprenta spectrala si raportul intre componente ci si prin comportamentul diurn al materiei organice. Matricile apartinand probelor din raul urban sunt caracterizate de cantitati mari de materie humica, in comparatie cu fractiunea microbiana, in



timp ce probele din canalul artificial au prezentat un raport opus între cele două componente (Figura 2). Calitatea apei din raul urban este influențată foarte puternic de precipitații, care cresc cantitatea DOM, în principal, prin aportul de ape pluviale. Nu s-a observat un impact al precipitațiilor asupra probelor de apă din canal, deși s-au înregistrat cantități similare de precipitații în perioada de monitorizare. Conform Swanson et al. [17], datorită vitezei de curgere de ape foarte scăzute și a dispersiei încete din cadrul canalelor, în comparație cu râurile, aportul de ape pluviale determină predominantă nutrienților, asigurând un flux continuu de nutrienți, pe coloana de apă, promovând eutrofizarea. În aceste condiții, apa canalelor prezintă un proces continuu de procesare a materiei organice, spre deosebire de râuri unde DOM este reprocessat imediat [18]. Aceste diferențe sunt observate în spectrele de fluorescență, prin prezenta unei intensități mai mari de fluorescență a maximului T_1 la probele din canal, în comparație cu probele din râu. Procesarea constantă a materiei organice și cantitățile mari de nutrienți conduc la un semnal de fluorescență a maximului T de intensitate mare și invariabil, în cazul spectrelor din canal, în timp ce spectrele probelor din râu prezintă variabilitate mare.

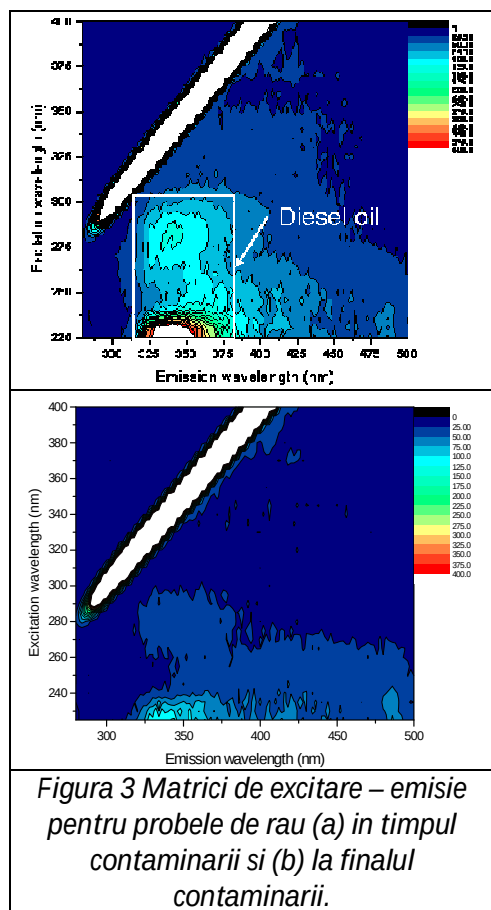
Precipitațiile au influențat și lungimea de undă de emisie a maximului C, la probele din raul urban, generând o

deplasare a lungimii de undă către regiunea maximului M. Tendința către maximul M sugerează că DOM din apele pluviale eliberate în râu a fost reprocessat anterior eliberării sau reprocessat în cadrul râului; de aceea, există o cantitate semnificativă de DOM proaspăt reprocessat. În cazul canalului artificial, lungimea de undă de emisie a fost localizată între maximul C și maximul M, prezentând nicio modificare după precipitații.

Activitatea 3.2 Monitorizarea poluării petroliere și estimarea cantității contaminantului pe baza amprentei spectrale

Un sistem acvatic tipic prezintă maxime de fluorescență corespunzătoare fracțiunilor DOM principale, humica și proteica. În cazul contaminării cu ape menajere, intensitatea fluorescenței componente proteice crește proporțional cu cantitatea contaminantului, iar în cazul unui aport mare de ape pluviale sau a unor activități geologice maxime de fluorescență ale componente humice cresc în intensitate. Astfel, identificarea tipului de contaminant este facilă, fiecare prezentând fluorescență într-o zonă diferită din EEM. Înșă, contaminarea cu produse petroliere produce o amprentă spectrală mult mai complexă și greu de analizat. Mai mult, fluorescența anumitor produse petroliere se suprapune cu fluorescența componente proteice. De aceea, este foarte important să se evalueze fluorescența tipurilor principale de produse petroliere. În acest sens, s-a monitorizat o poluare accidentală cu motorină a unui râu urban, pe o perioadă de 5 zile. Din EEM, s-au identificat două maxime dominante, aparținând contaminării cu motorină, cu $\lambda_{excitare} = 235 \text{ nm}$ și 275 nm și cu $\lambda_{emisie} = 340 \text{ nm}$ (Fig. 3a). După 5 zile de la contaminare, maximele de fluorescență au scăzut în intensitate cu ~ 80 % de la cea mai mare valoare înregistrată (Fig. 3b).

Fluorescența produselor petroliere este dată de un grup de fluorofori intrinseci, denumiți hidrocarburi aromatice, care prezintă maxime de fluorescență la diferite lungimi de undă de emisie în funcție de numărul de inele aromatice pe care îl contin. Astfel, cu cât numărul de inele aromatice este mai mare, cu atât lungimea de undă de emisie este mai mare [19, 20]. În cazul acestui studiu, maximele aparțin compusilor cu 2 (naftalina) și 3 (fenantrena și antracena) inele aromatice. Această informație este foarte importantă deoarece indică persistența și toxicitatea poluantului în mediu. În general, hidrocarburile aromatice cu <4 inele aromatice (masă moleculară mică) prezintă un grad mai mic de toxicitate și persistență redusă, comparativ cu hidrocarburile cu >4 inele aromatice (masă moleculară mare) [21]. În



timpul monitorizarii, la 1 zi de la monitorizare, s-a observat o scadere brusca a intensitatii fluorescentei, ceea ce confirma prezenta hidrocarburilor cu masa moleculara mica (naftalina, fenantrena si antracena). De asemenea, Schwarzenbach et al. [22] sustin ca naftalina este cea mai solubila in apa dintre hidrocarburi, fiind mai probabil ca aceasta sa paraseasca mediul.

S-a constatat ca hidrocarburile cu 2 si 3 inele aromatice, ofera cele doua maxime din figura 3, dar nu este clar daca metoda este capabila sa detecteze tipul de combustibil si sa-i estimeze cantitatea. In acest sens, s-au analizat, in laborator, 2 probe de motorina si benzina, disponibile pe piata. Spectrele de fluorescenta ale acestor probe prezinta maxime de fluorescenta diferite, cu privire la pozitia si forma acestora. Spectrul benzinei prezinta un maxim mare in domeniul $\lambda_{excitare/emisie} = 340 - 380 \text{ nm} / 380 - 430 \text{ nm}$, in timp ce spectrul motorinei are doua maxime mici la $\lambda_{excitare/emisie} = 305 \text{ nm} / 340 \text{ nm}$ si $330 \text{ nm} / 380 \text{ nm}$. Pe baza acestor caracteristici, e posibila distingerea intre combustibili prin amprente de fluorescenta ale acestora.

Studii anterioare [5, 23] au aratat ca trasaturile reale ale spectrului de fluorescenta se modifica la concentratii mari, din cauza IFE. Presupunand ca, proba nediluata de motorina folosita in acest studiu a fost afectata de IFE, s-a realizat o serie de dilutii cu metanol pentru a obtine o corendenta intre amprente de fluorescenta

ale motorinei masurate in laborator si cele ale probelor masurate in timpul monitorizarii. S-a observat o deplasare a lungimilor de unda de emisie, catre lungimi de unda mai mici, incepand cu proba nediluata pana la dilutia de 75 ppm. De asemenea, intensitatea maximului de fluorescenta a crescut odata cu scaderea concentratiei, de la proba nediluata la concentratia de 150 ppm. Aceasta tendinta a fost urmata de o scadere a intensitatii la proba cu o concentratie de motorina de 75 ppm. Din cauza IFE, hidrocarburile cu masa moleculara mare absorb o mare parte din radiatia emisa de hidrocarburile cu masa moleculara mica, dar dupa dilutie semnalul de fluorescenta la hidrocarburilor cu <4 inele aromatice poate fi, de asemenea, observat. Pe baza caracteristicilor spectrelor de fluorescenta ale motorinei la diferite concentratii se poate presupune ca, in cazul monitorizarii in timp real, concentratia de motorina este intre 150 si 300 ppm.

Concluzii si potentiale aplicatii ale metodei

Studiul a demonstrat capacitatea spectroscopiei de fluorescenta de a monitoriza, in timp real si *in situ*, materia organica naturala si poluarile accidentale. Insa, inainte de initierea procesului de monitorizare prin fluorescenta este necesara masurarea parametrilor standard (temperatura, pH, absorbtie) si trasarea curbelor de calibrare, in cazul in care sunt depasite valorile normale, pentru corectia spectrelor. Montajul experimental, pentru monitorizarea DOM, este versatil si prezinta numeroase potentiale aplicatii. De exemplu, metoda poate fi aplicata in controlul on-line al proceselor de tratare a apei menajere. De asemenea, poate fi utilizata cu succes in monitorizarea apelor reciclate, a sistemelor urbane cu efluentii de ape menajere sau in evaluarea compozitiei si concentratiei DOM pentru evitarea producerii de produse secundare in urma tratarii cu clor a apei potabile.

Activitatea 4 Diseminarea rezultatelor

Publicatii

E.M. Carstea, L. Ghervase, G. Pavelescu, M. Tautan, Real-time monitoring of an urban river contaminated with petroleum products, *Environmental Engineering and Management Journal*, 11(2), 279-283, 2012.

E.M. Carstea, L. Ghervase, G. Pavelescu, C. Ioja, Correlation of dissolved organic matter fluorescence and several metals concentration in a freshwater system, *Procedia Environmental Sciences*, 14, 41-48, 2012.

E.M. Carstea, Fluorescence spectroscopy as a potential tool for in-situ monitoring of dissolved organic matter in surface water systems, In: *Water Pollution*, N. Balkis (Ed.), InTech – Open Access Publisher, 47-68, 2012.

M. Ciobanu, V. Turcus, D. Savastru, A. Ardelean, C. Cotoraci, R. Savastru, E. M. Carstea, L. Ghervase, Two approaches characterizing the chaotic behavior of neurons, *Digest Journal Of Nanomaterials And Biostructures*, 7 (4), 1519-1525, 2012.

M. Ciobanu, L. Preda, D. Savastru, R. Savastru, E.M. Carstea, L. Ghervase, Tunability of a hexagonal and of a triangular photonic crystals, acceptata spre publicare in *Moldavian Journal of the Physical Sciences*, 2012.

Masa rotunda cu tema "*Monitorizarea calitatii apei*" (anexa 1)

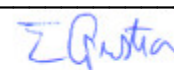
Participare la conferinte si stagii de lucru

- Stagiul de lucru la Institutul de Stiinta Mediului, Universitatea Bogazici, Istanbul, Turcia, pentru a studia, impreuna cu Prof. Miray Bekbolet si Dr. Ceyda Uyguner, capacitatea spectroscopiei de fluorescenta de a evalua eficienta tratarii apei prin fotocataliza.
- Conferinte:
 - o *Conferinta Nationala de Fizica CNF 2012*, 8-10 iulie, Constanta, cu abstractul, Continuous monitoring of dissolved organic matter fluorescence from an urban canal, E.M. Carstea, L. Ghervase, G. Pavelescu, M. Tautan, M. Ciobanu
 - o *6th Interntional Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics, MSCMP 2012*, 11-14 septembrie, Chisinau, Republica Moldova cu abstractul Band gaps of a 2.5 D photonic crystal, M. Ciobanu, L. Preda, D. Savastru, R. Savastru.

Bibliografie

[1] N. Hudson et al., *Science of the Total Environment*, 391 (1) (2008), 149–158. [2] S.R. Ahmad, Reynolds D.M., *Water Research*, 33 (1999), 2069-2074. [3] R.K. Henderson et al., *Water Research*, 43 (2009), 863-881. [4] A. Baker, *Water Research*, 39 (2005), 4405-4412. [5] C.J. Watras, Hanson P.C., Stacy T.L., Morrison K.M., Mather J., Hu Y.-H., Milewski P., *Limnology and Oceanography: Methods*, 9 (2011), 296–301. [6] O. Divya, Mishra A.K., *Analytica Chimica Acta*, 630 (2008), 47–56. [7] C.A. Parker, Barnes W.J., *The Analyst* 82 (978) (1957), 606–618. [8] J.R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Third edition, Publisher Springer New York (2006). [9] M. Kubista et al., *The Analyst*, 119 (3) (1994), 417–419. [10] A. Baker, Curry M., *Water Research*, 38 (2004), 2605-2613. [11] X. Luciani et al., *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 96 (2009), 227-238. [12] D.M. Reynolds, Ahmad S.R., *Water Research*, 31 (1997), 2012-2018. [13] A. Baker et al., *Chemosphere*, 67 (2007), 2035–2043. [14] P.G. Coble, *Marine Chemistry*, 51 (1996), 325-346. [15] S. Cumberland et al., *Environmental Technology*, 33 (2012), 687-693. [16] S.K.L. Ishii, Boyer T.H., *Environmental Science and Technology*, 46 (2012), 2006–2017. [17] L.A. Swanson et al., *Hydrology: Science and Practice for the 21st Century*, Publisher British Hydrological Society, II (2004), 160–167. [18] P.A. Raymond et al., *Marine Chemistry*, 92 (2004), 353– 366. [19] D.Y. Pharr et al., *Ground Water*, 30 (4) (1992), 484–489. [20] O. Abbas et al., *Talanta*, 75 (2006), 857–871. [21] A. Chauhan et al., *Indian Journal of Microbiology*, 48 (2008), 95–113. [22] R.P. Schwarzenbach, Gschwend P.M., Imboden D.M., *Environmental Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, (1993). [23] A. Ryder, *Reviews in Fluorescence*, Eds. Geddes C.D. and Lakowicz J.R. , Springer US (2005), 169-198.

Director proiect,



 Organizator Dr. Elfrida Carstea Institutul National de Cercetare - Dezvoltare pentru Optoelectronica, INOE 2000 	 Contact Institutul National de Cercetare - Dezvoltare pentru Optoelectronica, INOE 2000 Atomistilor 409 Magurele Ilfov frida@inoe.inoe.ro 	Masa rotunda  Monitorizarea calitatii apei  25 octombrie 2012 INOE 2000
---	---	---

		
Program 10:00 – Monitorizarea on-line a materiei organice dizolvate prin spectroscopia de fluorescenta – <u>Dr. Elfrida Carstea</u> 10:30 – Calitatea sistemelor acvatice in zonele urbane – <u>Dr. Cristian Ioja</u> 11:00 – Necesitatea identificarii unor tehnici optime de monitorizare eficienta a calitatii apei – discutii 11:30 – Pauza de cafea. 12:00 – Vizita in laborator 	Invitati Dr. Gabriela Pavelescu, <i>Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Optoelectronica</i> Dr. Lidia Niculita - <i>Universitatea Tehnica de Constructii Bucuresti</i> Dr. Cristian Ioja, <i>Centrul de Cercetare a Mediului si Efectuare a Studiilor de Impact</i> Dr. Mircea Ciobanu, <i>Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Optoelectronica</i> Dr. Gabriel Vanau, <i>Centrul de Cercetare a Mediului si Efectuare a Studiilor de Impact</i> Diana Onose, <i>Centrul de Cercetare a Mediului si Efectuare a Studiilor de Impact</i>	Masa rotunda sustinuta in cadrul proiectului: Investigarea fundamentala si holistica a fractiunilor materiei organice dizolvate in vederea dezvoltarii unei metode inovative de semnalare Cod proiect: PN-II-RU-TE-2011-3-0077  