

Raport stiintific

privind implementarea proiectului "Investigarea fundamentala si holistica a fractiunilor materiei organice dizolvate in vederea dezvoltarii unei metode inovative de semnalare" in perioada octombrie – decembrie 2011

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

Faza actuala: Faza 1, 05.10.2011-15.12.2011

Introducere

În ultimele decenii, s-au dezvoltat tehnici din ce în ce mai avansate, nu numai pentru caracterizarea calității apei, ci și a componentei prezente în toate sistemele acvatice: materia organică dizolvată (engl. DOM) (Coble, 1996; Baker și alții, 2003). O tehnică nouă, spectroscopia de fluorescență, care a fost aplicată cu succes în biologie, medicină sau chimie, a devenit o abordare promițătoare pentru evaluarea compușilor organici acvatici și a poluanților organici, datorită rapidității și sensibilității de analiză. Spectroscopia de fluorescență, sub formă de matrice de excitație – emisie (engl. EEM), poate fi folosită pentru a determina concentrația și compoziția DOM.

Din cadrul amestecului heterogen al DOM, doar proteinele și substanțele humice sunt studiate, în general, prin fluorescență. Fluorescența proteinelor este dată de aminoacizii aromatici: fenilalanină, tirozină și triptofan, indicând activitatea comunităților bacteriene din apă (Cammack și alții, 2004; Elliot și alții, 2006). Fluorescența substanțelor humice indică degradarea plantelor și animalelor prin procese biologice și chimice în mediile terestre și acvatice (Stedmon și Markager, 2003; Patel-Sorrentino și alții, 2002). Datorită dificultăților asociate cu identificarea compușilor fluorescenți individuali, aceste grupuri de fluorofori sunt denumite generic ca fiind *atribuite substanțelor humice* sau *atribuite proteinelor* (mai exact *atribuite triptofanului* sau *tirozinei*). Grupurile sunt denumite, în acest mod, deoarece fluorescența acestora apare în același spațiu optic cu standardele acestor materiale (Hudson și alții, 2007).

În ciuda aplicării frecvente a fluorescenței la analiza calității apei, în ultimii 10 ani, doar câteva studii s-au axat pe monitorizarea continuă și *in-situ*, din cauza lipsei aparatelor necesare. Spencer și alții (2007), Downing și alții (2009) și Cârstea și alții (2010) fost singurii care au aplicat spectroscopia de fluorescență pentru monitorizarea sistemelor de apă dulce, dar cercetarea lor a fost limitată de utilizarea unui fluorimetru cu o lungime de undă fixă, evaluând numai componenta atribuită substanțelor humice, de analiza la o frecvență redusă sau analiza pe un singur sistem acvatic. De aceea, scopul final al acestui proiect este de a caracteriza atât componenta microbiană cât și cea humică, utilizând monitorizarea continuă prin fluorescență, la frecvență mare și de a stabili un protocol optim de monitorizare.

Obiectiv

În vederea identificării și monitorizării poluării, într-un sistem acvatic, este necesară stabilirea caracteristicilor naturale ale apei, cantitatea și calitatea DOM și proporțiile relative ale compușilor microbieni și tereștri. Aceste caracteristici pot fi obținute prin identificarea amprente de fluorescență, specifică fiecărui tip de sistem acvatic. De asemenea, este necesară identificarea amprente spectrale corespunzătoare poluanților acvatici principali pentru a putea determina, cu ușurință, tipul și gradul de contaminare și pentru ca, în urma monitorizării, autoritățile să acționeze rapid și eficient în vederea remedierii.

Activitatea 1.1 Realizarea unei baze de date cu spectre de fluorescență pentru diferite sisteme acvatice

Prima activitate a fazei a avut în vedere întocmirea unei baze de date cu matrice de fluorescență pentru probe colectate din diverse sisteme acvatice de apă dulce (canal, iaz, lac, râu montan, râu urban, râu rural). De asemenea, s-au introdus în baza de date spectre de fluorescență pentru probe din sisteme acvatice afectate de contaminanți majori, precum ape uzate industriale și menajere, dar și probe din ape pluviale, care au un impact major asupra calității apei în care se deversează.

Baza de date a fost realizată folosind matrici de fluorescență pentru probe prelevate din diverse sisteme acvatice reprezentative, în vederea obținerii unei imagini de ansamblu asupra caracteristicilor DOM. Informațiile corespunzătoare fiecărei matrici au fost introduse într-un tabel, cu ajutorul Microsoft Access, similar tabelului din anexa 1, având în plus o coloană pentru observații cu privire la punctele de prelevare a probelor și o coloană cu link către fișierul cu matrici. Matricile de fluorescență au fost procesate cu Origin Pro 7.0 și Microsoft Excel. Baza de date va fi actualizată constant, pe tot parcursul proiectului, pentru a obține o imagine cât mai clară a caracteristicilor DOM, din sistemele acvatice de suprafață.

În figura 1 sunt prezentate o parte din matricile incluse în baza de date și anume râu montan, râu urban, canal (artificial), râu rural, iaz, lac, ape pluviale, ape menajere și apă cu motorină. Spectrele de fluorescență pentru aceste tipuri de apă au prezentat caracteristici distincte pentru fiecare probă, prin formă și intensitate, corespunzând fluoroforilor tipici (substanțele humice cu maximele A și C și componenta proteică, cu maximele T_1 , T_2 și B).

Maximul A este prezent în toate spectrele de fluorescență având forme specifice pentru fiecare probă. Maximul are un domeniu de excitare mai larg pentru probele colectate din lacuri și iazuri și o bandă mai îngustă la spectrele de la canal și râul urban. Spectrul apei montane prezintă doar fluorescența substanțelor humice (maxim A). Componenta humică are maxime de fluorescență mai intense la probele cu impact antropoc (ape menajere și ape pluviale) și aport terestru alohton. S-au detectat cantități semnificative de substanțe humice la probele de lac și iaz datorită contribuției mai multor râuri, care aduc cantități mari de materie organică. Cel de-al doilea maxim atribuit substanțelor humice, maximul C, nu se observă la spectrul de fluorescență al probei din canal, dar este prezent în toate celelalte spectre de fluorescență. Semnalul de fluorescență atribuit materiei humice este foarte îngust la spectrul râului urban și foarte larg la proba din lac.

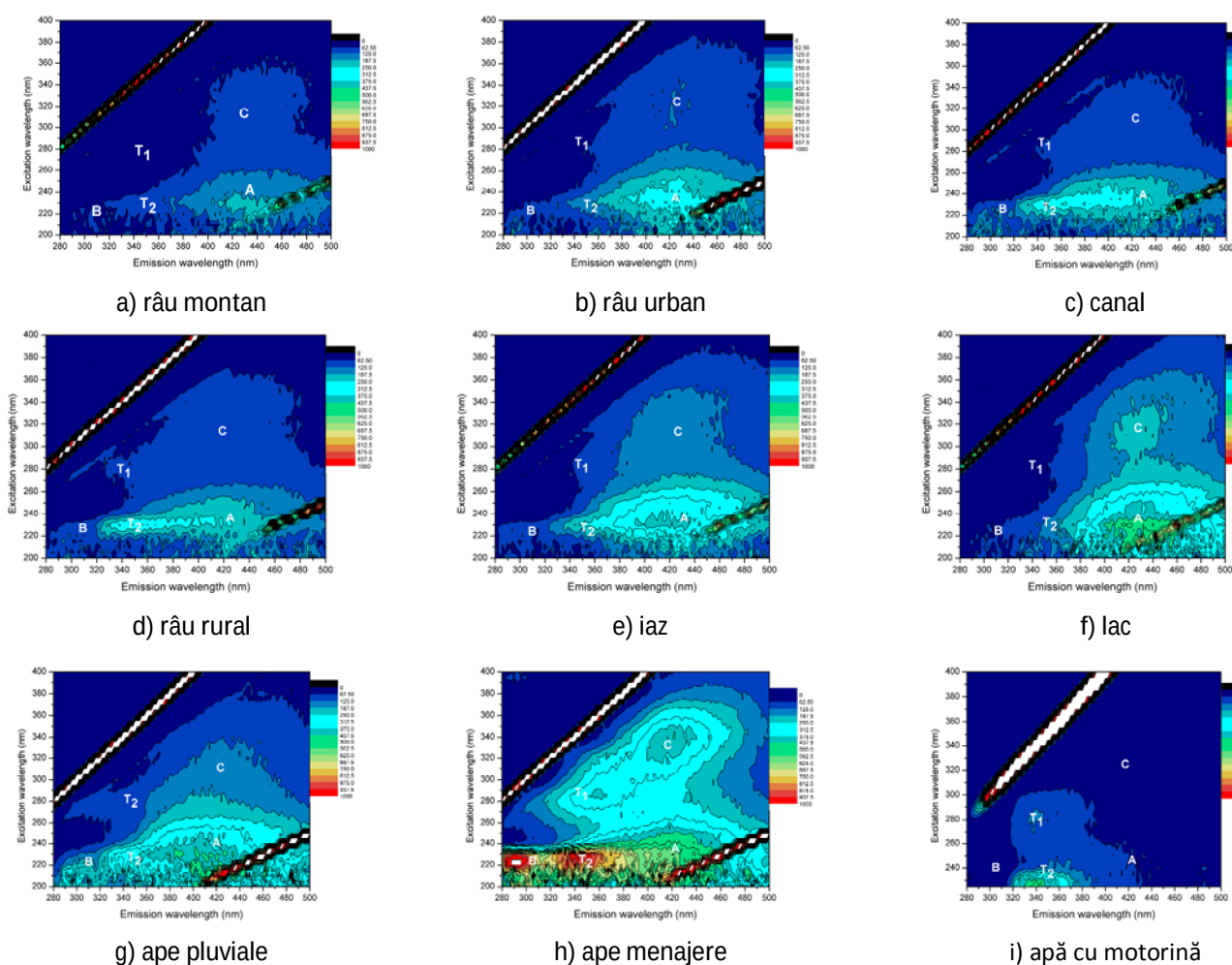


Figura 1. Matrici de fluorescență pentru diverse sisteme acvatice (A și C substanțe humice; B-tirozină, T_1 și T_2 – triptofan).

Componenta microbială poate fi găsită în toate spectrele, cu excepția râului montan, datorită influenței antropice și eutrofizării. Se observă atât maximele de fluorescență atribuite triptofanului (maximele T_1 și T_2) cât și cel al tirozinei (maxim B) la probele colectate din ape menajere. Maximul T_1 se găsește, în principal, la spectrele care aparțin probelor foarte contaminate, caracterizate prin activitate microbială crescută.

Forma spectrelor de fluorescență poate fi utilizată ca amprentă spectrală cu scopul de a diferenția între sisteme acvatice, însă intensitatea compușilor derivați terestru și microbial este, de asemenea, foarte eficientă (Fig. 2). Cel mai intens semnal de fluorescență al acestor compuși a fost înregistrat la proba colectată din apele menajere, în timp ce valoarea cea mai mică a fost obținută pentru proba din râu montan. S-au detectat valori semnificative de fluorescență la proba de apă pluvială, atât pentru componenta microbială cât și pentru cea terestră. Prezența maximului T_2 se datorează faptului că apa pluvială a fost "veche", iar comunitatea bacteriană s-a dezvoltat în perioada dintre ploaie și colectarea probei. Maximul T_2 domină în spectrul de fluorescență al probei de apă rurală, cauzat de prezența deșeurilor de la ferme, care sunt direct deversate în râu. Maximul de fluorescență aparținând compusului triptofan este mai puțin intens, pentru ape menajere de la ferme, decât cel pentru deșeuri umane, care sunt prezente în râurile afectate de ape menajere. Maximele T_1 și T_2 , atribuite în general triptofanului, sunt suprapuse, în cazul apei cu motorină (Fig. 1i), de fluorescența hidrocarburilor poliaromatice. Pentru a le putea diferenția sunt necesare mai multe analize în laborator, folosind diverse produse petroliere, la diverse concentrații, și aplicarea unor metode complexe de analiză statistică a matricilor de fluorescență.

Figura 3 prezintă lungimea de undă a maximului C, care, conform studiilor lui Baker și alții (2008), poate fi utilizată ca indicator al hidrofobității DOM, lungimile de undă mici (400 – 420 nm) indicând prezența unui DOM hidrofил și lungimile de undă mari (430 – 450 nm) indicând DOM-ul hidrofob. Se poate observa că materia organică din lac este de natură hidrofилă, în timp ce materia din râul rural, râul urban, canal și ape menajere este de natură hidrofobă. Probele de râu montan, iaz și ape pluviale prezintă lungimi de undă de emisie ale maximului C în domeniul dintre cele două categorii, ceea ce sugerează prezența unui amestec de DOM hidrofob și hidrofил.

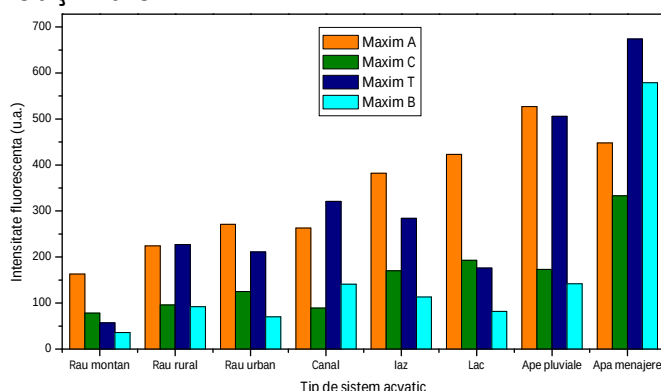


Figura 2. Intensitatea fluorescenței pentru compușii derivați microbial (triptofan T_2 și tirozină B) și pentru compușii derivați terestru (substanțe humice maxime A și C).

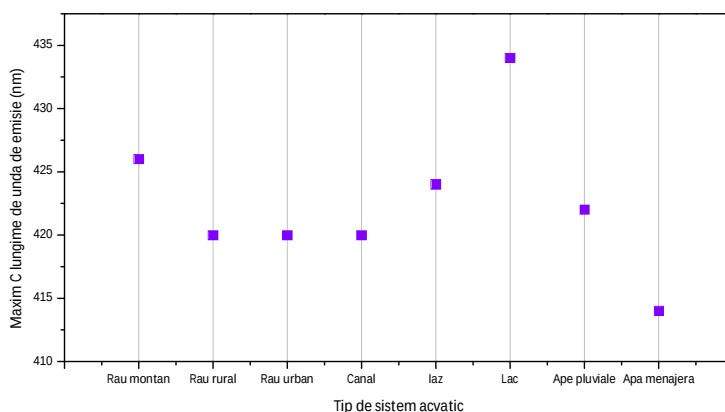


Figura 3. Lungimea de undă de emisie a maximului C pentru diverse sisteme acvatice.

Activitatea 1.2 Analiza indicatorilor spectrali și a parametrilor standard de calitate a apei.

Caracteristicile materiei organice pot fi studiate mult mai riguros prin calculul proporțiilor relative dintre fracțiunile microbiene și terestre, din sistemele acvatice, folosind indici de fluorescență (Huguet și alții, 2009; McKnight și alții, 2001): indice de humificare (HIX), indice biologic (BIX) și indicele F_{450}/F_{500} .

Indicele de humificare poate fi calculat după următoarea formulă:

$$HIX = \frac{\sum (F_{330} - F_{345})}{\sum (F_{435} - F_{480})} \quad (1)$$

unde $F_{330} - F_{345}$ și $F_{435} - F_{480}$ reprezintă intensitatea de fluorescență în domeniul indicat, cu lungime de undă de excitare la 254 nm.

Cel de-al doilea indice de fluorescență, BIX, este calculat ca raportul între intensitatea de fluorescență la 380 nm și 430 nm, cu excitare la 310 nm. Cei doi parametri pot fi utilizați ca o abordare complementară pentru studiul caracterului materiei organice și pentru identificarea amprentei spectrale a fiecărui sistem acvatic. Indicele F_{450}/F_{500} a oferit informații nesemnificative comparativ cu HIX și BIX. Cel mai bun rezultat a fost obținut pentru proba prelevată din ape menajere, la care indicele F_{450}/F_{500} a indicat originea microbiană a materiei organice, în timp ce pentru alte probe a dat rezultate neconcludente.

Pentru o identificare eficientă a amprentelor de fluorescență ale diverselor tipuri de sisteme acvatice, cu caracteristici similare sau diferite s-a realizat o evaluare și comparație a parametrilor de fluorescență. Indicii de humificare sau biologici au fost foarte eficienți în a diferenția între tipurile de apă, împărțindu-le în patru categorii: *râurile montane și lacurile* – care conțin materie organică puternic humificată; *râurile urbane, iazurile și apele pluviale* – prezintă grad de humificare mare dar și componentă microbiană; *râurile rurale și canalul navigabil* – conțin fracțiune microbiană mare și cantități scăzute de componentă terestră; *apele menajere* – conțin fracțiune microbiană semnificativă și cantități scăzute de componentă terestră.

Probele, cu cel mai mare grad de humificare, au fost cele prelevate din râul montan și lac, datorită influențelor reduse de poluare difuză și lipsei de surse de poluare în apropiere. Probele din iaz, râu urban și apă pluvială prezintă grad mare de humificare, dar sunt afectate de poluare difuză.

Valorile parametrilor standard pentru probele selectate sunt prezentate în tabelul 1. Se poate observa că valorile cele mai mari, pentru conductivitate, au fost înregistrate la proba de apă menajeră, fiind urmată de probele prelevate din canal, iaz și râu rural. În schimb, probele de ape pluviale și de râu montan au prezentat valorile cele mai mici. Aceeași manifestare este observată pentru intensitatea de fluorescență a componentei microbiene, cu excepția probei de ape pluviale.

Tabel 1. Valori ale parametrilor standard pentru calitatea apei.

Parametri de calitate a apei	pH	Conductivitate ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Azotați (mg/L)	Fosfați (mg/L)	Amoniac (mg/L)
Tip probă					
Râu montan	6.7	340	1.1	0.9	0.6
Râu urban	7.1	394	0.4	0	0.2
Canal	6.8	747	0	2.5	0.1
Iaz	7.3	687	0.9	0.4	0.2
Lac	6.8	288	0	0.6	0.2
Râu rural	8.1	413	1.8	0.2	0.3
Ape pluviale	7.0	98	0.1	0.2	0.1
Apă menajeră	7.6	834	1.1	-	2.1

Concluzii

S-a obținut o colecție de amprente spectrale, reprezentând o **bază de date** cu spectre de fluorescență pentru diferite tipuri de ape, cu scopul de a pune în evidență influența antropică asupra diferitelor tipuri de sisteme acvatice și pentru a înțelege corelația dintre parametrii standard ai apei și diverși poluanți. Această bază de date reprezintă punctul de pornire pentru stabilirea indicatorilor de fluorescență utili în monitorizarea continuă a calității apelor de suprafață. Parametrii de fluorescență: indicele de humificare, indicele biologic și indicele F_{450}/F_{500} , au fost foarte eficienți în diferențierea tipurilor de probe de apă, împărțindu-le în patru categorii: *râurile curate și lacurile* – conțin materie organică puternic humificată;

râurile urbane, iazurile și apele pluviale – prezintă grad de humificare mare dar și componentă microbiană; râurile rurale și canalul navigabil – conțin fracțiuni microbiană mare și cantități scăzute de componentă terestră; râurile afectate de ape menajere – conțin fracțiuni microbiană semnificativă și cantități scăzute de componentă terestră.

Activitatea 1.3 Diseminarea rezultatelor

Rezultatele acestei faze au fost diseminate prin redactarea unui capitol de carte, în editură, în străinătate și a unei lucrări științifice trimisă spre publicare și prin organizarea unei mese rotunde.

Publicații

E.M. Cârstea, *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, 2011, în curs de publicație.

E. M. Cârstea, L. Ghervase, G. Pavelescu, C. Ioja, L. Niculiță, *Optical techniques correlated with standard chemical analysis for environmental assessment*, trimisă spre publicare la *Procedia Environmental Sciences*.

Masa rotundă (anexa 2)

În vederea promovării activității științifice prestate în cadrul proiectului și a capacității spectroscopiei de fluorescență de evaluare a calității sistemelor acvatice, a fost organizată masa rotundă cu tema: *Calitatea apelor de suprafață din zonele urbane*. La masa rotundă au fost invitați participanții din cadrul proiectului și cercetători de la Centrul de Cercetare a Mediului și Efectuare a Studiilor de Impact, Universitatea din București. S-au susținut 3 prezentări, de către Dr. Elfrida Cârstea, Dr. Luminița Ghervase și Dr. Cristian Ioja, pe tema sistemelor acvatice urbane, la care au auzit atât invitații, cât și studenți ai Facultății de Fizică și ai Facultății de Geografie.

Referințe

- Baker A., Inverarity R., Charlton M., Richmond S., Detecting river pollution using fluorescence spectrophotometry: case studies from the Ouseburn, NE England, *Environmental Pollution*, **124** (2003), 57-70.
- Baker A, Tipping E, Thacker SA, Gondar D., Relating dissolved organic matter fluorescence and functional properties, *Chemosphere*, **73** (2008), 1765–1772.
- Cammack W.K.L., Kalf J., Prairie Y.T., Smith E.M., Fluorescent dissolved organic matter in lakes: Relationship with heterotrophic metabolism, *Limnology and Oceanography*, **49** (6) (2004), 2034-2045.
- Cârstea E.M., Baker A., Bieroza M., Reynolds D., Continuous fluorescence excitation emission matrix of river organic matter, *Water Research*, **44** (18) (2010), 5356-5366.
- Coble P.G., Characterisation of marine and terrestrial dissolved organic matter in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy, *Marine Chemistry*, **51** (1996), 325-346.
- Downing B.D., Boss E., Bergamaschi B.A., Fleck J.A., Lionberger M.A., Ganju N.K., Schoellhamer D.H., Fujii R., Quantifying fluxes and characterizing compositional changes of dissolved organic matter in aquatic systems in situ using combined acoustic and optical measurements, *Limnology and Oceanography: Methods*, **7** (2009), 119-131.
- Elliott S., Lead J.R., Baker A., Characterisation of the fluorescence from freshwater, planktonic bacteria, *Water Research*, **40** (10) (2006), 2075-2083.
- Hudson N., Baker A., Reynolds D., Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters—a review, *River Research and Applications*, **23** (2007), 631–649.
- Huguet A., Vacher L., Relexans S., Saubusse S., Froidefond J.M., Parlanti E., Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary, *Organic Geochemistry*, **40** (2009), 706–719.
- McKnight D.M., Boyer E.W., Doran P., Westerhoff P.K., Kulbe T., Andersen D.T., Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity, *Limnology and Oceanography*, **46** (2001), 38-48.
- Patel-Sorrentino N., Mounier S., Benaim J.Y., Excitation-emission fluorescence matrix to study pH influence on organic matter fluorescence in the Amazon basin rivers. *Water Research*, **36** (2002), 2571-2581.
- Stedmon C.A., Markager S., Bro R., Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy, *Marine Chemistry*, **82** (2003), 239-254.
- Spencer R.G.M., Pellerin B.A., Bergamaschi B.A., Downing B.D., Kraus T.E.C., Smart D.R., Dahlgren R.A., Hernes P.J., Diurnal variability in riverine dissolved organic matter composition determined by *in situ* optical measurement in the San Joaquin River (California, USA), *Hydrological Processes*, **21** (23) (2007), 3181-3189.

Anexe:

Anexa 1. Bază de date

Anexa 2. Anunț masă rotundă

Director de proiect,
Dr. Elfrida Cârstea



Anexa 1. Bază de date

ID	Denumire proba	Intensitate maxim A	Intensitate maxim B	Intensitate maxim C	Intensitate maxim T1	Intensitate maxim T2	Emisie maxim C	Emisie maxim T1	Emisie maxim T2
1	Apa distilata	10	24	12	2	14	408	348	358
2	Zapada	39	120	14	16	79	418	338	356
3	Apa izvor	4	2	160	37	2	410	360	350
4	Rau montan	232	83	104	42	123	436	352	340
5	Rau rural 1	6	3	445	178	6	420	340	340
6	Rau rural 2	266	62	165	27	89	458	340	358
7	Rau rural 3	316000	587200	284500	717500	92490	408	338	343
8	Rau rural 4	620	62	272	71	156	438	356	358
9	Rau rural 5	288	137	110	85	318	416	358	348
10	Rau rural 6	299	88	148	32	126	448	356	344
11	Rau urban	331	114	140	70	210	436	356	356
12	Canal	323	178	97	89	320	418	358	346
13	Iaz 1	2	2	181	104	3	415	345	340
14	Iaz 2	3	4	216	104	1	410	340	
15	Iaz 3	430	134	180	96	275	418	358	352
16	Lac 1	10050	27500	5770	16230	27370	408	352	346
17	Lac 2	37400	36690	23650	26390	55810	415	353	339
18	Lac 3	32820	25920	17850	22910	41660	411	338	350
19	Lac 4	29170	60100	17470	57910	80600	419	338	341
20	Lac 5	39960	55080	24470	65280	85350	433	338	338
21	Lac 6	32090	29550	19950	31460	42530	418	338	354
22	Lac 7	36530	62450	18660	64130	87830	424	338	341
23	Lac 8	24610	25980	14930	26900	36220	410	339	343
24	Lac 9	34420	48560	16270	41540	77560	417	338	343
25	Lac 10	33860	37190	22790	42880	57730	416	338	338
26	Lac 11	16880	16030	9395	14890	21420	421	339	345
27	Lac 12	30880	26170	18350	26980	38960	413	339	339
28	Lac 13	31470	49240	20340	47230	74620	414	338	340
29	Lac 14	13210	39480	6436	37370	53100	408	338	342
30	Lac 15	20680	34200	11720	33970	48090	410	338	338
31	Lac 16	545	129	224	71	198	432	356	346
32	Dunare	275	151	118	56	187	422	358	350
33	Ape pluviale 1	245300	131600	50860	345200	1079000	443	339	343
34	Ape pluviale 2	18590	9622	5574	15560	44010	433	339	345
35	Ape pluviale 3	59470	21100	17380	29250	85530	411	348	345
36	Ape pluviale 4	30990	12270	11050	17470	48950	433	357	352
37	Ape pluviale 5	97310	44900	27860	59810	163500	408	358	347
38	Ape pluviale 6	40210	15670	14470	25460	70360	418	358	349
39	Ape pluviale 7	70320	22800	18960	32680	94970	422	358	348
40	Ape pluviale 8	484	293	159	124	416	432	358	356
41	Ape menajere 1	653	987	453	393	1000	422	360	342
42	Ape menajere 2	483	505	286	213	784	424	358	344
43	Ape menajere 3	47700	22090	21450	28970	70120	412	338	340
44	Ape industriale 1	14660	24000	14540	33850	21530	419	342	340
45	Ape industriale 2	9794	25780	16730	314900	28000	408	343	351
46	Ape industriale 3	91730	85040	29950	180600	489400	408	358	348
47	Ape amestec menajer industrial	56760	153000	28260	186500	232300	402	324	336
48	Apa motorina	82	45	41	91	141	412	354	352

Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru
Optoelectronică, INOE 2000

Masă rotundă

Calitatea apelor de suprafață din zonele urbane

7 Decembrie 2011

10:00 – 12:30



Program

10:00 – Monitorizarea on-line a materiei organice dizolvate dintr-un râu urban prin spectroscopia de fluorescență – Dr. Elfrida Cârstea

10:30 – Zone urbane de conflict și impactul acestora asupra calității mediului – Dr. Cristian Ioja

11:00 – Evaluarea calității lacurilor din București – Dr. Luminița Ghervase

11:30 – Pauză de cafea.

12:00 – Vizită în laboratorul de fluorescență

Invitați

Dr. Gabriela Pavelescu, *Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Optoelectronică*

Dr. Cristian Ioja, *Centrul de Cercetare a Mediului și Efectuare a Studiilor de Impact*

Ing. Luminița Ghervase, *Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Optoelectronică*

Dr. Mircea Ciobanu, *Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Optoelectronică*

Dr. Gabriel Vânău, *Centrul de Cercetare a Mediului și Efectuare a Studiilor de Impact*

Mihai Răzvan Niță, *Centrul de Cercetare a Mediului și Efectuare a Studiilor de Impact*

Diana Onose, *Centrul de Cercetare a Mediului și Efectuare a Studiilor de Impact*

Studenti ai Facultății de Fizică și ai Facultății de Geografie, Universitatea din București (maxim 20 persoane)

Organizator

Dr. Elfrida Cârstea, *Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Optoelectronică*

Localizare

Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Optoelectronică, INOE 2000
Atomiștilor 409
Măgurele
Ilfov

Contact

frida@inoe.inoe.ro
031 / 405 07 96

Masă rotundă susținută în cadrul proiectului:

Investigarea fundamentală și holistică a fracțiunilor materiei organice dizolvate în vederea dezvoltării unei metode inovative de semnalare

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