

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ФІЗІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ *CHLORELLA VULGARIS* ТА ЇЇ ЗДАТНІСТЬ ДО БІОАКУМУЛЯЦІЇ

Шило Д.О., Клімкіна І.І.

Національний технічний університет «Дніпровська політехніка»

пр. Д. Яворницького, 19, 49005, м. Дніпро

darishashilo@gmail.com, irina_klimkina@ukr.net

Висвітлені результати дослідження впливу важких металів на фізіологічну активність *Chlorella vulgaris* та її здатність до біоаккумуляції. Отримано експериментальні результати дослідження резистентності клітин *Chlorella vulgaris* під впливом підвищених концентрацій свинцю та кадмію. Лабораторні дослідження на визначено мікроелементного складу біомаси водоростей ICP-MS методом виконувались на базі екологічної лабораторії ТУ «Фрайберзька гірнична академія», Німеччина. Було проведено культивування мікророзростів у розчинах з додаванням $Pb(NO_3)_2$ із загальною концентрацією свинцю 0,03 мг/л, з додаванням $CdCl_2$ із загальною концентрацією кадмію 0,001 мг/л та контрольного розчину без додавання важких металів. Встановлено, що *Chlorella vulgaris* має високу здатність до швидкого приросту біомаси при дотриманні певних умов, а саме наявності поживного середовища та оптимальної температури в межах 20–30°C. Протягом культивування на розчинах з додаванням важких металів мікророзростів не втратили здатності до розмноження та підтримання життєдіяльності. Результати дослідження показали, що додатковий вплив концентрацій свинцю та кадмію на рівні ГДК сприяє підвищенню акумуляції переважної кількості досліджених хімічних елементів. У дослідних варіантах на тлі додаткового стресу кадмієм та свинцем в біомасі хлорели спостерігається підвищення концентрацій хрому у 3,8 і 10,7 разів відповідно, мангану приблизно у 2,5 і міді у 1,28 разів в обох варіантах, цинку в 4,3 і 2,1 рази, свинцю у 1,8 і 1,3 рази відповідно. Було виявлено, що мікророзростів *Chlorella vulgaris* мають певну резистентність до впливу важких металів. Як наслідок, висновки дослідження можуть використовуватися для розробки біотехнології доочищення поверхневих та/або промислових вод від важких металів та інших токсичних елементів. **Ключові слова:** важкі метали, ГДК, біоаккумуляція, стічні води.

Investigation of the effect of heavy metals on physiological activities of *Chlorella vulgaris* with special references to heavy metal bioaccumulation. Shylo D., Klimkina I.

The article highlights the result of the investigation of the effect of heavy metals on physiological activities of *Chlorella vulgaris* with special references to heavy metal bioaccumulation. Experimental result of the effect of elevated concentrations of lead and cadmium on *Chlorella vulgaris* were obtained. Laboratory test for determine the microelement composition of algae biomass by the ICP-MS method were performed on the basis of the ecological laboratory of the TU Bergakademie Freiberg. Cultivation of microalgae was carried out in solutions with the addition of $Pb(NO_3)_2$ with a total lead concentration of 0.03 mg/l, with the addition of $CdCl_2$ with a total concentration of cadmium of 0.001 mg/l, and a control solution without the addition of any metals. It has been established that *Chlorella vulgaris* has a high ability to rapidly increase biomass under certain conditions: the presence of a nutrient medium, the optimal temperature in the range of 20–30°C. During cultivation in solutions with the addition of heavy metals, microalgae did not lose their ability to reproduce and maintain vital activity. The results of the study showed that the additional affect of lead and cadmium concentrations contributes to an increase in the accumulation of chemical elements that were studied. In the experimental samples, there is an increase in the concentrations of chromium by 3.8 and 10.7 times, manganese by approximately 2.5 and copper by 1.28 times in both samples, zinc by 4.3 and 2.1 times, lead by 1.8 and 1.3 times. *Chlorella vulgaris* microalgae have been found to be resistant to the effects of heavy metals. It was found that *Chlorella vulgaris* is resistant to heavy metals. The results of the work can be used development of biotechnology for further purification of surface and/or industrial waters from heavy metals and other toxic elements. **Key words:** heavy metals, MPC, bioaccumulation, wastewater.

Постановка проблеми. Забруднення навколишнього середовища важкими металами є однією з найпоширеніших проблем у світі. Важкі метали надходять до природних джерел зі стоками гальванічних, приладобудівних, хімічних виробництв, гірничозбагачувальних комбінатів, теплоелектростанцій та шахтних вод. Важкі метали є токсичними для екосистем та забруднення цими компонентами є характерним для вод басейну Дніпра [1]. Це створює серйозні ризики як для екосистем, так і для людей. Потрапивши в організм важкі метали можуть накопичуватись у кістках та різних органах, спричиняючи їх дисфункцію.

Актуальність дослідження. Важкі метали становлять особливу небезпеку для навколишнього сере-

довища у зв'язку з токсичністю та здатністю накопичуватись в їх організмах. Важкі метали можуть потрапляти у водойми з різних джерел, однак серед усіх виділяють два основні шляхи їх надходження: природний і антропогенний. Метали – природні складові водного середовища. Деякі з них, наприклад Fe, Mn, Zn, Co, Mo, завжди присутні в низьких концентраціях у водному середовищі. Природні джерела можуть включати ерозію рудопроїв, перенесення металовмісного пилу вітром, лісові пожежі. До антропогенних джерел, основа яких – процеси індустріалізації та урбанізації, належать згоряння палива, видобування корисних копалин, вихлопні гази транспорту, скидання твердих побутових від-

ходів, застосування важких металів у складі добрив і пестицидів.

Регіональне забруднення малих річок важкими металами спричинює погіршення якості води у середніх і великих річках, що створює серйозну небезпеку для здоров'я населення.

За результатами узагальнення даних державного обліку водокористування у 2016 році в поверхневій водні об'єкти скинуто 5399 млн. м³ стічних вод, у тому числі: підприємствами промисловості – 3444 млн. м³ [2]. Проби поверхневої води було перевірено на наявність восьми металів: кадмій (Cd), свинець (Pb), ртуть (Hg), нікель (Ni), миш'як (As), хром (Cr), мідь (Cu) та цинк (Zn). Вище за ГДК була концентрація кадмію яка дорівнювала 2,66 мкг/л [3].

Зазвичай очищення стічних вод від іонів важких металів здійснюється за допомогою наступних методів:

- фізико-хімічні: реагентний метод, феритизація, сорбція;
- біологічні: біоінженерні споруди типу біоплато, фітоаккумуляція іонів вищими водними рослинами, осадження іонів важких металів біогенним сірководнем, біосорбція.

Традиційні фізико-хімічні методи мають недоліки пов'язані з високою вартістю, енергоємністю, складністю експлуатації та використання хімічних реагентів, а застосування реагентів-окисників провокує забруднення продуктами окиснення й утворення небажаних осадів. Наразі широкого використання у сфері очистки поверхневих стічних вод набувають біотехнології [4].

Chlorella vulgaris широко використовується в екологічних технологіях щодо очищення стічних вод з різною концентрацією забруднюючих речовин. Це пояснюється тим, що для своєї життєдіяльності водорості споживають вуглекислий газ та мінеральні елементи і виділяють кисень.

Зв'язок авторського доробку із важливими науковими та практичними завданнями. Метою роботи є дослідження впливу важких металів на фізіологічну активність *Chlorella vulgaris* та її здатність до біоаккумуляції мікроелементів з навколишнього водного середовища.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Аналіз літератур показав, що *Chlorella vulgaris* може ефективно накопичувати важкі метали з водного середовища, але ефективність біоаккумуляції залежить від концентрації металу [5, 6]. Під час дослідження біоаккумуляції важких металів різними типами мікроводоростей було виявлено, що певні види водоростей є більш ефективними для певних важких металів. Найвищий біоаккумуляційний фактор у мікроводорості *Chlorella vulgaris* був із металами Cu, Fe, Al [7].

Аналіз літературних даних доводить доцільність можливого використання мікроводоростей *Chlorella vulgaris* для очистки поверхневих стічних вод забруднених важкими металами.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття. В експериментальних умовах досліджено можливість застосування клітин мікроводорості *Chlorella vulgaris* з метою біоаккумуляції важких металів з водного середовища.

Новизна. Отримано експериментальні результати дослідження резистентності клітин *Chlorella vulgaris* під впливом підвищених концентрацій свинцю та кадмію. Визначено мікроелементний склад біомаси водоростей методом ICP-MS (на базі екологічної лабораторії ТУ «Фрайберзька гірнична академія», Німеччина).

Методологічне або загальнонаукове значення. Для досягнення необхідної кількості біомаси клітини *Chlorella vulgaris* культивували на поживному середовищі № 3 ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,75 г/л; KH_2PO_4 – 1,5 г/л; $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ – 0,3 г/л; FeCl_3 – сліди) в лабораторних умовах при природному освітленні та температурі, а також примусовому додаванні повітря через акваріумний компресор, протягом 7 днів.

На фазі експоненціального зростання клітини у кількості 20.55×10^6 кл/мл (при підрахунку у камері Горяєва) були відібрані для культивування у розчинах з додаванням $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ із загальною концентрацією свинцю 0,03 мг/л, з додаванням CdCl_2 із загальною концентрацією кадмію 0,001 мг/л та контрольного розчину без додавання важких металів. *Chlorella vulgaris* була культивована на цих розчинах протягом 3 днів (рис. 2).

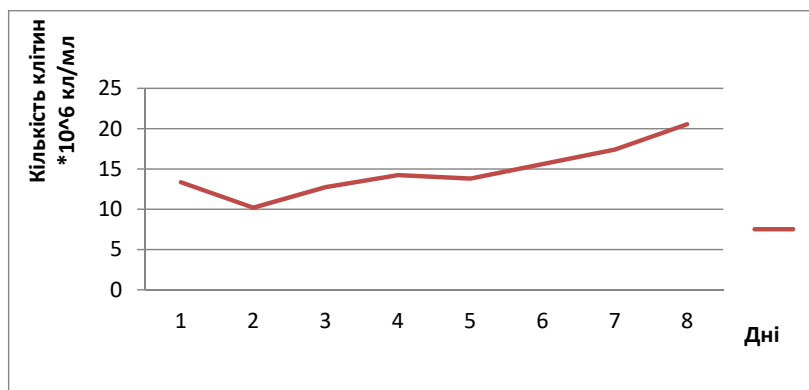
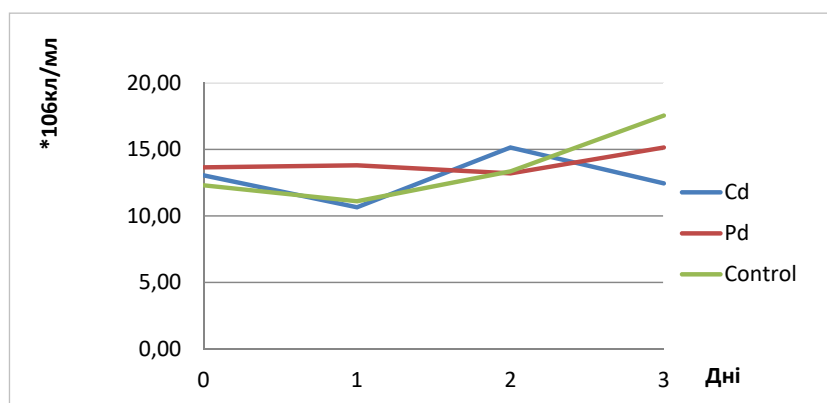
Результати культивування *Chlorella vulgaris* на поживному середовищі № 3 з метою отримання необхідної біомаси для подальшого використання в експерименті з важкими металами представлені на рис. 1.

Як видно з рис. 1, після різкого зменшення кількості клітин на другий день культивування, що може бути пов'язано з адаптацією клітин до нових умов існування, зокрема поживного середовища, температури та освітлення, спостерігається зростання біомаси мікроводорості протягом тижня культивування. Слід відмітити високу здатність *Chlorella vulgaris* до швидкого приросту біомаси при дотриманні певних умов, а саме наявності поживного середовища та оптимальної температури в межах 20-30°C.

Для проведення експерименту з визначення біоаккумуляційних показників мікроводоростей при культивуванні на розчинах з підвищеним вмістом свинцю та кадмію проводили забір клітин для інокуляції за умов попереднього експоненціального зростання культури *Chlorella vulgaris* (рис. 2).

Рисунок 2 показує, що протягом трьох днів культивування на розчинах з додаванням важких металів мікроводорості були здатні підтримувати життєдіяльність і не втратили можливості до розмноження.

Після експерименту біомаса була відцентрифугована і висушена при 90°C. Зразки біомаси розчиняли розчином *aque-regio* (H_2O , HCl та HF) під впливом

Рис. 1. Приріст клітин *Chlorella vulgaris* протягом 7 днів культивуванняРис. 2. Культивування *Chlorella vulgaris* у розчинах культурального середовища з додаванням кадмію (із загальною концентрацією 0,001 мг/л), свинцю (із загальною концентрацією 0,03 мг/л) і без навантаження важкими металами (контроль) протягом 3 днів експерименту

температури 200°C та тиску (метод Microwave digestion) і розводили до ICP-MS аналізу.

Отримані результати використовували для обчислення біоаккумуляційного фактора, який розраховували як співвідношення концентрації елемента в біомасі до його концентрації в культуральному розчині (табл. 1).

З таблиці 1 видно, що біомаса мікроводоростей в експериментальних варіантах містить більшу концентрацію металів, зокрема важких, а також інших токсичних елементів, у порівнянні із контрольними зразками. Хоча результати даного експерименту не дають змогу встановити механізм накопичення або можливої сорбції важких металів клітинами, можна стверджувати, що додатковий вплив концентрацій свинцю та кадмію на рівні ГДК сприяє підвищенню акумуляції переважної кількості досліджених хіміч-

них елементів. Так, у дослідних варіантах на тлі додаткового стресу кадмієм та свинцем в біомасі хлорели спостерігається підвищення концентрацій хрому у 3,8 і 10,7 разів відповідно, мангану приблизно у 2,5 і міді у 1,28 разів в обох варіантах, цинку в 4,3 і 2,1 рази, свинцю у 1,8 і 1,3 рази відповідно. Проте, вказані концентрації не викликали стрімкого пригнічення показників росту (рис. 2), що вказує на резистентність клітин *Chlorella vulgaris* до негативного впливу важких металів на рівні ГДК.

Таким чином, мікроводорості *Chlorella vulgaris* виявили певну резистентність до впливу важких металів, тому вважаємо за доцільне використовувати дану культуру для розробки біотехнології доочищення поверхневих та/або промислових вод від важких металів та інших токсичних елементів.

Таблиця 1

Біоаккумулятивний фактор накопичення кадмію та свинцю біомасою *Chlorella vulgaris*

	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Sn	Pb
Контроль	6	27	245	5	88	25	69	40	98
0,001 мг/л Cd	23	69	92	6	180	32	298	34	181
0,03 мг/л Pb	64	62	98	6	10	32	148	59	129

Література

1. Хімко Р.В., Мережко О. І., Бабко Р. В. Малі річки – дослідження, охорона, відновлення : довідник. Київ, 2003. 380 с.
2. Національна доповідь про якість питної води та стан питного водопостачання в Україні у 2016 році : проект / М-во розвитку громад та територій України URL : <https://www.minregion.gov.ua/napryamki-diyalnosti/zhkh/teplo-vodopostachannya-ta-vodovidvedennya/natsionalna-dopovid/proekt-natsionalnoyi-dopovidi-pro-yakist-pitnoyi-vodi-ta-stan-pitnogo-vodopostachannya-v-ukrayini-u-2016-rotsi/>
3. Слободник Я., Алігізакіс Н., Освальд Петер. Скринінговий моніторинг річкового басейну Дніпра : звіт. Київ, 2021. 13 с.
4. В. Я. Ціпук, Л. А. Саблій. Аналіз методів очищення стічних вод від іонів важких металів. *Екологічні біотехнології та біоенергетика* : матеріали науково-практичного семінару присвяченого 120-річчю КПП ім. Ігоря Сікорського. Київ : КПП ім. Ігоря Сікорського, 2018. С. 87–91.
5. Afkar, E., Ababna, H. , Fathi, A. A. Toxicological Response of the Green Alga *Chlorella vulgaris*, to Some Heavy Metals. *American Journal of Environmental Sciences*. 2010. Vol 6, No. 3. P. 230–237.
6. L. Wang et al. Fast and efficient cadmium biosorption by *Chlorella vulgaris* K-01 strain: the role of cell walls in metal sequestration. *Algal Research*. 2021. Vol. 60, No. 92.
7. Abirhire, O. Bioaccumulation of heavy metals using microalgae. *Asian Journal of Microbiology. Biotechnology and Environmental Sciences*. 2011. Vol 13, No. 1. P. 91–94.