

CZU: 579.22: 577.12

INFLUENȚA SELENITULUI DE Fe(III) ȘI A INTENSITĂȚII DE ILUMINARE ASUPRA CONȚINUTULUI DE FICOBILIPROTEINE, SELENIU ȘI FIER ÎN BIOMASA CIANOBACTERIEI *SPIRULINA PLATENSIS*

**Valentina BULIMAGA, Liliana ZOSIM,
Maria PISOVA, Valeriu RUDIC*, Sergiu ȘOVA**

*Universitatea de Stat din Moldova
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

Productivitatea spirulinei și conținutul de fier în biomasă au înregistrat valori mai înalte la iluminare mai intensă (5500 lx), comparativ cu 3500 lx, iar acumularea ficobiliproteinelor în biomasă de spirulină a fost mai semnificativă la 3500 lx. Conținutul de seleniu acumulat în fracția de ficobiliproteine a înregistrat valori mai sporite cu majorarea concentrației selenitului de fier, fiind maxime la concentrația acestuia de 45 mg/l la ambele intensități de iluminare. La 3500 lx conținutul de seleniu în extractul sumar de ficobiliproteine a fost de 1,4-1,5 ori mai majorat, comparativ cu cel atestat la 5500 lx.

Cuvinte-cheie: *Spirulina platensis*, acumulare, seleniu, fier, ficobiliproteine.

EFFECTS OF Fe(III) SELENITE AND LIGHT INTENSITY ON THE ACCUMULATION OF PHYCOBILIPROTEINS, SELENIUM AND IRON IN BIOMASS OF CYANOBACTERIUM *SPIRULINA PLATENSIS*

Spirulina productivity and iron content in biomass recorded higher values at light intensity 5500 lx, compared to 3500 lx, but phycobiliproteins accumulation in *spirulina* biomass was more significant at 3500 lx. The content of the accumulated selenium in the phycobiliproteins registered the increased values with the increasing of selenite concentration, attesting its maximum value at 45 mg/l, at the both light intensity. Selenium content in the phycobiliproteins at 3500 lx was by 1.4-1.5 times higher, compared to that registered at 5500 lx.

Keywords: *Spirulina platensis*, selenium, iron, accumulation, phycobiliproteins.

Introducere

Actualmente, la nivel mondial prezintă interes cercetările cu aspecte fundamentale și aplicative, legate de perfecționarea procedurilor de cultivare a spirulinei, plasând în prim-plan elaborarea unor modele noi de dirijare eficientă a fotobiosintezei în direcția sporirii producerii de biomasă și obținerii principiilor bioactive cu calități pronosticate. Un antioxidant major natural de natură proteică identificat în biomasă de cianobacterii și microalge este ficocianina. Cercetările recente au demonstrat că ficocianina obținută din biomasă de spirulină posedă activitate antioxidantă înaltă (are capacitate de distrugere a radicalilor peroxynitrit, hidroxil și peroxil), are un efect anti-alergic, antiinflamator servind și în calitate de neuro- și hepatoprotector. Ficocianina are proprietăți fluorescente, preîntâmpină sau stopează dezvoltarea tumorilor maligne, restabilește funcțiile hematopoetice ale organismelor, întărește imunitatea organismului, sporește activitatea limfocitelor [1].

Un rol important în contracararea radicalilor liberi revine și microelementului esențial **seleniu**. Ca un element constitutiv al selenoproteinelor, seleniul are roluri structurale și enzimatic semnificative, manifestă proprietăți antioxidante și servește drept catalizator pentru producerea hormonului tiroidian activ. Seleniul este necesar pentru buna funcționare a sistemului imunitar și pare a fi un nutrient esențial în contracararea dezvoltării virulenței și inhibarea progresării HIV la SIDA. O atenție deosebită este acordată glutatión-peroxidazelor (GPx; EC)- selenoproteine care catalizează conversia H₂O₂, la H₂O și O₂ molecular, folosind glutatiónul drept cosubstrat [2]. Acest proces reduce stresul oxidativ, o cauză a îmbătrânirii premature și a maladiilor cronice.

Studiile epidemiologice la scară largă au demonstrat în mod repetat că populațiile cu un nivel scăzut de seleniu sunt supuse la un risc crescut de a dezvolta în mod semnificativ mai multe tipuri de cancer [3-6]. Aceste studii confirmă că seleniul dietetic adecvat exercită efecte preventive asupra prostatei și a cancerului colorectal, două dintre cele mai frecvente tipuri de cancer [7,8]. Mai multe studii au demonstrat că nivelul

scăzut de seleniu în sânge, păr sau unghii este asociat cu o creștere a riscului de boli canceroase. Insuficiența seleniului duce la sporirea riscului de cancer la glanda tiroidă, vezica urinară, plămâni, stomac, esofag, ficat și alte organe [9,10].

Încă din 1996, suplimentarea nutrițională cu seleniu a demonstrat o reducere a ratelor globale de cancer cu diminuări specifice ale cazurilor de afecțiuni cu cancer colorectal, de plămâni și de prostată. Noi studii clinice efectuate mai recent au demonstrat că suplimentarea cu seleniu diminuează riscul îmbolnăvirii cu diverse tipuri de cancer [11].

Utilizarea spirulinei ca sursă de antioxidanți, inclusiv seleniu și ficobiliproteine, pune în fața cercetătorilor problema obținerii biomasei îmbogățite cu aceste substanțe bioactive. Astfel, **scopul** cercetării constă în studierea influenței seleniului de fier și a regimului de iluminare asupra conținutului de ficobiliproteine, seleniu și fier în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*.

Material și metode

Obiectul de studiu l-a constituit tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-11-(CYANOPHYTA) depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene a IMB al AȘM. Pentru cultivarea spirulinei a fost utilizat mediul nutritiv mineral SP-1 cu o compoziție echilibrată a macro- și micronutrienților necesari creșterii și dezvoltării spirulinei [12,13]. Cultivarea s-a efectuat în baloane Erlenmeyer a câte 100 ml cu 50 ml suspensie de spirulină, timp de 216 ore la iluminarea 3500 lx pentru prima variantă și 5500 lx pentru varianta a doua.

Seleniul de fier a fost suplimentat la mediul de cultivare a spirulinei în prima zi de cultivare în concentrații de 15-45 mg/l.

Productivitatea spirulinei a fost determinată conform metodei descrise în [12,13].

Determinarea ficobiliproteinelor. Suspensia de biomasă a fost supusă congelării/decongelării repetate până la apariția colorației albastru-intens. La 1 volum de suspensie spirulină (20 mg/ml) s-a adăugat apă bidistilată (4 volume) și, după agitare la 4°C în decurs de 30 min., proba a fost supusă centrifugării la 6000 rpm. După extracție volumul fiecărei probe a fost măsurat. Probele de extract au fost diluate și s-a măsurat absorbanta la 620, 650 și 280 nm. Calculele s-au efectuat conform ecuațiilor elaborate de Bennet și Bogorad [14].

Mineralizarea acidă a probelor pentru determinarea Fe și Se s-a efectuat prin adăugarea de HClO₄ și HNO₃ în proporții de 2/1(V/V).

Obținerea biomasei de spirulină îmbogățită cu ficobiliproteine, seleniu și fier. Seleniul de Fe(III) a fost suplimentat porționat la suspensia de spirulină în primele 3 zile de cultivare, în concentrații de 15, 30 și 45 mg/l. Fe₂Se₃O₉·6H₂O a fost obținut conform metodei elaborate de Șova S și al. [15]. Biomasă a fost separată de lichidul cultural prin filtrare, spălată cu soluție de 1,5% acetat de amoniu și cu apă bidistilată, apoi a fost suspendată în apă distilată (20 mg/ml) și supusă congelării.

Conținutul de seleniu în biomasa de spirulină a fost determinat prin metoda de spectrometrie de absorbție atomică cu atomizare termică.

Determinarea fierului în biomasă a fost efectuată prin metoda colorimetrică bazată pe reacția Fe(III) cu rodanura de potasiu [16].

Analiza statistică a valorilor obținute în trei serii de determinări ale productivității, conținutului de fier și seleniu a fost realizată prin metodele propuse de Maximov și Dospehov [17,18].

Rezultate și discuții

Utilizarea cianobacteriei *S. platensis* ca matrice pentru producerea produselor selenocomponente a fost demonstrată experimental de cercetările efectuate anterior [19,20]. Alte studii au demonstrat de asemenea eficacitatea utilizării Na₂SeO₃ în calitate de sursă de îmbogățire cu seleniu a cianobacteriei *Spirulina platensis* la cultivarea ei mixotrofă cu acetat de sodiu și glucoză [21,22]. A fost demonstrat de asemenea că seleniul anorganic de sodiu poate fi transformat de către *S. platensis* în formă organică, prin legarea acestuia cu proteine, lipide, polizaharide, precum și cu alte componente celulare [23].

Este cunoscut și un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* îmbogățite cu seleniu, precum și propusă schema de purificare a Se-ficocianinei [24]. Dezavantajul procedurii constă în utilizarea unor cantități foarte înalte de selenit de sodiu (450 mg/l), adăugate porționat în zilele a 7-a, a 8-a și a 9-a în cantități de 100, 150 și 200 mg/l, respectiv, ceea ce influențează negativ asupra creșterii celulelor și productivității spirulinei, deoarece are loc acumularea unei cantități esențiale de seleniu anorganic în biomasă,

care este toxic pentru organismul uman. Concomitent, în prezența unui surplus de selenit are loc reducerea seleniului(IV) în Se^0 și acumularea lui atât în lichidul cultural, cât și adsorbția lui pe suprafața celulelor [25,26].

Cercetările noastre anterioare au demonstrat posibilitatea utilizării $Fe_2S_3O_9 \cdot 6H_2O$ în concentrații de 15-30 mg/l pentru obținerea biomasei îmbogățite cu seleniu și fier [15], a altor compuși ai seleniului care au manifestat efect pozitiv asupra acumulării ficobiliproteinelor [27], precum și a seleniului în biomasă [28].

A prezentat interes studiul influenței compusului $Fe_2S_3O_9 \cdot 6H_2O$ în concentrații mai majorate (până la 45 mg/l) și a intensității de iluminare asupra productivității spirulinei și acumulării ficobiliproteinelor, seleniului și fierului în biomasa de *S. platensis*. Analizând rezultatele obținute, s-a observat că intensitatea luminii reprezintă un factor important în acumularea biomasei de spirulină, cultivată atât în lipsa seleniului de fier, cât și în prezența lui. Astfel, productivitatea probei fără adaos de selenit cultivată la iluminare intensă este cu 28,58% mai înaltă, comparativ cu proba de referință cultivată la 3500 lx (Fig.1).

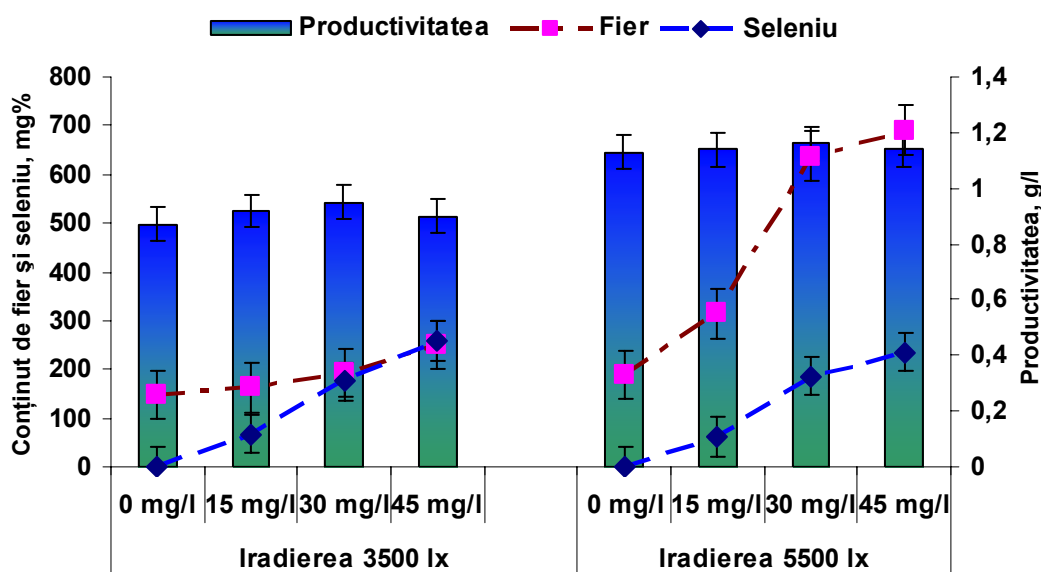


Fig.1. Productivitatea, conținutul de fier și seleniu în biomasa spirulinei la cultivare în prezența selenitului de fier.

La cultivare în prezența $Fe_2Se_3O_9 \cdot 6H_2O$ productivitatea capătă valori de 1,22-1,28 ori mai înalte la iluminarea intensă (5500 lx) față de iluminarea normală (3500 lx) (Fig.1). Totuși, la 5500 lx suplimentarea seleniului de fier în concentrații de 15-45 mg/l manifestă un efect stimulator nesemnificativ asupra productivității, observându-se doar un spor ușor al valorilor față de proba fără adaos de seleniu.

În ce privește acumularea fierului în biomasa de spirulină, se poate afirma că conținutul de fier variază în dependență de regimul de iluminare și de concentrația seleniului de fier administrat în mediul de cultivare. Conținutul de fier acumulat în biomasă se majorează concomitent cu creșterea concentrației seleniului de fier administrat în mediul de cultivare, pentru toate cazurile studiate la 3500 lx și 5500 lx (Fig.1,2). Astfel, asupra conținutului de fier influențează semnificativ intensitatea de iluminare, deoarece la administrarea compusului în concentrație maximă (45 mg/l) în regim de iluminare de 5500 lx conținutul de fier este de 2,77 ori mai înalt decât în proba obținută la cultivare la iluminarea de 3500 lx. Conținutul maxim de fier se acumulează în biomasa cultivată la iluminare intensă, la suplimentarea seleniului de fier în concentrație maximă (45 mg/l), valorile cantitative întrecând de 3,64 ori valoarea matorului, ceea ce constituie 690 mg% din biomasă.

Pigmenții ficobilinici, caracteristici cianobacteriilor, au funcția de antene secundare pentru captarea energiei luminii și de protecție antioxidantă a celulelor. În Figura 3 sunt prezentate datele cu referire la suma ficobiliproteinelor în componența biomasei de spirulină cultivată în prezența seleniului de fier cu aplicarea celor două regimuri de iluminare.

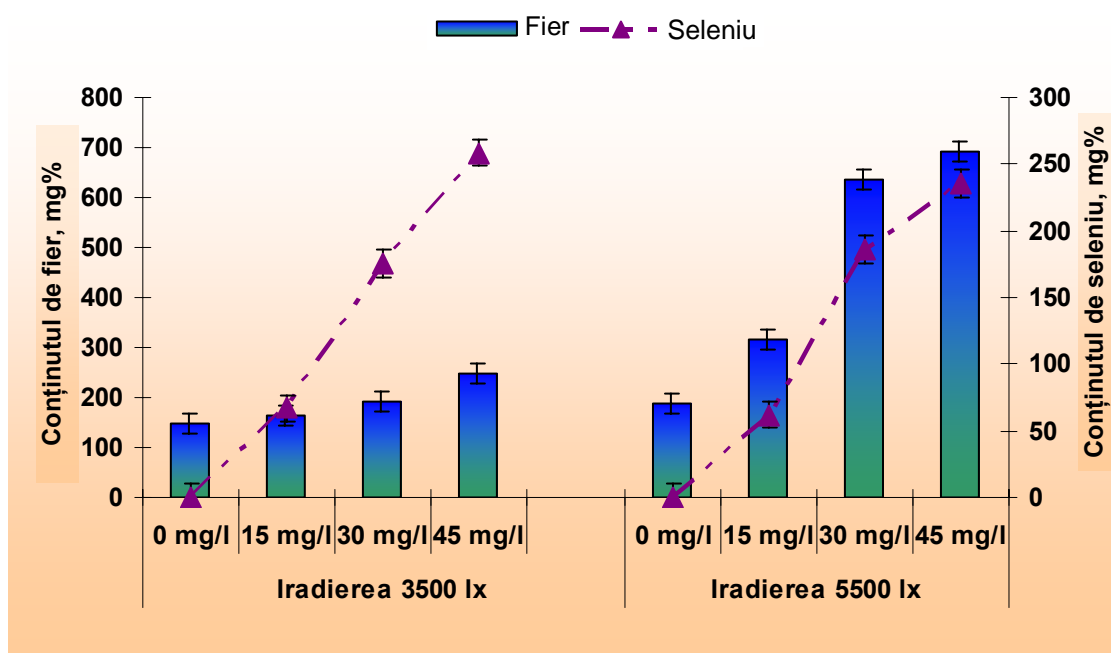


Fig.2. Conținutul de fier și seleniu în biomasa spirulinei la cultivare în prezența selenitului de fier.

După cum demonstrează rezultatele obținute, deși iluminarea intensă a sporit productivitatea spirulinei, asupra sintezei ficobiliproteinelor se observă un efect moderat al regimului de iluminare. La utilizarea aceluiași concentrații de selenit de fier valorile cantitative înregistrate erau de 1,13-1,32 ori mai mici la cultivare în regim de iluminare intensă, comparativ cu cele determinate la cultivare în regim de iluminare de 3500 lx (Fig.3). Administrarea selenitului de fier în concentrații de 15-45 mg/l la 3500 lx manifestă un efect moderat asupra sintezei ficobiliproteinelor, valorile cantitative fiind cu 2,27-9,44% mai diminuate față de proba de referință (fără adaos de selenit). Rezultatele investigațiilor efectuate asupra capacității spirulinei de a acumula seleniu la cultivare în prezența selenitului de fier au permis a constata faptul că în ambele cazuri spirulina acumulează seleniu cu creșterea concentrației selenitului de Fe(III) și nu se observă variații esențiale ale productivității. La suplimentarea a 45 mg/l de selenit de fier și iluminarea 5500 lx a fost detectat conținutul maxim de Fe în biomasă – 690,73 mg%, comparativ cu 249,2 mg% la 3500 lx, iar conținutul de seleniu a înregistrat valori egale cu 235,38 și 258,27 mg%, respectiv.

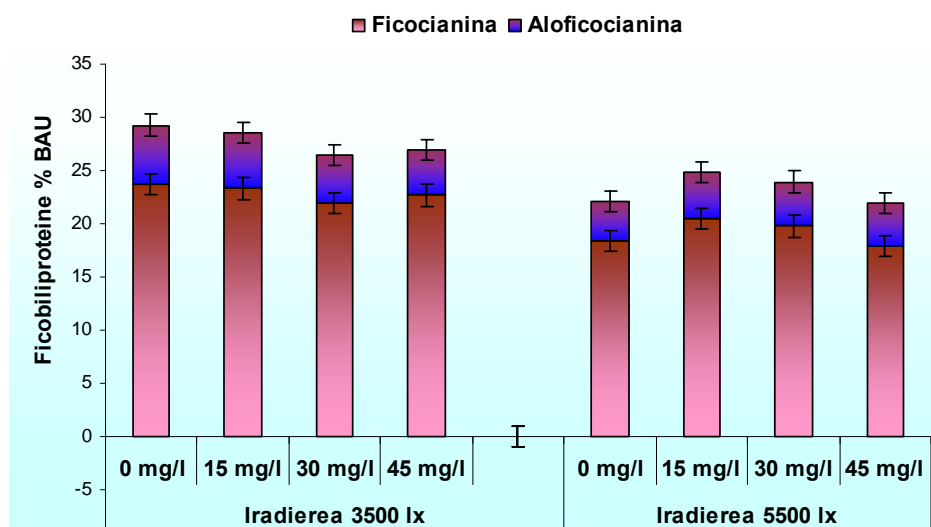


Fig.3. Conținutul de Se-ficobiliproteine în biomasa spirulinei la cultivare în prezența selenitului de fier.

A fost analizat conținutul de seleniu atât în biomasa de spirulină, cât și în extractul sumar de ficobiliproteine pentru a selecta variantele cu conținut maxim (a se vedea Tabelul). Spre deosebire de acumularea fierului în biomasă, regimul de iluminare mai intens nu manifestă efect stimulator asupra acumulării seleniului în fracția de ficobiliproteine, astfel încât valori cantitative mai înalte ale seleniului de 1,4-1,5 ori se obțin la cultivare la iluminarea de 3500 lx.

Conform rezultatelor obținute, se observă că conținutul de seleniu determinat în biomasa de spirulină și în extractul sumar de ficobiliproteine crește odată cu creșterea concentrației selenitului de fier administrat la mediul de cultivare.

Tabel

Conținutul de seleniu în biomasa de spirulină și în extractul sumar de ficobiliproteine

| Intensitatea iluminării | Concentrația $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, mg/l | Biomasa analizată, mg | Se în biomasă, | | Ficobiliproteine, mg | Se în extract sumar de ficobiliproteine | |
|-------------------------|--|-----------------------|----------------|---------|----------------------|---|--------------|
| | | | mcg/L | mg/kg | | mcg/l | Mg/kg |
| Iluminare 3500 lx | 15 | 11,6 | 1552,30 | 883,66 | 6,8 | 85,43 | 6,28 |
| | 30 | 12,35 | 4330,95 | 1753,42 | 6,5 | 161,03 | 12,39 |
| | 45 | 11,40 | 5888,40 | 2582,63 | 6,08 | 168,42 | 13,85 |
| Iluminare 5500 lx | 15 | 15,50 | 1918,95 | 619,02 | 7,86 | 67,29 | 4,28 |
| | 30 | 18,65 | 6933,20 | 1858,77 | 8,1 | 143,13 | 8,84 |
| | 45 | 18,50 | 8709,0 | 2353,78 | 8,62 | 152,25 | 8,83 |

Un conținut de seleniu în limitele de 0,628–1,385 mg% de seleniu se obține în extractul sumar de ficobiliproteine, rezultat la cultivare în regim de iluminare 3500 lx, iar la 5500 lx – un conținut de la 0,43 până la 0,88 mg% Se. Acumularea seleniului în fracția de proteine a fost constatată și de alți autori, inclusiv în fracția de ficobiliproteine [23,24].

Astfel, putem constata că regimul de iluminare de 3500 lx este mai favorabil pentru acumularea Se în ficobiliproteine, precum și pentru acumularea ficobiliproteinelor în biomasă.

Concentrațiile selenitului de fier utilizate în prezentul studiu nu au indus modificări vizuale asupra stării și aspectului culturii de spirulină, ceea ce ne permite să considerăm că administrarea concentrațiilor de până la 45 mg/l nu manifestă toxicitate, fapt demonstrat și prin menținerea unor valori înalte ale productivității spirulinei. Nu se vizualizează nici formarea precipitatului de Se° , fenomen observat de alți autori. Utilizarea unor concentrații mai înalte se prezintă a fi irațională, întrucât cercetările anterioare efectuate de unii cercetători au demonstrat că la un surplus de Na_2SeO_3 (100-170 mg/l) s-a observat formarea unui precipitat roșu la începutul fazei liniare, iar celulele cianobacteriene au dobândit o tentă roșietică. Acest lucru a fost legat de apariția Se° în mediu și pe suprafața celulelor, ca urmare a reducerii selenitului de sodiu. Fenomenul respectiv este considerat un mecanism de adaptare a celulelor într-un mediu la concentrații ridicate de seleniu prin transformarea seleniului în formă insolubilă, și anume – Se° . Seleniul elementar poate fi depus în celule ca granule și/sau absorbite de peptidoglicanii din componența pereților celulari [25].

Concluzii

1. Intensitatea luminii reprezintă un factor important în acumularea biomasei de spirulină. Astfel, productivitatea atestă valori de 1,22-1,28 ori mai sporite la iluminare mai intensă (5500lx), comparativ cu cele obținute la iluminarea de 3500 lx. Conținutul de ficobiliproteine în biomasă la cultivarea spirulinei în regim de iluminare 3500 lx cu și fără adaos de selenit de fier(III) este mai înalt cu 12-24%, comparativ cu cel stabilit în biomasa cultivată la 5500 lx.
2. S-a stabilit că acumularea fierului în biomasa de spirulină este mai semnificativă la iluminare mai intensă – 5500 lx, iar procesul de acumulare a seleniului are tendința de a diminua la majorarea intensității de iluminare. La suplimentarea a 45 mg/l de selenit de fier și iluminarea 5500 lx a fost detectat conținutul maxim de Fe în biomasă – 690,73 mg%, comparativ cu 249,2 mg% la 3500 lx, iar conținutul de seleniu a înregistrat valori egale cu 235,38 și 258,27 mg%, respectiv.
3. Conținutul de seleniu acumulat în fracția de ficobiliproteine crește cu majorarea concentrației selenitului de fier, atestând valori maxime la concentrația acestuia de 45 mg/l la ambele regimuri de iluminare.

La 3500 lx conținutul de seleniu în extractul sumar de ficobiliproteine este de 1,4-1,5 ori mai înalt, comparativ cu cel obținut din spirulina cultivată la 5500 lx. Administrarea selenitului de fier în concentrații de 15-30 mg/l și aplicarea regimului de iluminare 5500 lx sporesc cu 9-12% conținutul de Se-ficobiliproteine în biomasa de spirulină față de proba martor.

Referințe:

1. ERIKSEN, N.T. Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, vol.80, p.1-14.
2. BECKETT, G., ARTHUR, J. – Selenium and endocrine systems. In: *Endocrinol.*, 2005, vol.184, p.455-465.
3. BHATTACHARYA, A., TUROWSKI, S.G., SAN MARTIN, I.D. et al. Magnetic resonance and fluorescence-protein imaging of the anti-angiogenic and anti-tumor efficacy of in an orthotopic selenium model of human colon cancer. In: *Anticancer Res.*, 2011, vol.31, no.2, p.387-393.
4. BROZMANOVA, J. Selenium and cancer: from prevention to treatment. In: *Klin Onkol.*, 2011, vol.24, no.3, p.171-179.
5. CLARK, L.C, COMBS, G.F., TURNBULL, B.W. et al. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. In: *JAMA*, 1996, vol.276, no.24, p.1957-1963.
6. KLEIN, E.A., THOMPSON, I.M.Jr., TANGEN, C.M., et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). In: *JAMA*, 2011, vol.306, no.14, p.1549-1556.
7. LEE, E.H., MYUNG, S.K., JEON, Y.J., et al. Effects of selenium supplements on cancer prevention: Meta-analysis of randomized controlled trials. In: *Nutr. Cancer*, 2011, vol.63, p.1185-1195.
8. PETERS, U., TAKATA, Y. Selenium and the prevention of prostate and colorectal cancer. In: *Mol. Nutr. Food Res.*, 2008, vol.52, no.11, p.1261-1272.
9. NAITHANI, R. Organo selenium compounds in cancer chemoprevention. In: *Mini Rev. Med. Chem.*, 2008, vol.8, no.7, p.657-668.
10. MARK, S.D., QIAO, Y.L., DAWSEY, S.M. et al. Prospective study of serum selenium levels and incident esophageal and gastric cancers. In: *J. Natl. Cancer Inst.*, 2000, vol.92, no.21, p.1753-1763.
11. RAYMAN, M.P. Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. In: *Proc. Nutr. Soc.*, 2005, vol.64, no.4, p.527-542.
12. RUDIC, V. *Aspecte noi ale biotehnologiei moderne*. Chișinău: Știința, 1993. 140 p.
13. RUDIC, V. și al. *Metode de investigație în ficobiotehnologie*. Chișinău: CE USM, 2002.
14. BENNETT, A., BOGORAD, L. Complementary chromatic adaption in a filamentous blue-green alga. In: *Cell. Biology.*, 1973, vol.58, p.419-435.
15. ȘOVA, S., RUDIC, V., BULIMAGA, V., DJUR, S. *Procedeu de obținere a selenitului de fier Fe₂Se₃O₉·6H₂O și procedeu de cultivare a cianobacteriei Spirulina platensis cu utilizarea acestui compus ca sursă de seleniu și fier*. Brevet de invenție MD 4123. 2011-07-31.
16. ФИЛИППОВИЧ, Ю., ЕГОРОВА, Т., СЕВАСТЬЯНОВА, Г. *Практикум по общей биохимии*. Москва: Просвещение, 1982, с.284-286.
17. ДОСПЕХОВ, Б. *Методика полевого опыта*. Москва: Агропромиздат, 1985. 351 с.
18. МАКСИМОВ, В. *Многофакторный эксперимент в биологии*. Москва: МГУ, 1980. 280 с.
19. TAMBIEV, A.Kh., KIRIKOVA, N.N., MAZO, V.K., and SKAL'NYI, A.V. *Method for Production of Selenium-Containing Preparation from Spirulina Biomass*, Patent RF 2096037, class A 61 K 33/04, 1998.
20. MOSULISHVILI, M., KIRKESALI, E.I., BELOKOBYSKY, A.I. et al. Experimental substantiation of the possibility of developing selenium- and iodine-containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis*. In: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002, vol.30, no.1, p.87-97.
21. CHEN, T., ZHENG, W., WONG, Y.S., YANG, F., BAI, Y. Mixotrophic culture of high selenium-enriched *Spirulina platensis* on acetate and the enhanced production of photosynthetic pigments. In: *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, vol.39, no.1, p.103-107.
22. CHEN, T., ZHENG, W., WONG, Y.S., YANG, F., BAI, Y. Accumulation of selenium in mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose. In: *Bioresour. Technol.*, 2006, vol.97, no.18, p.2260-2265.
23. HUANG, Z., ZHENG, W.J., YANG, F., GUO, B.J. Chemical composition and selenium distribution in selenium enriched *Spirulina platensis* biomass. In: *Chemistry of Natural Compounds*, 2006, vol.42, no.6, p.636-640.
24. CHEN, T., WONG, Y.S, ZHENG, W. Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. In: *Phytochemistry*, 2006, vol.67, no.22, p.2424-2430.
25. PRONINA, N.A., KOVSHOVA, Yu.I., POPOVA, V.V. et al. The Effect of Selenite Ions on Growth and Selenium Accumulation in *Spirulina platensis*. In: *Russian Journal of Plant Physiology*, 2002, vol.49, Issue 2, p.235-241.

26. LI, Z.Y., GUO, S.Y., LI, L. Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation. In: *Bioresour. Technol.*, 2003, vol.89, no.2, p.171-176.
27. RUDIC, V., BULIMAGA, V., GULEA, A. și al. Productivitatea și componența biochimică a cianobacteriei *Spirulina platensis* la cultivare în prezența unor compuși ai seleniului (IV). In: *Analele Științifice ale USM. Seria „Științe chimico-biologice”*, 2002, p.165-167.
28. RUDIC, V. et al. *Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice*. Chișinău: Elena V.I., 2007. 364 p.

Notă: Lucrarea a fost elaborată în cadrul Proiectului instituțional 15.817.05.02F finanțat de către CSȘDT al AȘM.

Prezentat la 07.07.2016

CZU: 577.11: 581.19 : 581.48

PROTEOLIZA LIMITATĂ A ALERGENULUI ARA H1, GLOBULINA DE REZERVĂ 7S DIN SEMINȚELE DE ARAHIDE

*Ala CHERDIVARĂ, Angela RUDAKOVA,
Serghei RUDAKOV, Andrei ȘUTOV*

Universitatea de Stat din Moldova

Este descris un scenariu ipotetic al proteolizei limitate cu papaină a globulinei de rezervă 7S, Ara h1, cel mai puternic alergen din semințele de arahide. Scenariul se bazează pe rezultatele electroforezei produselor proteolizei cu masa moleculară mare, precum și pe informațiile disponibile cu privire la prezența în subunitățile Ara h1 a regiunilor nestructurate, potențial sensibile la atacul proteolitic. S-a constatat că proteoliza limitată inițială a Ara h1 duce la scindarea regiunii N-terminale nestructurate a subunității, care conține o treime din numărul total de determinanți antigenici (epitopii IgE), identificați în Ara h1. Evident, regiunea N-terminală, bogată în resturi de arginină, care corespund specificității de substrat a papainei, este complet scindată în timpul proteolizei. Astfel, nivelul de alergenicitate al Ara h1 poate fi redus prin proteoliza sa limitată.

Cuvinte-cheie: globuline de rezervă 7S din semințe, alergeni, epitopi IgE, arahide.

LIMITED PROTEOLYSIS OF ALLERGEN ARA H1, STORAGE 7S GLOBULIN FROM PEANUT SEEDS

A hypothetical scenario of papain limited proteolysis of storage 7S globulin Ara h1, the strongest allergen from peanut seeds, is described. The scenario is based on the results of electrophoresis of proteolysis of high-molecular-mass products as well as on the available information on the presence of disordered regions potentially susceptible to proteolytic attack in the Ara h1 subunits. It was demonstrated that the initial Ara h1 limited proteolysis leads to the detachment of the subunit N-terminal disordered region containing one third of the total number of antigen determinants (IgE epitopes) identified in the Ara h1. Obviously, the N-terminal region teeming with arginine residues, which correspond to papain specificity, is completely destroyed during proteolysis. Thus, the level of Ara h1 allergenicity can be decreased via limited proteolysis.

Keywords: seed storage 7S globulins, allergens, IgE epitopes, peanut.

Introducere

Printre proteinele din semințe cea mai mare alergenicitate manifestă globulina de rezervă 7S (alergenul 7S), Ara h1, din arahide [1], în secvența aminoacidă a căreia au fost identificați numeroși determinanți antigenici (epitopi IgE) [2]. Dovezile indirecte au sugerat că proteoliza limitată poate duce la reducerea parțială a alergenității Ara h1 prin eliminarea din molecula ei a regiunilor care conțin epitopii IgE [3].

Până în prezent, s-a acumulat o mare cantitate de material despre legăturile definite structural de proteoliza limitată a globulinelor 7S și 11S [4], care aparțin la două familii conservative de proteine de rezervă din semințe [5]. Subunitățile, constituite din două domenii ale globulinelor oligomere 7S și 11S, care derivă dintr-un precursor bacterian comun [6], sunt omoloage și structural echivalente. Domeniile în subunitățile globulinelor 7S și 11S formează β -barrelul, constituit din β -streduri antiparalele, unit cu un grup de α -helixuri [7]. În timpul evoluției globulinelor de rezervă din semințe, în structurile domeniilor au apărut inserții extinse hidrofiele, care formează la suprafața moleculei zone sensibile la atacul proteolitic [4,8]. Proteoliza limitată a acestor regiuni, în cazul în care conțin epitopi IgE, poate duce la reducerea alergenității globulinelor de rezervă. Astfel, în timpul proteolizei limitate a globulinei 11S din soia se distruge regiunea extinsă C-terminală a domeniului N-terminal [9], care conține unii dintre epitopii IgE identificați în alergenii 11S din soia Gly m G1 și Gly m G2 [10,11].

În această lucrare, pe baza analizei legăturilor definite structural de proteoliză limitată a alergenului 7S, Ara h1, din arahide cu papaină se estimează posibilitățile potențiale ale reducerii alergenității sale.

Material și metode

Pentru izolarea alergenului 7S, Ara h1, faina degresată din cotiledoanele arahidelor (*Arachis hypogaea* L.) a fost extrasă cu soluție tampon A (0,05 M Tris-HCl, pH 8,0, 0,02% NaN₃, 1 mM EDTA). Ara h1 din extract a fost precipitat cu sulfat de amoniu (fracția 70-100% de saturație). Precipitatul a fost dizolvat în 3,0 M NaCl

în soluția tampon A și apoi a fost introdus într-o coloană (2,6 x 9 cm) fenil-Sepharose CL-4B (Pharmacia Biotech), echilibrată cu 3,0 M NaCl în soluția tampon A. După îndepărtarea fracției neadsorbite, Ara h1 a fost eluată cu 2 M NaCl în soluția tampon A.

Ara h1 a fost hidrolizată cu papaină (Sigma Life Science) la 30°C. Amestecul de reacție a conținut 5 mg/ml substrat și 50 μg/ml enzimă în soluția tampon B (0,05 M Tris-HCl pH 8,0, ajustat cu NaCl la puterea ionică 0,5, conținând 0,02% NaN₃). Reacția a fost stopată prin adăugarea acidului tricloracetic până la concentrația finală de 5%. În unele cazuri, reacția a fost stopată prin adăugarea E-64 (trans-epoxysuccinyl-L-leucylamido-(4-guanidino) butan, Sigma, Life Science) până la concentrația finală de 10 μM, și hidrolizatele au fost cercetate prin gelfiltrare pe Sephacryl S-300 High resolution (Pharmacia Biotech) în soluție tampon B (coloana 0,9 x 75 cm).

Proteina reziduală în hidrolizate a fost cercetată prin SDS-PAGE (DSS-electroforeză în gel de poliacrilamidă) într-un gel de 15%, în sistemul tampon Laemmli [12]. Am folosit markerii moleculari PageRuler, Thermo Scientific (Lituania). Electroforegramele au fost scanate (ImageScanner III, GE Healthcare) și analizate cu ajutorul programei Phoretix 1D Gel Analysis v.5.10.

Pentru a modela structura trimerului Ara h1 am folosit programa SWISS-Model [13,14] (pdb|3s7e ca matriță). Suprafața unui rest aminoacid din structura proteinei disponibilă la solvent (ASA), exprimată în Å², a fost determinată cu ajutorul programei <http://cib.ct.ocha.ac.jp/bitool/ASA/>. Valoarea relativă a ASA a fost exprimată în % din disponibilitatea restului X în tripeptida GXG. Programa DeepView/Swiss-PdbViewer v.3.7 a fost utilizată pentru construirea diagramelor panglică ale structurii terțiare a Ara h1 și pentru alinierea structurală a globulinelor 7S. Alinierea secvențelor complete ale globulinelor 7S a fost realizată folosind programa Clustal Omega.

Pentru identificarea punctelor de scindare probabile ale Ara h1 în timpul proteolizei am folosit rezultatele electroforezei (compoziția fragmentelor polipeptidice și masele lor moleculare aparente conform SDS-PAGE; transformarea consecutivă a fragmentelor mari în fragmente mai mici, identificate prin modificarea intensității benzilor corespunzătoare), precum și următoarea informație de mai jos.

1. Rezultatele comparării structurilor terțiare ale Ara h1 și altor globuline 7S, a căror proteoliză limitată este descrisă în [6], permit *a priori* determinarea poziției celor mai probabile zone de scindare ale Ara h1. O disponibilitate la solvent sporită a acestor zone, din structura Ara h1 și alte globuline 7S, poate fi considerată ca un indice al sensibilității lor potențiale la proteoliza limitată [4].

2. Punctele de clivare estimate în regiunile potențial sensibile ale moleculei Ara h1 trebuie să corespundă specificității primare de substrat a papainei (resturile Arg, Lys, Leu și Gly în poziția P1 în absența restului Val în poziția P1').

Există două variante ale subunităților Ara h1 din semințele de arahide (P43237 și P43238), ale căror molecule mature aproape nu se deosebesc una de alta după masa moleculară (respectiv, 61,6 și 62,0 kD) și similare după secvență (mai puțin de 3% din substituții neconservative și deleții). În această lucrare, pentru determinarea maselor moleculare ale fragmentelor am folosit secvența P43238, cea mai detaliat studiată variantă a Ara h1.

Rezultate și discuții

Cu câteva excepții, structura Ara h1 (pdb|3s7e [15] și pdb|3smh [16]) este tipică pentru globulinele de rezervă 7S din semințe, de tipul convicinelor, care conține în molecula matură prelungirea N-terminală nestructurată cu o sensibilitate crescută la atacul proteolitic [8]. În subunitatea α' a globulinei 7S din soia, similară după structura primară cu Ara h1, prelungirea N-terminală este cea mai sensibilă la proteoliza limitată cu tripsină și este complet eliminată deja în stadiile inițiale ale reacției după scindarea legăturilor peptidice cu participarea restului de arginină din regiunea C-terminală a acestei prelungiri [17]. În aceeași regiune structurală a Ara h1, restul Arg87 formează o legătură peptidică cu restul Asn88 (Fig.1), care are o disponibilitate sporită la solvent. În conformitate cu aceste observații, este probabil că acțiunea inițială a papainei asupra Ara h1 duce la scindarea legăturii Arg87-Asn88, eliminând complet prelungirea N-terminală.

Una dintre caracteristicile specifice ale Ara h1 este prezența în molecula sa nu doar a prelungirii N-terminale, ci și a prelungirii C-terminale nestructurate relativ extinse (regiunea e, Fig.1), în porțiunea N-terminală a căreia este prezent restul Arg502 cu o disponibilitate sporită la solvent. Prin urmare, legătura peptidică Arg502-Pro503 este potențial sensibilă la atacul papainei. Scindarea estimată a legăturilor Arg87-Asn88 și Arg502-Pro503, care elimină atât prelungirea N-terminală, cât și C-terminală, trebuie să fie însoțită de formarea fragmentului cu o masă moleculară de 47,2 kD (fragmentul I, Tab.1).

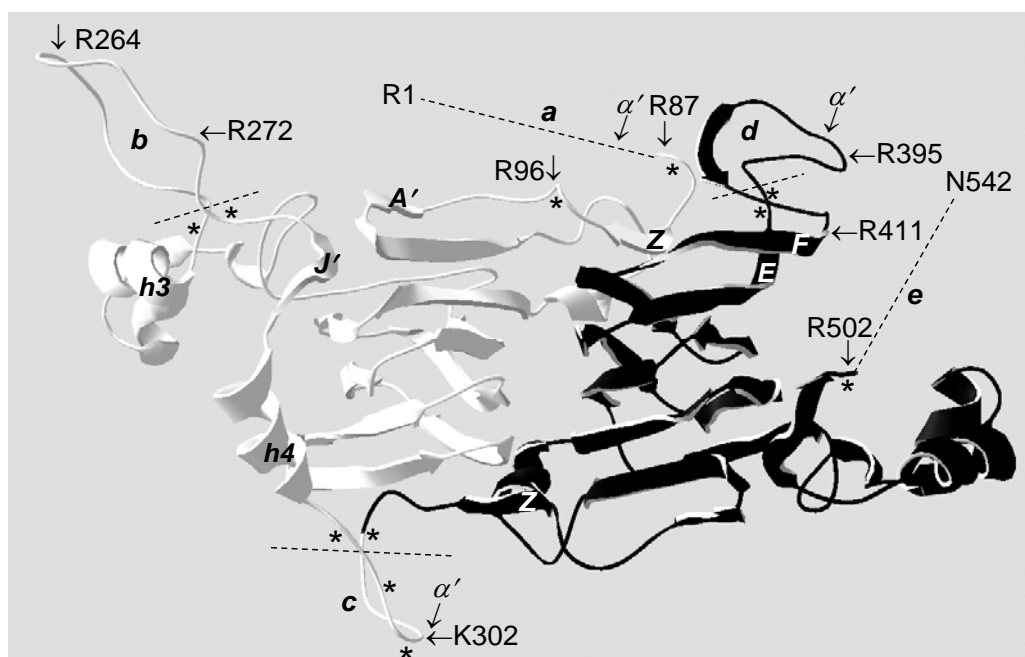


Fig.1. Diagrama panglică a modelului structurii terțiare a subunităților în trimerul alergenului 7S, Ara h1, din arahide. Partea întunecată (neagră) a diagramei corespunde domeniului C-terminal. Italic sunt marcate unele dintre structurile secundare ale domeniului. Liniile punctate arată regiunile nestructurate N-terminale (a) și C-terminale (e) ale subunităților, precum și limitează regiunile, care fie complet (regiunea b și d), fie parțial (regiunea c) nu se depistează în structurile cristaline pdb|3s7e și pdb|3smh. Asterixul indică poziția resturilor de aminoacizi cu o disponibilitate sporită (> 80%) la solvenți în structura cristalină a oligomerului pdb|3smh. Resturile de Arg și Lys în poziția P1 a legăturii peptidice, care probabil sunt scindate de papaină, sunt notate cu săgeți drepte. Săgeata oblică arată amplasarea legăturilor peptidice, a căror scindare în structura omoloagă a subunității α' a globulinei 7S din soia a fost stabilită experimental [17].

Tabelul 1

Legături peptidice scindate de papaină în subunitățile Ara h1

| Nr. | Regiunea de secvență | Masa moleculară, kD | |
|-----|----------------------|---------------------|----------|
| | | Prezisă | SDS-PAGE |
| 1 | <i>a-e</i> N88-r502 | 47,17 | 48,7* |
| 2 | <i>a-d</i> r54-r395 | 39,06 | 39,6 |
| 3 | <i>a-d</i> N88-r395 | 35,08 | 35,5 |
| 4 | <i>a-c</i> N88-k302 | 24,70 | 25,6 |
| 5 | <i>c-e</i> g303-r502 | 22,48 | 24,5* |
| 6 | <i>a-b</i> N88-r272 | 21,40 | 21,0 |
| 7 | <i>a-b</i> R97-r264 | 19,25 | 19,4 |
| 8 | <i>b-d</i> s273-r395 | 13,70 | 14,0 |
| 9 | <i>d-e</i> r396-r502 | 12,10 | 12,8* |
| 10 | <i>d-e</i> e412-r502 | 10,14 | 11,7* |
| 9a | <i>c-d</i> g303-r411 | 12,36 | 12,8 |

Notă. Literele mici arată resturile de aminoacizi, care aparțin regiunii nestructurate a cel puțin uneia dintre subunități. Numerotarea resturilor de aminoacizi corespunde moleculei mature a Ara h1 [18]. Asterixurile indică masele moleculare aparente, ceva mai mari datorită prezenței în fragment a restului de Asn437 glicozilat.

În timpul hidrolizei cu papaină cel mai mare dintre fragmentele Ara h1 (fragmentul 1 cu masa moleculară aparentă de 48,7 kD, Fig.2), care predomină cantitativ în etapele inițiale ale reacției, cu o probabilitate ridicată corespunde secvenței Asn88-Arg502 (Tab.1). Orice alte căi alternative de formare a fragmentului 1 cu masa moleculară de aproximativ 49 kD sunt practic imposibile, deoarece sunt asociate cu scindarea legăturilor

peptidice din regiunile structural organizate inaccesibile ale moleculei. De menționat că masa moleculară aparentă a fragmentului 1 este puțin exagerată din cauza că restul de Asn437 din regiunea C-terminală a Ara h1 este glicozilat. De exemplu, în produsele de proteoliză a subunității β a globulinei 7S din soia masa moleculară aparentă a fragmentelor, care conțin un rest de asparagină glicozilată, este mărită cu 1,9-2,0 kD [19].

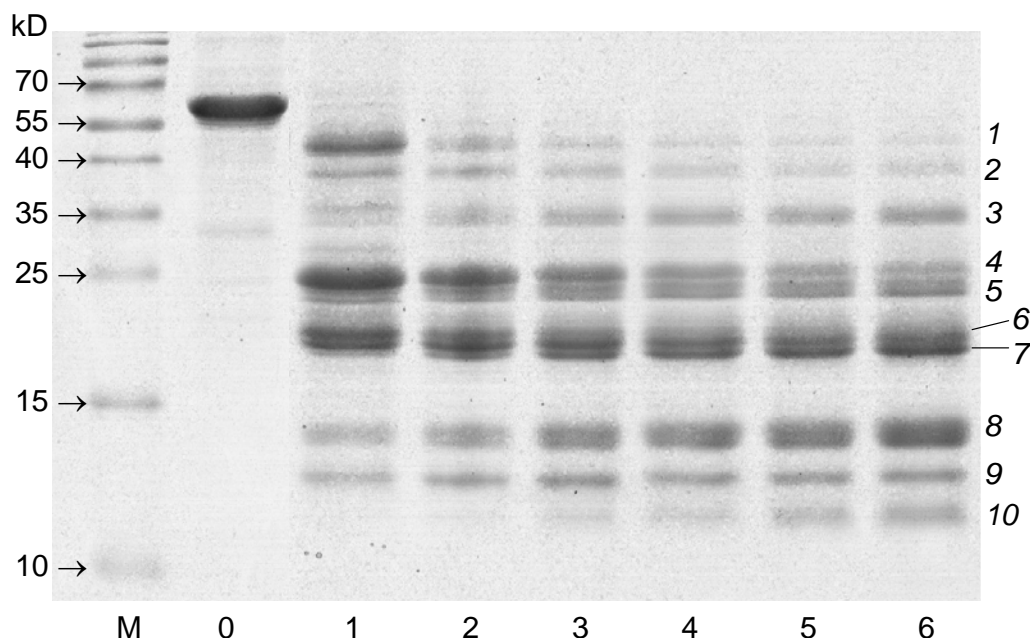


Fig.2. DSN-PAGE a alergenului 7S, Ara h1, în timpul hidrolizei cu papaină. Linia de jos arată timpul de reacție (h). Pe partea stângă sunt indicate masele moleculare ale markerilor. Pe dreapta este arătată numerotarea fragmentelor.

Potrivit gelfiltrării, toate aceste fragmente sunt prezente în fracția cu masa moleculară mare a hidrolizatelor.

Originea majorității celorlalte fragmente Ara h1 (Fig.2) poate fi descrisă cu o primă aproximare (Fig.3) reieșind din masele moleculare aparente obținute conform electroforezei (Tab.1) și din ipoteza formării lor în rezultatul scindării în regiunile nestructurate *a*, *b*, *d* și *e* (Fig.1), regiuni potențial sensibile la proteoliză. Fragmentul 2 este format în paralel cu fragmentul 1 în rezultatul clivării în regiunea *d* și îndepărtării inițiale incomplete a regiunii N-terminale a prelungirii *a*. Fragmentul 3 este format din fragmentul 1 (clivarea aceleiași regiuni *d*) și din fragmentul 2 după înlăturarea restului prelungirii N-terminale *a*. Fragmentele 6 și 8 sunt formate din fragmentul 3 în rezultatul scindării în regiunea *b*. Fragmentul 7 este format din fragmentul 6 în legătură cu scurtarea N-terminală și C-terminală. În final, fragmentul 10 este format din fragmentul 9 datorită scurtării N-terminale.

Calea ipotetică de formare a fragmentelor de mai sus este descrisă în concordanță cu prezenta în sectoarele presupuse de scindare a resturilor de aminoacizi cu o disponibilitate sporită la solvent (Fig.1).

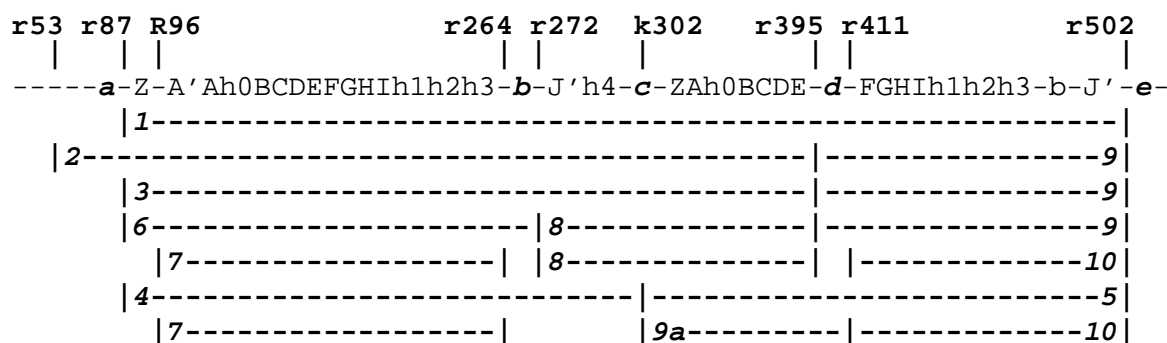


Fig.3. Schema ipotetică de formare a fragmentelor Ara h1 în timpul hidrolizei cu papaină. Linia de sus arată structurile secundare în secvențele subunităților.

Lungimea regiunii *b*, potențial sensibilă la proteoliză, în domeniul N-terminal a Ara h1, reprezintă încă una dintre particularitățile sale individuale, care și determină modul de formare a fragmentelor polipeptidice 6, 7 și 8 descrise mai sus. Astfel, în subunitățile globulinei 7S din soia regiunea corespunzătoare este relativ scurtă și insensibilă la acțiunea papainei și tripsinei. Prin urmare, proteoliza în partea centrală a subunităților α' și β ale globulinei 7S din soia se limitează la scindarea linkerului interdomenic [17, 19] (corespunzând regiunii *c* din subunitățile Ara h1).

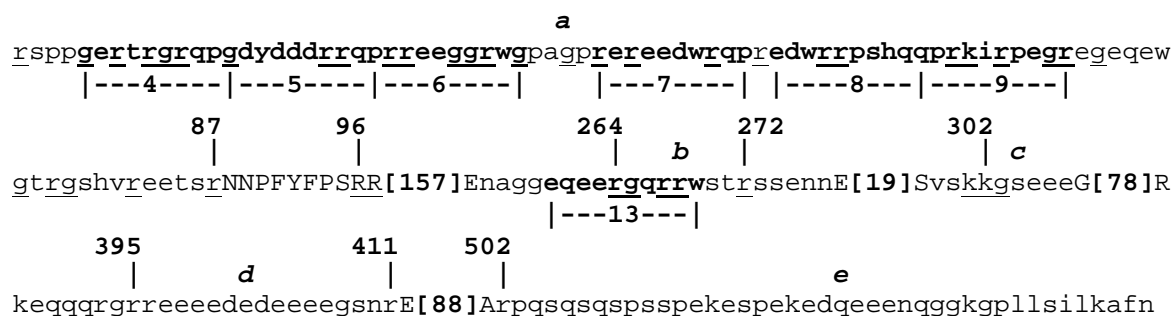


Fig.4. Secvențele de aminoacizi ale regiunilor *a-e*, care sunt nestructurate în cel puțin una dintre subunitățile Ara h1 (prezentate cu litere mici), și epitopii 4-9 și 13 identificați în ele. În paranteze pătrate este indicat numărul de resturi în zonele structurate ale Ara h1. Resturile ce corespund specificității primare de substrat a papainei sunt subliniate.

În structura Ara h1 în regiunea *c* sunt prezente resturi de aminoacizi cu o disponibilitate sporită la solvent (Fig.1). Prin urmare, este posibil că fragmentele 4 și 5 nementionate anterior sunt formate din fragmentul 1, după clivarea legăturii Lys302-Gly303 din partea centrală a regiunii *c*. Evident că fragmentele 4 și 5 (ca și fragmentul 1) sunt intermediare, deoarece secvențele lor conțin regiunile sensibile *b* și *d*, respectiv. Clivajul în aceste zone poate duce la apariția unor cantități suplimentare ale fragmentelor finale 7 și 10 și la apariția fragmentului 9a (Fig. 3), similar după mobilitate cu fragmentul 9 (Tab.1).

Se pare că există două căi independente de proteoliză a Ara h1, datorită clivajului preferențial în etapele inițiale ale procesului de una dintre cele două regiuni nestructurate (regiunea *b* sau regiunea *c*) potențial sensibile la atacul proteolitic. Ar trebui menționat faptul că în oligomerul pdb|3smh disponibilitatea la solvent a acestor zone într-o varietate de subunități nu este aceeași. În plus, regiunea *c* poate fi considerată nestructurată condițional, deoarece oricare dintre resturile de aminoacizi ale acestei regiuni sunt depistate în componența structurii cristaline a unei sau altei subunități pdb|3smh. Astfel, disponibilitatea potențială la atacul proteolitic a regiunilor *b* și *c* în diferite subunități ale oligomerului Ara h1 poate fi inegală, ceea ce determină un mod particular de proteoliză a acestora.

Concluzii

Pe baza scenariului ipotetic descris mai sus (Fig.3) și poziției epitopilor IgE identificați în subunitățile Ara h1 [2] poate fi evaluat potențialul de a reduce alergenicitatea acestei proteine prin proteoliza sa limitată cu papaină. Epitopii 1-3 aparțin regiunii N-terminale a subunității Ara h1, eliminate în timpul procesingului proteolitic [18]. A treia parte a celor 18 epitopii rămași în molecula matură a Ara h1 (epitopii 4-9, Fig.4) aparțin regiunii N-terminale nestructurate *a* și sunt eliminați la acțiunea inițială a papainei. Această zonă este bogată în resturi de arginină și aparent este distrusă rapid cu formarea peptidelor scurte, ceea ce ar trebui să reducă alergenicitatea Ara h1. Este probabilă, de asemenea, distrugerea în timpul proteolizei limitate cu papaină a regiunii nestructurate *b*, care conține epitopul 13.

Referințe:

1. PELE, M. Peanut allergens. In: *Romanian Biothechnol. Lett.*, 2010, vol.15, no.2, p.5204-5212. ISSN 1224-5984
2. SHIN, D.S., COMPADRE, C.M., MALEKI, S.J., KOPPER, R.A., SAMPSON, H., HUANG, S.K., BURKS, A.W., BANNON, G.A. Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h 1, an abundant and highly allergenic peanut protein. In: *J. Biol. Chem.*, 1998, vol.273, p.13753-13759. ISSN 0021-9258
3. WILSON, K.A., TAN-WILSON, A. Proteolysis of the peanut allergen Ara h 1 by an endogenous aspartic proteinase. In: *Plant Physiol. Biochem.*, 2015, vol.96, p.301-310. ISSN 0981-9428

4. SHUTOV, A.D., WILSON, K.A. Seed storage globulins: their descent from bacterial ancestors and mechanisms of degradation. In: Milford, S.D., ed. *Globulins: Biochemistry, Production and Role in Immunity*. New York: Nova Science Publishers, 2014, p.71-104. ISBN 978-1-63117-781-1
5. CASEY, R. Distribution and some properties of seed globulins. In: Shewry, P.R., Casey, R., eds. *Seed Proteins*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1999, p.159-169. ISBN 978-94-010-5904-6
6. RUDAKOVA, A.S., CHERDIVARĂ, A.M., WILSON, K.A., SHUTOV, A.D. Seed storage globulins: origin and evolution of primary and higher order structures. In: *Biochemistry* (Moscow), 2015, vol.80, p.1354-1361. ISSN 0006-2979
7. ADACHI, M., TAKENAKA, Y., GIDAMIS, A.B., MIKAMI, B., and UTSUMI, S. Crystal structure of soybean proglycinin A1aB1b homotrimer. In: *J. Mol. Biol.*, 2001, vol.305, p.291-305. ISSN 0022-2836
8. SHUTOV, A.D., BLATTNER, F.R., BAUMLEIN, H. and MUNTZ, K. Storage and mobilization as antagonistic unctinal constraints of seed storage globulin evolution. In: *J. Exp. Bot.*, 2003, vol.54, p.1645-1654. ISSN 0022-0957
9. SHUTOV, A., RUDAKOVA, A., RUDAKOV, S., KAKHOVSKAYA, I., SCHALLAU, A., MARUYAMA, N., WILSON, K. Limited proteolysis regulates massive degradation of glycinin, storage 11S globulin from soybean seeds: An *in vitro* model. In: *J. Plant Physiol.*, 2012, vol.169, p.1227-1233. ISSN 176-1617
10. BEARDSLEE, T.A., ZEECE, M.G., SARATH, G., MARKWELL, J.P. Soybean glycinin G1 acidic chain shares IgE epitopes with peanut allergen Ara h 3. In: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2000, vol.123, p.299-307. ISSN 1018-2438
11. HELM, R.M., COCKRELL, G., CONNAUGHTON, C., SAMPSON, H.A., G.A., BANNON, V., BEILINSON, N.C., NIELSEN, BURKS, A.W. A soybean G2 glycinin allergen. 2. Epitope mapping and three-dimensional modeling. In: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2000, vol.123, p.213-219. ISSN 1018-2438
12. LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. In: *Nature*, 1970, vol.227, p.680-685. ISSN 0028-0836
13. ARNOLD, K., BORDOLI, L., KOPP, J., SCHWEDE, T. The SWISS-MODEL Workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling. In: *Bioinformatics*, 2006, vol.22, p.195-201. ISSN 1367-4803
14. BIASINI, M., BIENERT, S., WATERHOUSE, A., ARNOLD, K., STUDER, G., SCHMIDT, T., KIEFER, F., CASSARINO, T.G., BERTONI, M., BORDOLI, L., SCHWEDE, T. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. In: *Nucleic Acids Research*, 2014, vol.42, p.252-258. ISSN 0305-1048
15. CHRUSZCZ, M., MALEKI, S.J., MAJOREK, K.A., DEMAS, M., BUBLIN, M., SOLBERG, R., HURLBURT, B.K., RUAN, S., MATTISOHN, C.P., BREITENRDER, H., MINOR, W. Structural and immunologic characterization of Ara h 1, a major peanut allergen. In: *J. Biol. Chem.*, 2011, vol.286, p.39318-39327. ISSN 0021-9258
16. CABANOS, C., URABE, H., TANDANG-SILVAS, M.R., UTSUMI, S., MIKAMI, B., MARUYAMA, N. Crystal structure of the major peanut allergen Ara h 1. In: *Mol. Immunol.*, 2011, vol. 49, p.115-123. ISSN 0161-5890
17. SHUTOV, A.D., KAKHOVSKAYA, I.A., BASTRYGINA, A.S., BULMAGA, V.P., HORSTMANN, C., MUNTZ, K. Limited proteolysis of β -conglycinin and glycinin, the 7S and 11S storage globulins from soybean (*Glycine max* (L.) Merr.): structural and evolutionary implications. In: *Eur. J. Biochem.*, 1996, vol.241, p.221-228. ISSN 1742-464X
18. WICHERS, H.J., DE BEYER, T., SAVELKOUL, F.J., VAN AMERONGEN A. The major peanut allergen Ara h1 and its cleaved-off N-terminal peptide; possible implications for peanut allergen detection. In: *J. Agric. Food Chem.*, 2004, vol.52, p.4903-4907. ISSN 0021-8561
19. SHUTOV, A.D., RUDAKOVA, A.S., RUDAKOV, S.V., KAKHOVSKAYA, I.A., SCHALLAU, A.A., WILSON, K.A., MARUYAMA, N. Degradation of β -conglycinin β -homotrimer by papain: independent occurrence of limited and extensive proteolyses. In: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2013, vol.77, p.2082-2086. ISSN: 1347-6947 (online version), ISSN: 0916-8451 (print version).

Prezentat la 21.10.2016

CZU: 577.15: 543.544

**EVALUAREA SPECTRULUI DE PEPTIDE LA FRAȚIONAREA
PRIN METODE CROMATOGRAFICE A HIDROLIZATELOR ENZIMATICE
ALE FICOCIANINEI ȘI Se-FICOCIANINEI**

*Angela RUDAKOVA., Valentina BULIMAGA, Maria PISOVA,
Veaceslav REVA, Natalia CLIMOVA, Sergiu RUDAKOV, Liliana ZOSIM*

Universitatea de Stat din Moldova

A fost efectuată evaluarea comparativă a hidrolizatelor papainice și triptice ale ficocianinei și Se-ficocianinei în urma separării prin metoda HPLC cu faze inverse pe coloana de ResourceTMRPC. A fost analizat profilul cromatografic al hidrolizatelor papainice și triptice ale ficocianinei la separare prin gel-filtrare pe coloana de sefadex G-50. Spectrele UV-VIS ale fracțiilor peptidice obținute la separarea prin gel-filtrare a hidrolizatelor ficocianinei au scos în evidență prezența peptidelor legate cu cromoforul.

Cuvinte-cheie: ficocianină, Se-ficocianină, hidroliză, peptide, separare.

EVALUATION OF PEPTIDES SPECTRUM AT FRACTIONATION OF ENZYMATIC HYDROLYSATES OF PHYCOCYANIN AND Se-PHYCOCYANIN BY CHROMATOGRAPHIC METHODS

A comparative evaluation of papain and trypsin hydrolysates of phycocyanin and Se-phycocyanin after separation by HPLC with reverse phase on the ResourceTMRPC column was performed. The chromatographic profile of peptides from the trypsin and papain hydrolysates of phycocyanin at separation by gel filtration on Sephadex G-50 column was analyzed. UV-VIS spectra of peptides fractions obtained by gel filtration separation of phycocyanin hydrolysates revealed the presence of chromopeptides.

Keywords: phycocyanin, Se-phycocyanin, hydrolysis, peptides, separation.

Introducere

În conformitate cu cercetările recente, cianobacteria *Spirulina platensis* și, în special, proteina pigment – C-ficocianina pot acționa în calitate de eliminatori de specii reactive de oxigen și pot diminua acumularea de radicali liberi *in vivo*. Mai mult ca atât, ficocianina poate întârzia senescența, diminua procesele de formare a celulelor canceroase și posedă acțiune antihipertensivă [1]. Prin urmare, este oportună utilizarea spirulinei nu doar ca supliment alimentar, dar și ca sursă de obținere a ficocianinei, precum și a hidrolizatelor ei peptidice pentru utilizare în profilaxia și tratarea unor afecțiuni cauzate de radicalii liberi, inclusiv a cancerului.

Un rol important în acest context ar putea reveni spirulinei îmbogățite cu seleniu legat organic, precum și ficocianinei cu conținut de Se. Biodisponibilitatea înaltă a seleniului la administrarea spirulinei îmbogățite cu seleniu și a Se-ficocianinei a fost demonstrată în unele studii anterioare, efectuate pe șobolani [2]. Pentru obținerea biomasei de spirulină cu un conținut bogat de Se, mai mulți cercetători au utilizat cultivarea spirulinei în prezența Na₂SeO₃ [3-8].

Cercetările noastre recente au demonstrat posibilitatea utilizării Fe₂Se₃O₉·6H₂O pentru obținerea biomasei de spirulină cu conținut bogat de seleniu [9,10]. Prezintă interes nu doar elaborarea procedeele de obținere a biomasei de spirulină îmbogățite cu seleniu și Se-ficobiliproteine, dar și a peptidelor din Se-ficocianină prin hidroliza enzimatică, pentru a fi utilizate în calitate de remedii naturale în profilaxia și tratarea cancerului.

Scopul lucrării constă în evaluarea spectrului de peptide din hidrolizatele enzimatică ale ficocianinei și Se-ficocianinei la fracționare prin metode cromatografice.

Pentru realizarea scopului au fost trasate următoarele obiective:

- fracționarea peptidelor prin gel-filtrare pe coloana de sefadex G-50 și/sau separarea lor de restul de proteină nehidrolizată (în cazul hidrolizatelor triptice);
- UV-VIS spectrul fracțiilor după gel-filtrare pe coloana de sefadex G-50;
- cromatografia HPLC cu faze inverse pe coloana de Resource RPC și evaluarea comparativă a spectrului de peptide obținute la hidroliza papainică și triptică a ficocianinei și Se-ficocianinei.

Material și metode

Cultivarea și obținerea biomasei de spirulină îmbogățite cu seleniu. Cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* a fost efectuată conform procedeeului descris anterior [9]. Biomasa a fost separată de lichidul cultural

prin filtrare, spălată cu 1,5% soluție acetat de amoniu și apă bidistilată. Biomasa obținută a fost suspendată în apă (20 mg/ml) și supusă congelării.

Extragerea și purificarea ficocianinei și Se-ficocianinei. Ficocianina a fost obținută conform protocolului descris anterior [11]. Extractul sumar de Se-ficocianină a fost obținut prin extragere cu apă bidistilată din biomasa de *Spirulina platensis* îmbogățită cu seleniu, supusă în prealabil congelării-decongelării repetate pentru distrugerea pereților celulari. În acest scop, la 1 volum suspensie de spirulină (20 mg/ml) au fost adăugate 2 volume de apă distilată și, după agitarea suspensiei la 4°C timp de 15-30 min., proba a fost supusă centrifugării la 10000 rot/min. Extractul de Se-ficocianină a fost supus fracționării cu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ în două etape: până la 25% saturație, după care precipitatul a fost înlăturat, iar la supernatant a fost adăugat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ până la 50% saturație. Precipitatul a fost separat prin centrifugare la 6000 rot/min și dizolvat în soluție 3M NaCl, pH 8,0. Purificarea ficocianinei a fost efectuată pe coloana de phenyl-sepharose ($\varnothing = 1,7\text{cm}$, $h = 5\text{cm}$), echilibrată cu soluție 3M NaCl, pH 8,0. Viteza de eluție 80 ml/oră. Eluția a fost efectuată consecutiv cu soluție de 1M, 0,5 NaCl și H_2O , respectiv. Se-ficocianina a fost colectată în principal la eluție cu 1M NaCl. Purity ficocianinei la fiecare etapă de purificare a fost evaluată prin raportul A_{620}/A_{280} .

Obținerea hidrolizatului de ficocianină și separarea fracțiilor peptidice. Hidroliza ficocianinei a fost efectuată cu tripsină și papaină în raport de (1:10) în decurs de 10 ore, la temperatura de 30°C. Hidroliza enzimatică a soluției de ficocianină (3 mg/ml) a fost efectuată în 0,5M soluție NaCl, pH 8,0, în prezența mercaptoetanolului (2 mcl/ml), la temperatura de 30°C. Hidroliza cu papaină a fost stopată prin adăugarea inhibitorului E64, iar fracția de proteină parțial hidrolizată era absentă. După gel-filtrare pe coloana de sephadex G-50 (Sigma Aldrich) a fost efectuată dializa probelor de peptide și analizat spectrul UV-VIS al fracțiilor polipeptidice. Din hidrolizatele ficocianinei și Se-ficocianinei cu tripsina fracția proteinei parțial hidrolizate a fost în prealabil separată de peptide la filtrare prin centricon (cut-off < 30 kDa). Cromatografia HPLC cu faze inverse a fost efectuată pe coloana de ResourceTM RPC (Sigma Aldrich), efectuând eluția peptidelor în gradient de concentrații de acetonitril în soluție de 0,1% CF_3COOH : sol. A – 0,1% CF_3COOH în H_2O și B – 50% sol. A și 50% acetonitril.

SDS-electroforeza în gel de poliacrilamidă. Ficocianina obținută în rezultatul purificării a fost precipitată cu acid tricloracetic, spălată cu acetonă și dizolvată în soluție tampon pentru proteină. SDS-electroforeza a fost efectuată în gel de poliacrilamidă de 15% în sistemul Laemli [12]. Pentru determinarea masei moleculare a proteinelor au fost utilizați markeri Eichprotein cu mase moleculare 14,3, 20,1, 26,6, 39,2 și 55,6 kDa. Benzile proteice în gelul de poliacrilamidă au fost fixate cu amestec etanol: apă: acid acetic (5:5:1) și colorate cu Coomassie G-250 (Serva, Germania) în decurs de 10-20 min., cu spălarea ulterioară a gelului cu soluție 7% CH_3COOH . Scanarea gelurilor a fost efectuată la Image Scanner III. Masele moleculare ale benzilor electroforetice au fost determinate utilizând programa Kodak.

Rezultate și discuții

Hidrolizatele ficocianinei cu papaina au fost supuse separării prin gel-cromatografie pe coloana de G-50, iar soluțiile eluate, care se deosebeau după culoare, au fost separate în 4 fracții aparte, care au inclus și cele 2 picuri proeminente (fracția 2 – primul pic și fracția 3 – al doilea pic) (Fig. 1a). La separarea hidrolizatului triptic al ficocianinei prin gel-filtrare (Fig. 1b) se observă 4 picuri, primul dintre care este colorat în albastru se eluează după volumul liber și poate reprezenta restul de proteină nehidrolizată, după care urmează 2 picuri peptidice (fr. 2 și 3) și ultima – fracția 4, care, probabil, reprezintă fracția de aminoacizi liberi.

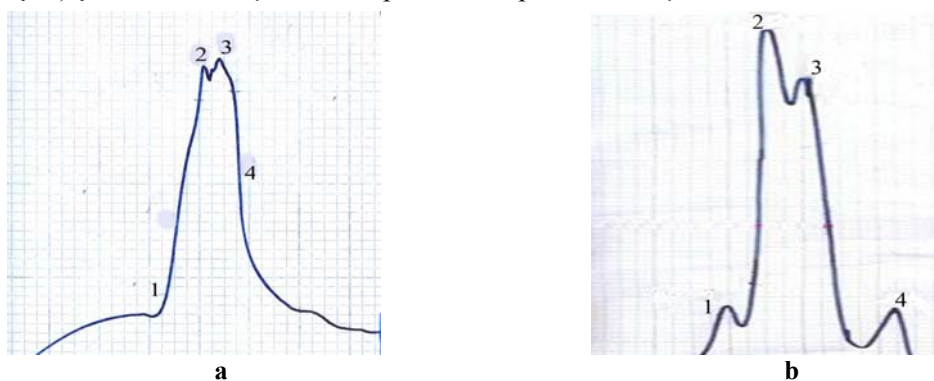


Fig.1. Gel-filtrarea pe coloana de sefadex G-50 a hidrolizatelor peptidice obținute la hidroliza ficocianinei cu papaina (a) și tripsina (b).

A fost trasat spectrul UV-VIS al fracțiilor colectate separat după gel-filtrare și efectuată analiza lor comparativă (Fig. 2a și 2b). Spectrul UV-VIS al fracțiilor peptidice 3 și 4 din hidrolizatul papainic diferă de fracțiile 1 și 2 prin prezența a 2 maximumuri de absorbție la 620 și 350 nm, caracteristice pentru cromopeptide. Prezența cromopeptidelor în hidrolizat a fost observată și de Swanson la analiza spectrului de absorbție al peptidelor obținute la hidroliza ficocianinei cu tripsina [13]. Din rezultatele obținute se observă că absorbția peptidelor la 280 nm variază de la caz la caz, valorile maxime fiind înregistrate în fracțiile 3 și 4, ceea ce demonstrează predominarea peptidelor legate cu cromoforul.

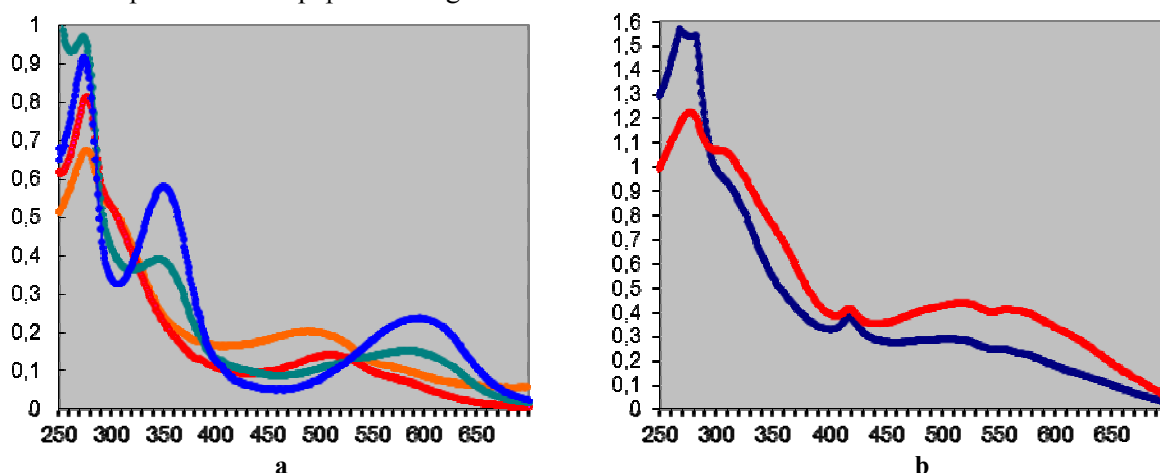


Fig.2. Evaluarea spectrului UV-VIS al fracțiilor peptidice obținute la gel-filtrare.

- a) hidrolizatul papainic al ficocianinei: fr.1 – cul. oranj, fr.2 – cul. roșie, fr.3 – cul. verde și fr.4 – cul. albastră;
b) hidrolizatul triptic al ficocianinei: fr.2 – cul. roșie și fr. 3 – cul. albastră.

Scanarea spectrului UV-VIS al fracțiilor obținute la gel-filtrare în cazul hidrolizatului triptic al ficocianinei (Fig. 2b) a scos în evidență că cele 2 picuri (fr. 2 și 3, Fig. 1b) sunt peptide legate cu cromoforul. Totuși, în rezultatul hidrolizei are loc modificarea cromoforului în fracțiile peptidice și apariția unui platou întins în diapazonul de 450-620 nm și a 2 picuri proeminente la 420 nm. Prezența picului de absorbție la 420 nm ar putea aparține unor cromopeptide izomere [14]. Acest fapt poate fi legat de transformarea cromoforului în condiții de hidroliză mai avansată a subunităților α și β . A fost detectată și prezența unei fracții cu masa moleculară relativ joasă în hidrolizatul triptic, care posibil denotă prezența aminoacizilor liberi (Fig. 1b).

Pentru evaluarea comparativă a componenței peptidice, hidrolizatele ficocianinei și Se-ficocianinei cu papaina și tripsina au fost supuse cromatografiei prin metoda HPLC cu faze inverse pe coloana de ResourceTM RPC. (Vcol=3ml, 1 ml/min, gradient: sol. A – 0,1% CF₃COOH în H₂O și B – 50% sol. A și 50% acetonitril), fiind filtrate prealabil prin centricon (cut-off < 30kDa). În ambele hidrolizate papainice se observă prezența în principal a 3 fracții de peptide și doar în hidrolizatul ficocianinei (în cantități minime) a unei fracții neadsorbite, care se eluează cu tamponul inițial (Fig. 3a).

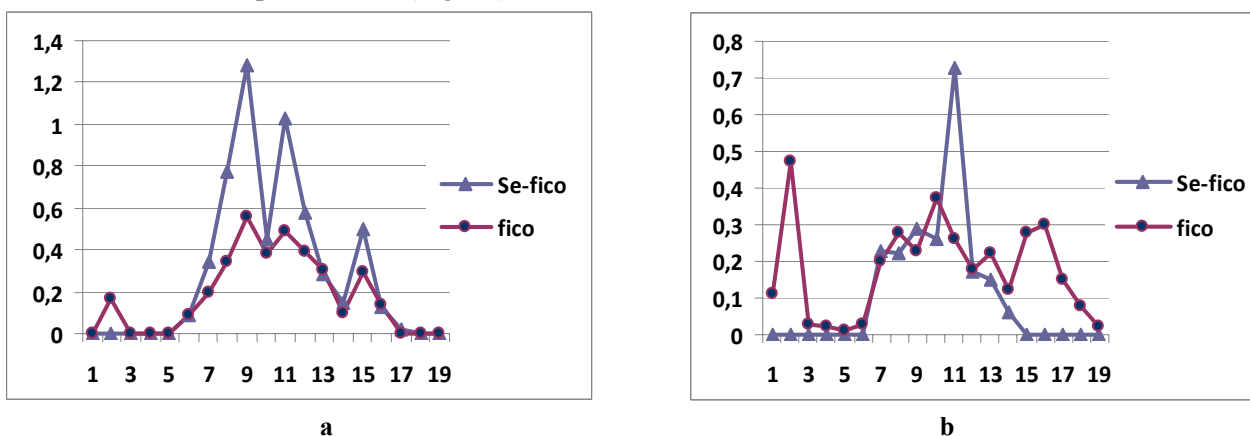


Fig.3. Evaluarea comparativă a profilului peptidelor din hidrolizatele ficocianinei și Se-ficocianinei cu papaina (a) și tripsina (b) după separarea lor prin cromatografia HPLC cu faze inverse pe coloana de ResourceTM RPC.

Peptidele din fracțiile obținute după separarea pe coloana de ResourceTM RPC a hidrolizator papainice și triptice (Fig. 3a și 3b) au fost determinate cantitativ prin metoda Lowry, iar în rezultatul analizei profilului peptidelor din ambele hidrolizate triptice putem constata că ele conțin și fracții de peptide care ar putea avea proprietăți similare (fr. 7-13). Totuși, în cazul hidrolizatului triptic al ficocianinei spectrul peptidelor este diferit de cel al hidrolizatului Se-ficocianinei și conține suplimentar încă 2 fracții: una nedsorbită și alta care se eluează la aplicarea gradientului cu concentrații mai înalte de acetonitril (fr. 15-18).

Studiul comparativ al electroforegramelor ficocianinei și Se-ficocianinei a scos în evidență prezența și în componența Se-ficocianinei a celor 2 subunități - α și β cu mase moleculare identice cu cele ale ficocianinei (Fig.4). Rezultate similare au fost relatate și de cercetătorii chinezi la compararea benzilor electroforetice ale preparatelor purificate de ficocianină și Se-ficocianină [15].

Așadar, rezultatele obținute în prezenta lucrare au scos în evidență similaritatea profilului fracțiilor de peptide obținute la hidroliza ficocianinei și Se-ficocianinei cu papaina la separarea lor prin HPLC cu faze inverse. Totodată, se observă un spectru mai variat de peptide în cazul hidrolizatului triptic al ficocianinei, comparativ cu cel al Se-ficocianinei. Prin analiza spectrelor UV-VIS a fost demonstrată prezența cromopeptidelor în hidrolizatele papainic și triptic ale ficocianinei.

Concluzii

1. Evaluarea comparativă a hidrolizator papainic și triptic ale ficocianinei și Se-ficocianinei în urma separării prin metoda HPLC cu faze inverse pe coloana de ResourceTM RPC a scos în evidență anumite particularități specifice: prezența a 3 fracții peptidice similare după profilul de eluție în hidrolizat papainic și un spectru mai variat de peptide în cazul hidrolizatului triptic al ficocianinei, comparativ cu cel al Se-ficocianinei.

2. A fost efectuată separarea cromatografică prin gel-filtrare pe coloana de sefadex G-50 a hidrolizator papainic și triptic ale ficocianinei. Spectrele UV-VIS ale fracțiilor peptidice obținute la separarea prin gel-filtrare au scos în evidență prezența peptidelor legate cu cromoforul.

Referințe:

1. ERIKSEN, N.T. Production of phycocyanin – a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, vol.80, p.1-14.
2. KRAVCHENKO, L.V., GLADKIKH, O.L., GMOSHINSKIĬ, I.V., MAZO, V.K. Selenium enriched spirulina and phycocyanin are sources of bioavailable selenium. In: *Vopr. Pitan.*, 2008, vol.77, no.4, p.63-65.
3. TAMBIEV, A.K.H., KIRIKOVA, N.N., MAZO, V.K., AND SKAL'NYI, A.V. *Method for Production of Selenium-Containing Preparation from Spirulina Biomass*. Patent RF 2096037, class A 61 K 33/04, 1998.
4. PRONINA, N.A., KOVSHOVA, Yu.I., POPOVA, V.V. et al. The Effect of Selenite Ions on Growth and Selenium Accumulation in *Spirulina platensis*. In: *Russian Journal of Plant Physiology*, 2002, vol.49, Issue 2, p.235-241.
5. MOSULISHVILI, L.M., KIRKESALI, E.I., BELOKOBYSKY, A.I., KHIZANISHVILI, A.I., FRONTASYEVA, M.V. Experimental Substantiation of the Possibility of Developing Selenium and Iodine Containing Pharmaceuticals Based on Blue-green Algae *Spirulina platensis*. In: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2002, p.87-97.
6. CHEN, T., ZHENG, W., YANG, F., BAI, Y., WONG, Y.S. Mixotrophic culture of high selenium-enriched *Spirulina platensis* on acetate and the enhanced production of photosynthetic pigments. In: *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, vol.39, no.1, p.103-107.
7. CHEN, T., ZHENG, W., WONG, Y.S., YANG, F., BAI, Y. Accumulation of selenium in mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose. In: *Bioresource Technology*, 2006, vol.97, no.18, p.2260-2265.
8. CHEN, T., WONG, Y.S., ZHENG, W., Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. In: *Phytochemistry*, 2006, vol.67, no.22, p.2424-2430.
9. ȘOVA, S., RUDIC, V., BULMAGA, V., DJUR, S. Procedeu de obținere a selenitului de fier $Fe_2Se_3O_9 \cdot 6H_2O$ și procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* cu utilizarea acestui compus ca sursă de seleniu și fier. Brevet de invenție MD 4123. 2011-07-31.
10. BULMAGA, V., ZOSIM, L., PISOVA, M., RUDIC, V., ȘOVA, S. Influența selenitului de Fe(III) și a intensității de iluminare asupra conținutului de ficobiliproteine, seleniu și fier în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2016, nr.6(96), p.3-9.

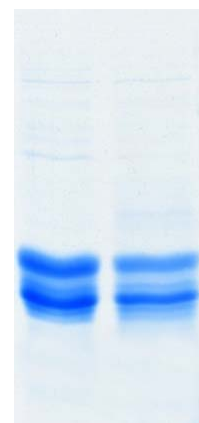


Fig.4. Electroforegrama preparatelor de ficocianină și Se-ficocianină, obținute la purificare prin cromatografie pe Phenyl-sepharose.

11. RUDAKOVA, A., SHUTOV, A., RUDACOV, S., BULIMAGA, V., CLIMOVA, N., KAHOVSKAIA, I., PISOVA, M. Mecanismul de proteoliză a ficocianinei, proteinei bioactive din spirulină, sub acțiunea papainei. În: *Studia Universitatis Moldaviae*. Seria „Științe reale și ale naturii”, 2016, no.86(6), p.15-20.
12. LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. In: *Nature*, 1970, vol.227, p.680-685.
13. SWANSON, R.V., ZHOU, J., LEARY J.A., WILLIAMS, T., De LORIMIER, R., BRYANT, D.A., GLAZER, A.N. Characterization of phycocyanin produced by cpcE and cpcF mutants and identification of an intergenic suppressor of the defect in bilin attachment. In: *J. Biol. Chem.*, 1992, vol.267, p.16146-16154.
14. THUEMMLER, F. Models for the photoreversibility of phytochrome: Z,E Isomerization of chromopeptides from phycocyanin and phytochrome. In: *Tetrahedron*, 1983, vol.39, p.1943-1951.
15. CHEN, T., WONG, Y.S., ZHENG, W. Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. In: *Phytochemistry*, 2006, vol.67, no.22, p.2424-2430.

Notă: Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului instituțional 15.817.05.02F.

Prezentat la 15.11.2016

CZU: 582.232: 581.1

CARACTERISTICA METODELOR UTILIZATE PENTRU OBTINEREA ÎN CULTURĂ A ALGELOR CIANOFITE

Sergiu DOBROJAN, Galina DOBROJAN

Universitatea de Stat din Moldova

În acest articol este abordată problema teoretic-aplicativă de selectare și obținere în cultură a algelor cianofite. Astfel, pentru a înțelege aceste metode se dă definiția termenului de metodă pe baza studiului literaturii de specialitate și se propun definiții originale ale termenilor de izolare și metode de cultivare a algelor. Totodată, este prezentată o nouă clasificare a metodelor utilizate pentru obținerea în cultură a algelor. Sunt descrise și exemplificate unele metode aplicate actualmente pentru obținerea în cultură a algelor cianofite.

Cuvinte-cheie: *alge, metode de cultivare, culturi algale.*

CHARACTERISTIC METHODS USED FOR OBTAINING IN CULTURE OF CYANOPHITE ALGAE

The article addresses the theoretical-Practical problem selection and obtaining culture of cyanophytes algae. Thereby for the understanding of these methods are defined term method the basis of on the literature study and proposes original definitions the terms of isolation and methods of algae cultivation. Also, is presented a new classification the methods used to obtain the algae culture. There are described and exemplified some currently applied methods for obtaining culture of cyanophytes algae.

Keywords: *algae, cultivation methods, algal culture.*

Introducere

Algele cianofite au un rol considerabil în ecosistemele terestre și acvatice; acestea sunt cosmopolite, fiind reprezentate de un număr relativ mare de specii (actualmente sunt descrise și pașaportizate cca 2000 de specii de alge cianofite). Biomasa multor specii de alge cianofite are o valoare nutritivă înaltă, terapeutică, fiindu-i caracteristice proprietăți specifice, cum ar fi cea de fixare biologică a azotului atmosferic în sol și apă, epurarea apelor reziduale, depoluarea solurilor, acumularea substanțelor biologice active în biomasă etc. [1].

Actualmente, biomasa algelor cianofite poate fi colectată din habitatele naturale sau obținută în rezultatul cultivării în condiții deschise ori în laborator. Colectarea biomasei din habitatele naturale nu satisface cererile de biomasă, fiind și destul de periculoasă, deoarece împreună cu algele pot fi colectate și alte organisme străine, care de multe ori pot fi toxice [2].

Pentru siguranță în utilizarea biomasei algale, este necesar ca speciile de alge să fie izolate în cultură. Izolarea algelor este o etapă importantă în activitatea de cultivare și obținere a culturilor unialgale. Izolarea algelor poate fi definită ca *separarea din populațiile algale a unei specii care urmează să crească și să producă o nouă populație (grupare nouă de indivizi care vor aparține aceleiași specii) ce va asigura stabilitatea speciei, conservarea, obținerea biomasei algale etc.*

Totodată, izolarea unei specii algale este un proces îndelungat și necesită utilizarea metodelor specifice, care permit obținerea de culturi pure ușor de identificat și aplicat în practică [3,4].

Caracteristica metodelor

Metodele contemporane de selectare a algelor cianofite în culturi algale permit înlăturarea eficientă a organismelor străine, care în mod normal în natură practic nu se realizează.

Pentru a putea înțelege, distinge și aplica metodele de selectare a algelor, este necesar să definim termenul „metodă”. Astfel, conform definiției prezente în Dicționarul explicativ al limbii române, „metoda este un mod de a acționa pentru a atinge un anumit scop, manieră, modalitate, procedeu, mijloc” [5].

O altă definiție importantă este cea propusă de V.Rojanschi și coautorii: „Metoda este un procedeu teoretic de realizare a unui obiectiv metodologic explicit, în anumite ipoteze specifice. Metoda se compune dintr-o familie de tehnici, prin intermediul cărora se aplică în conformitate cu natura concretă a situației. Descrierea metodei va conține toate elementele referitoare la semnificațiile tehnicilor ce o alcătuiesc, ipotezele, modul propriu de aplicare, scopul urmărit” [6].

A.Capcelea și V.Capcelea definesc metoda ca o „totalitate de proceduri și operații de percepere practică sau teoretică a realității”. Prin operație se înțelege acțiunile simple, iar prin procedură – un sistem de operații. Deoarece procedurile și operațiile sunt determinate de cunoștințele anterioare, noțiunile de teorie și metodă sunt strâns legate între ele și trec reciproc din una în alta: metoda poate fi concepută ca o concretizare a teoriei, iar teoria poate fi înțeleasă ca o metodă. Metoda se formează ca un rezultat al cunoștințelor anterioare și, în același timp, poate fi considerată ca începutul unei cunoașteri [7].

În ce ne privește, considerăm că *metodele de selectare și obținere în cultură a algelor prezintă un mod științific, teoretic și practic de acțiuni consecutive, bine determinate, care se aplică pentru izolarea algelor în cultură.*

Rezultate obținute

Pentru o caracteristică mai amplă a metodelor de selectare și obținere în cultură a algelor cianofite, propunem repartizarea acestora în două grupe, și anume:

- 1) *metode universale;*
- 2) *metode particulare.*

Considerăm metode universale acele metode care pot fi utilizate la obținerea în cultură a tuturor algelor, iar cele particulare sunt metodele care se aplică nemijlocit pentru selectarea în cultură a unei anumite specii sau gen (specifice în funcție de poziția sistematică a speciei). În literatura de specialitate sunt menționate următoarele metode pentru izolarea algelor, care pot fi incluse în rândul metodelor universale:

1. Metoda de centrifugare și spălare – se realizează prin centrifugarea probelor urmată de spălare, procedeu ce se repetă până la obținerea culturilor algale. Cu ajutorul acestei metode se obțin, de regulă, macroculturi algale.

2. Exploatarea mișcărilor fototaxice – cu ajutorul acestei metode algele flagelate se vor mișca spre o direcție luminată și vor fi preluate cu pipeta.

3. Plăcilor de agar – se prepară agarul de 1,5%, soluția se sterilizează prin autoclavare timp de 15 min la presiunea de 150 bls și la temperatura de 120°C. Mediul lichid se introduce în vase Petri sterile, vasele se închid și se expun timp de 24 de ore pentru solidificare.

4. Micromanipularea – prevede izolarea celulelor algale dintr-o picătură de apă care conține multe specii. Celula de algă se stochează cu ajutorul unei micropipete și se expune într-o picătură de mediu steril, după care se repartizează pe suprafața agarului. Acest proces se repetă până ce celula se „spală” și se obține o cultură fără bacterii. Cu cât mai multe repetări ale operațiunilor, cu atât mai puține bacterii rămân în cultură. Însă, odată cu majorarea numărului de spălări celulele riscă să se deterioreze. Apoi celulele se transferă în mediu nutritiv diluat în vas cu mediu lichid sau în mediu solid. Cultura este plasată la iluminare scăzută și la nivelul coresponzător de temperatură constantă. După 3-4 săptămâni de creștere algele se supun microscopierii. Cu ajutorul acestei metode putem obține o cultură colonială unialgală.

5. Diluția în serii – tuburile în care se produce diluția trebuie etichetate în limitele 10^{-1} - 10^{-10} . Astfel, 1 ml de probă se adaugă în vasul cu prima diluție de 10^{-1} și se agită bine. Din tubul dat se exclude 1 ml și se adaugă în vasul cu diluția de 10^{-2} ; se agită bine. Această procedură se repetă până la varianta cu 10^{-10} . Tuburile sunt incubate în condiții de temperatură și iluminare controlată. După 2-4 săptămâni din culturi se extrage o porțiune mică de aseptice din fiecare tub de diluții. O singură specie se poate găsi în tuburile cu diluție mai mare, de exemplu 10^{-6} - 10^{-10} . Dacă tuburile conțin două sau trei specii diferite, atunci pot fi izolate specii în monocultură utilizând tehnica de manipulare [8,9].

În grupa metodelor universale se mai includ și alte metode care sunt compuse din combinația unor elemente ale metodelor sus-menționate. Dintre acestea menționăm: 1. *Metoda de selectare a culturilor algologice;* 2. *Metoda de inoculare a algelor în interiorul agarului;* 3. *Metoda de obținere a monoculturilor din culturi brute dense.*

1. Metoda de selectare a culturilor algologice a fost elaborată de В.М. Андреева și Л.А. Стрекова, fiind considerată mai simplă pentru obținerea monoculturilor, pentru selectarea celulelor și coloniilor algale de orice dimensiune și accesibilă. Potrivit acestei metode, în vasul Petri se introduce mediul nutritiv agarizat (1,6-1,8% agar), la suprafața mediului solid se introduc 0,2-0,3 ml de apă distilată sterilizată (în funcție de mărimea ceștii Petri) ce se distribuie cu ajutorul spatulei sterile. Trebuie ca în timp de 1,5-2 zile apa să se îmbibe în mediul nutritiv. După administrarea apei în vasele Petri se adaugă o cantitate redusă de suspensie algală, ceașca se închide și se expune la lumină. Peste ceva timp (de regulă, 2-3 săptămâni) la suprafața agarului încep să apară

colonii de alge. Printre ele pot fi găsite (de regulă, la marginile vasului) colonii cu o singură specie. Dacă vom analiza în interval variat diferite colonii, care se deosebesc și după culoare, pe care le inoculăm pe mediu nutritiv proaspăt, atunci putem obține monoculturi aproape la toate speciile de alge prezente în mediul agarizat. După cum se cunoaște, în culturile acumulative cu vârsta se produce îmbătrânirea și modificarea culturilor algale. La apariția noilor forme trebuie repetată procedura de selectare a monoculturilor [10].

2. Metoda de inoculare a algelor în interiorul agarului – unele alge nu pot să se dezvolte la suprafața agarului, ci în interior. Pentru aceasta a fost elaborată, apoi modificată, metoda de selectare a algelor în monocultură din interiorul agarului. Metoda constă în parcurgerea unor etape distincte. Inoculul algelor colectate din câmp se agită cu agarul lichid (încălzit) și se toarnă în vasul Petri. Agarul se răcește la o temperatură puțin mai înaltă decât cea din cultivator. Vasele cu inocul și mediu agarizat se incubează la temperatură stabilită și iluminare continuă în cultivator. După creștere algele pot fi selectate în monocultură cu ajutorul micropipetei. De regulă, se utilizează micropipeta Pasteur sau capilarul de sticlă. Pipeta Pasteur se sterilizează la foc (lampa de spirt) fiind ținută cu ajutorul pensetei. Pipeta trebuie ușor sucită deasupra flăcării pentru a o putea întinde și rupe vârful, obținând parcă o ață subțire. Vârful tubului obținut permite captarea algelor din interiorul agarului. Această metodă se aplică atât pentru selectarea algelor în monocultură, cât și pentru menținerea îndelungată a culturii în laborator [11].

3. Metoda de obținere a monoculturilor din culturi brute dense – această metodă are ca scop obținerea monoculturilor algale la utilizarea atât a mediilor solide, cât și a celor lichide. Ea poate fi utilizată, în special, pentru obținerea culturilor algologice pure de alge edafice sau aerofile. Probele de alge colectate din natură (în cazul când algele formează cruste „înflorirea solului”) se expun în apa distilată sterilizată. O porțiune mică se microscopiază și se determină, în funcție de parametrii morfologici, care alge predomină. După care selectăm specia ce ne interesează. Probele se spală bine (de 4–5 ori cu apă distilată) pentru înlăturarea primară a particulelor solide și a altor alge, dar și a bacteriilor alipite crustei. Apoi algele sunt expuse din nou în apă distilată, fiind supuse procedurii de centrifugare pentru separarea secundară de unele bacterii și nevertebrate. După centrifugare probele se utilizează pentru inoculare. Inocularea în vasul Petri pe mediu agarizat sterilizat (cu concentrația de 1,5%) se va efectua astfel: 1. Coloniile în formă de crustă se vor dispersa cu ajutorul pensetei sterile în bucăți mai mici (cu lungimea de 0,1-0,25 cm și lățimea de 0,05-0,07 cm) și mai mari (cu lungimea de 0,05-0,07 cm și lățimea de 0,02-0,03 cm). 2. Bucățile mai mari se aranjează în formă de cerc la suprafața mediului agarizat la distanța de 1 cm de marginea ceșcuței (distanța dintre bucățile mari de alge fiind de 2 ori mai mare decât lungimea lor) formând prima circumferință, iar bucățile mici se aranjează la fel în formă de cerc la suprafața mediului agarizat (distanța dintre bucățile mici fiind de două ori mai mare decât lungimea lor) formând a doua circumferință. 3. În mijlocul celei de a doua circumferințe se expune o porțiune mică de crustă. Probele inoculate se expun în cultivator la iluminare continuă și la temperatura necesară.

Inocularea probelor pe mediu lichid sterilizat se efectuează în baloane Erlenmayer cu volum de 100 ml, volumul mediului lichid fiind de 50 ml. Se administrează 40 mg de inocul pregătit, probele se agită puțin și se expun la iluminare continuă și la temperatura necesară. După ce se obține o creștere masivă a biomasei, probele se microscopiază, se selectează specia predominantă și se expune din nou pe mediu nutritiv. Etapele se repetă până la obținerea unei culturi monoalgale. Aplicarea metodei permite obținerea monoculturilor algale într-un interval de timp mai scurt decât prin aplicarea celorlalte metode [12].

Din grupa metodelor particulare face parte metoda descrisă de P.Rout Nutan, S.Khandual, A.Gutierrez-Mora și coautorii [13]. Această metodă se utilizează pentru obținerea în cultură a speciilor din genul *Spirulina*. Metoda prevede parcurgerea a cinci etape, după cum urmează: 1. *Centrifugarea* – la viteza de rotație de 800-2000 rpm în mai multe repetări pentru înlăturarea particulelor solide și a substanțelor contaminate; 2. *Tratarea chimică* – pentru eliminarea algelor eucariote și a culturilor mixte de alge, realizată prin adăugarea *Cycloheximidei* în concentrații variate (25-100 mg/l) timp de o săptămână. 3. *Diluția în serii* – efectuându-se diluția de zece ori în zece serii; 4. *Micromanipularea* – filamentele algale se selectează cu ajutorul unei micropipete de sticlă, probele selectate fiind examinate la microscop pentru a asigura înlăturarea celorlalte organisme; 5. *Inocularea pe mediu solid* – s-a realizat inocularea algelor, cu ajutorul unei anse, pe mediul nutritiv solid (cu agar de 1,5%) și expunerea în condiții normale de laborator timp de 3-4 săptămâni. Cu ajutorul acestei tehnici au fost izolate speciile *Spirulina subsalsa* și *Spirulina major*.

Concluzii

Prezenta cercetare vine să completeze domeniul teoretico-aplicativ ce abordează problema privind cultivarea algelor cianofite. În rezultatul cercetărilor realizate se propune o nouă definiție a metodelor de selectare a algelor, precum și o clasificare originală. Astfel, metodele de selectare și obținere în cultură a algelor se clasifică în *metode universale și metode particulare*. Din grupa metodelor universale sunt descrise metodele: *centrifugarea și spălarea, exploatarea mișcărilor fototaxice, plăcilor de agar, micromanipularea, diluția în serii, selectarea culturilor algologice, inocularea algelor în interiorul agarului, obținerea monoculturilor din culturi brute dense*. Din metodele particulare este menționată *metoda combinată* utilizată pentru izolarea speciilor de alge cianofite din genul *Spirulina*.

Referințe:

1. ȘALARU, V., BULIMAGA, V., ȘALARU, V., TROFIM, A., ZOSIM, L., PISOV, M. Rolul unor alge cianofite azotfixatoare în rezolvarea problemei alimentare. În: *Studia Universitatis Moldaviae*, 2013, nr.6(66), p.33-41, ISSN 1814-3237
2. ROUT NUTAN, P., KHANDUAL, S., GUTIERREZ-MORA, A., GALLARDO-VALDÉZ, J., RODRIGUEZ-GARAY, B., IBARRA-MONTOYA, J.L., VEGA-VALERO, G. Isolation, Identification and Germplasm Preservation of Different Native Spirulina Species from Western Mexico. In: *American Journal of Plant Sciences*, 2013, no.4, p.65-71.
3. HAZEL, M., DAVEY and DOUGLAS, KELL, B. Flow Cytometry and Cell Sorting of Heterogeneous Microbial Populations: the Importance of Single-Cell Analyses. In: *Microbiological review*, vol.60, no.4, p.641-696. ISBN: 0146-0749/96
4. VAN THANG, D., YAN, L., NOWAK, E., SCHENK, P.M. Microalgae Isolation and Selection for prospective biodiesel production. In: *Energies*, 2012, no.5, p.1835-1849. ISSN 1996-1073
5. <http://www.dex.ro/metod%C4%83> [Accesat: 10.11.2016]
6. ROJANSCHI, V., BRAN, F., GRIGORE, F., DIACONU, S. *Evaluarea impactului ecologic și auditul de mediu*. București: ASE, 2004, p.492.
7. CAPCELEA, A., CAPCELEA, V. *Managementul ecologic, fundamentarea teoretică și evoluția paradigmelor*. Chișinău: Știința, 2013, p.197.
8. PERUMAL PACHIAPPAN, B. BALAJI, P., SANTHANAM PERUMAL, S. ANANTH, A. SHENBAGA DEVI, S., DINESH, K., JEYANTHI, S. Isolation and Culture of Microalgae. In: *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*, 2000, p.166-182. DOI 10.1007/978-81-322-2271-2_1
9. THOMPSON, P.A. Algal cell culture. In: *Biotehnology*, 2002, vol.1, p.110-111.
10. АНДРЕЕВА, В.М., СТРЕКОВА, Л.А. Коллекция культур водорослей в лаборатории алгологии Ботанического института им. В.Л. Коморова АЕ СССР. В: *Культивирование коллекционных штаммов водорослей*. Ленинград, 1983, с.92-104.
11. ГАЙСИНА, Л.А., ФАЗЛУТДИНОВА, А.И., КАБИРОВ, П.Р. *Современные методы выделения и культивирования водорослей: Учебное пособие*. Уфа: Изд-во БПИУ, 2008. 152 с.
12. DOBROJAN, S., ȘALARU, V., ȘALARU, V., MELNIC, V., DOBROJAN, G. *Cultivarea algelor*. Chișinău: CEP USM, 2016, p.173.
13. ROUT NUTAN, P., KHANDUAL, S., GUTIERREZ-MORA, A., GALLARDO-VALDÉZ, J., RODRIGUEZ-GARAY, B., IBARRA-MONTOYA, J.L., VEGA-VALERO, G. Isolation, Identification and Germplasm Preservation of Different Native Spirulina Species from Western Mexico. In: *American Journal of Plant Sciences*, 2013, no.4, p.65-71.

Prezentat la 21.10.2016

CZU: 582: 581.5

UNELE ASPECTE TAXONOMICE ALE STUDIERII GENULUI *ANABAENOPSIS*

Galina DOBROJAN

Universitatea de Stat din Moldova

În prezentul articol se face o sistematizare a rezultatelor prezentate în literatura de specialitate din domeniu. Abordarea genului *Anabaenopsis* începe cu istoricul investigației lui, fiind relevate modificările sistematice, evidențiat numărul de specii și taxoni de alge care sunt atribuite genului și determinate unele caracteristici morfologice specifice.

Cuvinte-cheie: sistematizare, gen, specii, caracteristici morfologice.

SOME ASPECTS OF TAXONOMICAL STUDYING GENUS *ANABAENOPSIS*

This article reflects a systematization of the results presented in the literature in the field. The research approaches genus *Anabaenopsis* by studying history, systematic changes, highlighting the number of species and taxa of algae that are assigned of genre and some specific morphological characteristics.

Keywords: systematization, genus, species, morphological characteristics.

Introducere

Studierea genului *Anabaenopsis* debutează la începutul secolului XX. Primele încercări de a selecta unele specii de alge cianofite cu caracteristici morfologice specifice și de a le separa în calitate de secție a genului *Anabaena* Bory, cu denumirea de *Anabaenopsis* Wolosz., au fost efectuate de către J.Woloszinsk (1912). Acest gen nou avea caracteristici morfologice speciale prezentate de prezența, în exclusivitate, a heterocistilor intercalari, ceea ce a servit ca argument în separarea genului. J.Woloszinsk a realizat cercetările sale în baza studierii unor specii tropice planctonice de *Anabaena* din insula Eava din Africa. Astfel, a identificat două forme de alge albastre-verzi, care erau foarte apropiate de *Anabaena circularis* G.S. West (din Africa). Una dintre aceste specii a fost numită var. *javanica* Wolosz., iar cealaltă, care era mai apropiată de *Anabaena tanganyikae* G.S. West (la fel din Africa), a fost numită *Anabaena raciborskii* Wolosz. Astfel, aceste specii descrise de Woloszinsk au fost unite într-o secție nouă numită *Anabaenopsis* Wolosz. [1].

Un aport considerabil la sistematizarea genului *Anabaenopsis* au adus cercetările efectuate de V.V. Miller în anul 1923. În acea perioadă V.V. Miller, nefiind la curent cu rezultatele lui J.Woloszinsk din anul 1912, considera că el a fost primul care a descris și a separat genul *Anabaenopsis*. Aportul lui V.V. Miller în domeniul sistematizării genului *Anabaenopsis* este caracterizat de separarea, descrierea și includerea în cadrul genului a unei specii noi, numite *Anabaenopsis elenkinii* Miller, precum și de caracterizarea trăsăturilor morfologice ale noului gen, transferarea speciilor *Anabaena tanganyikae* și *A. flasaquae* (Lung.) Breb. var. *circularis* G.S. West la rang de gen. Mai apoi, V.V. Miller a considerat că genurile *Cylindrospermum* și *Anabaenopsis* sunt în relații morfologice mai apropiate decât genul *Anabaena* [2].

A urmat apoi o perioadă în care unii cercetători susțineau ideea de separare a genului, iar alții o respingeau. În acest context, L.Geitler (1925) [3] considera că genul *Anabaenopsis* este diferit și trebuie separat de genurile *Anabaena* și *Cylindrospermum*, deoarece posedă heterocisti la fiecare capăt al trihomului. Mai târziu, M.Drew [4] a considerat că speciile *Anabaenopsis hispanica* Gonz.-Guerr. și *A. cuatrecasasii* nu trebuie să facă parte din genul *Anabaenopsis*, propunând includerea acestora în genul *Cylindrospermum*. În aceeași perioadă, P.Fremy [5] în studiile sale susținea ideea că genul *Anabaenopsis* se deosebește de genul *Cylindrospermum* prin caracteristici morfologice variate, considerându-le genuri separate. În cea de a doua monografie a sa, intitulată *Cyanophyceae* (1932), L.Geitler considera, la fel, că genul *Anabaenopsis* este independent și trebuie separat de genul *Cylindrospermum*, deoarece posedă caracteristici morfologice care îl deosebesc de acesta [6].

Algologul spaniol P.González Guerrero [7], studiind, în anul 1928, fitoplanctonul din Spania și Maroc, descrie încă două specii noi ale genului *Anabaenopsis*, și anume: *Anabaenopsis hispanica* Gonz.-Guerr. și *A. cuatrecasasii*.

Algologul american Taylor (1932), studiind fitoplanctonul din regiunea tropicală, a descris trei specii noi ale genului *Anabaenopsis*, și anume: *Anabaenopsis Cunningtonii* Tayl. (din Africa), *A. luzonensis* Tayl. și *A. philippinensis* Tayl. (din regiunea Filipine) [8].

Cercetări în domeniul studierii genului *Anabaenopsis* au fost efectuate și de către E.E. Elenkin. Inițial, în anul 1923, E.E. Elenkin considera că genul *Anabaenopsis*, de alt fel ca și genul *Cylindrospermum*, sunt secții ale genului *Anabaena*. Mai apoi, în anul 1938, după ce autorul a studiat lucrările publicate de V.V. Miller (din anul 1923) și a depistat noi reprezentanți ai genului *Anabaenopsis* pe teritoriul URSS, a considerat genul *Anabaenopsis* ca o unitate taxonomică separată, care, deși se aseamănă cu genurile *Cylindrospermum* și *Anabaena*, posedă caracteristici morfologice care îl deosebesc de cele două genuri. Acestea fiind caracterizate de formarea la jumătatea filamentului a heterocistilor intercalari pereche, care pot separa filamentele în doi trihomi fiică. Dezintegrarea trihomului mamă, care este înzestrat la ambele capete cu câte un heterocist terminal, de obicei are loc la jumătatea filamentului, în locul unde se formează heterocistii intercalari care se despart unul de altul. Astfel, fiecare din trihomul fiică, poartă la un capăt unul dintre foștii heterocisti intercalari care se transformă în terminali, iar la celălalt capăt un heterocist vechi, mamă, care corespunde jumătății de trihom divizată. În felul acesta se repetă acest proces și se produce majorarea cantitativă a biomasei speciilor pe calea reproducerii vegetative. La unele specii, cum ar fi, de exemplu, *Anabaenopsis Arnoldii*, acest proces diferă puțin prin faptul că dezmembrarea trihomilor se produce frecvent, dar nu între heterocistii pereche, ci la una dintre granițele dintre ei și celulele vegetative. Ca rezultat, una dintre celulele fiice are la un capăt heterocist pereche, iar la celălalt un simplu trihom fiică, care la un capăt este lipsit de heterocisti, iar la celălalt poartă heterocistul terminal vechi. În acest fel, în legătură cu diferența dintre heterocistii pereche, E.E. Elenkin propune divizarea genului *Anabaenopsis* în două secții, și anume: 1) *Bietherocystae intercalares* – caracterizat prin legătura medie între heterocisti, care se formează în cantități mari și se păstrează mult timp în trihomi lungi (aici poate fi inclusă doar o specie – *Anabaenopsis Arnoldii* Aptek); 2) *Monoheterocystae terminales*, caracterizate prin legătura slabă între heterocistii intercalari, care cad ușor și se desfac după producerea lor. În rezultat, trihomii sunt de obicei scurți, cu un heterocist singular terminal la ambele capete (aici fiind incluse speciile *Anabaenopsis circularis* (G.S. West) Wolosz., *A. Elenkinii* V. Miller, *A. Miller* Woronich., *A. kulundinensis* Woronich. nom. mut., *A. Issatschenkoi* Woronich., *A. Sturmiae* Woronich. [9].

Mai târziu Voronichin (1934), studiind fitoplanctonul lacurilor minerale ale Siberiei, a identificat încă două specii ale genului *Anabaenopsis*, și anume: *A. sturmiae* Woronich. și *A. issatschenkoi* Woronich. [7].

Dacă până în anul 1923 erau cunoscute doar trei specii exotice (*Anabaenopsis circularis*, *A. tanganyikae* și *A. raciborskii*), atunci către anul 1935 erau deja 11 specii, iar până în anul 1980 au fost descrise încă 20 de specii noi.

După anul 1935 au fost realizate profunde cercetări botanice temeinice în vederea descrierii și sistematizării genului *Anabaenopsis*, care au rezultat cu identificarea și descrierea mai multor specii noi.

În a doua jumătate a sec. XX N.Jeeji Bay (1980) realizează un studiu taxonomic de revizuire a genului *Anabaenopsis*, analizând următoarele specii și varietăți: *A. elenkinii* Miller (1923), *A. kulundinensis* Woronichin in Elenkin (1938), *A. hungarica* Halasz (1939), *A. woltereckii* Behre (1956), *A. intermedia* Kogan (1967), *A. kelifii* Kogan (1962), *A. milleri* Woronichin (1929), *A. arnoldii* f. *rossica* Aptekarj in Elenkin (1938), *A. arnoldii* v. *natrophila* Kol (1929), *A. arnoldii* v. *indica* Ramanathan (1938), *A. arnoldii* v. *javanica* (Wolosz.) Taylor (1932), *A. arnoldii* f. *africana* Taylor in Elenkin (1938), *A. arnoldii* f. *philippinensis* Taylor in Elenkin (1938), *A. arnoldii* f. *kisseleviana* Elenkin (1938), *A. circularis* (G.S. West) Miller sensu Taylor (1932), *A. circularis* var. *indica* Nair (1967), *A. luzonensis* Taylor (1932), *A. magna* Evans (1962), *A. teodorescui* Moruzi (1960), *A. peruviana* Tutin (1940), *A. venkataramanii* Chandhyok (1966), *A. elenkinii* f. *curta* Dedusenko (Dedusenko-Shegoleva 1959), *A. elenkinii* f. *ovalispora* Dedusenko (Dedusenko-Shegoleva 1959), *A. circularis* f. *recta* Fukushima (1954, Sc. resear. Ozegahara Moor, p.622-624), *A. arnoldii* v. *recta* (1928), *A. hispanica* Gonzales-Guerrero (1928), *A. cuatrecasasii* Gonzales-Guerrero (1928), *A. issatschenkoi* Woronichin (1934, after Elenkin 1938), *A. sturmiae* Woronichin (1934, after Elenkin 1938). În rezultatul analizelor morfologice autorul constată că specia *A. arnoldii* v. *indica* este sinonimă cu specia *A. magna* Evans, iar *A. teodorescui*, *A. venkataramanii*, *A. milleri* și *Anabaena knipoeitschii* sunt sinonime cu *A. arnoldii* Aptekarj, *A. intermedia*, *A. peruviana* și *A. nedsonii* este sinonimă cu *A. elenkinii* Miller, iar *A. kelifii*, *A. hungarica* și *A. circularis* v. *indica* se reduc la forma *A. elenkinii* [10].

Actualele cercetări sistematice bazate pe analize moleculare propun modificări profunde ale sistematicii genului *Anabaenopsis*. În sistematica bacteriologică unii autorii, în rezultatul analizelor moleculare la 11 specii

ale genurilor *Anabaenopsis* și *Cyanospira*, sugerează atribuirea celor două genuri la un singur gen, argumentând modificarea prin faptul că aceste două genuri de alge au un grad ridicat de similitudine a secvențelor [11]. Pentru clarificarea acestei probleme, recent au fost efectuate cercetări comparative ale genurilor *Anabaenopsis* și *Cyanospira*, bazate pe analiza morfologică și cea filogenetică secvențială. Rezultatele indicatorilor morfologici au demonstrat deosebiri substanțiale dimensionale și ale ciclului de dezvoltare. Rezultatele analizei filogenetice secvențiale au prezentat că doar specia *Anabaenopsis abijatae* este asemănătoare cu specia *Cyanospira rippkae*, iar celelalte specii analizate de autori sunt diferite. Astfel, se constată că genurile *Anabaenopsis* și *Cyanospira* sunt diferite și nu pot fi considerate ca un singur gen [12].

Revizuirea numerică a speciilor de alge din genul *Anabaenopsis* a identificat variații și în funcție de sursa de informare analizată. În Registrul Internațional al Speciilor Marine, de exemplu, sunt înregistrate 32 de specii ale genului *Anabaenopsis*, și anume: *A. abijatae* Kebede & Willén (1996), *A. ambigua* Pandey & Mitra (1962), *A. arnoldii* Aptekar (1926), *A. circularis* (G.S. West) Woloszyńska & V. Miller (1923), *A. cuatrecasii* P. González (1928), *A. doliiformis* Noda (1963), *A. elenkinii* V.V. Miller (1923), *A. hispanica* P. González (1928), *A. hungarica* Halász (1939), *A. indica* Chintamani (1979), *A. intermedia* Kogan (1967), *A. issatschenkoi* Woronichin (1934), *A. kelifii* Kogan (1962), *A. knipowitschii* (Usachev) Komárek (2005), *A. kogonii* Obukhova (1964), *A. luzonensis* W.R. Taylor (1932), *A. magna* J.H. Evans (1962), *A. maksimilianii* Obukhova & Kosenko (1964), *A. milleri* Woronichin (1929), *A. nadsonii* Woronichin (1929), *A. peruviana* Tutin (1940), *A. raciborskii* Woloszyńska (1912), *A. rippkae* (Florenzano, Sili, Pelosi & Vincenzini) Komárek (2005), *A. seriata* Prescott (1955), *A. sturmiæ* Woronichin (1934), *A. tanganyikæ* (G.S. West) Woloszyńska & V.V. Miller (1923), *A. teodorescui* Moruzi (1960), *A. venkataramanii* Chandhyok (1966), *A. woltereckii* Behre (1956), *A. wustericum* Obukhova (1964), *A. circularis* (G.S. West) Woloszyńska & V. Miller (1923), *A. nadsonii* Woronichin (1929) [13]. Pe saitul www.cyanodb.cz [14] sunt înregistrate 20 de specii ale genului, după cum urmează: *Anabaenopsis abijatae* Kebede et Willén (1996), *Anabaenopsis arnoldii* Aptekar' (1926), *Anabaenopsis ambigua* Pandey et Mitra (1962), *Anabaenopsis doliiformis* Noda (1963), *Anabaenopsis circularis* (G.S. West) Woloszyńska et Miller in Miller (1923), *Anabaenopsis cunningtonii* Taylor (1932), *Anabaenopsis elenkinii* Miller (1923), *Anabaenopsis hungarica* Halász (1939), *Anabaenopsis intermedia* Kogan (1967), *Anabaenopsis issatschenkoi* Woronichin (1934), *Anabaenopsis kelifii* Kogan (1962), *Anabaenopsis knipowitschii* (Usachev) Komárek (2005), *Anabaenopsis luzonensis* Taylor (1932), *Anabaenopsis magna* Evans (1962), *Anabaenopsis milleri* Woronichin (1929), *Anabaenopsis nadsonii* Woronichin (1929), *Anabaenopsis tanganyikæ* (G.S. West) Miller (1923), *Anabaenopsis teodorescui* Moruzi (1960), *Anabaenopsis venkataramanii* Chandhyok (1966), *Anabaenopsis woltereckii* Behre (1956). În afară de cele 20 de specii menționate mai sus, sunt specificați 6 taxoni care sunt considerați neclari. Aceștia sunt reprezentați de speciile: *Anabaenopsis arnoldii* var. *recta* Roll (1928), *Anabaenopsis circularis* var. *javanica* (Woloszyńska) Elenkin, *Anabaenopsis circularis* var. *luteola* Gonzalez-Guerrero, *Anabaenopsis cuatrecasii* Gonzalez-Guerrero, *Anabaenopsis hispanica* Gonzalez-Guerrero, *Anabaenopsis sturmiæ* Woronichin (1934). Prezenta sursă exclude speciile *Anabaenopsis philippinensis* Taylor (1932) și *Anabaenopsis gangetica* Nair (1967), considerându-le ca fiind specii de *Cylindrospermopsis philippinensis* și *Cylindrospermopsis curvispora*, care fac parte din genul *Cylindrospermum*.

Cea mai recentă revizuire sistematică a genului *Anabaenopsis* a fost realizată de către J. Komárek [15]. Autorul a realizat sistematizarea genului în baza analizei indicatorilor moleculari și morfologici. În rezultatul acestor cercetări din cele 33 de specii (și mai bine de 50 de taxoni) descrise până la moment au fost excluși 15 taxoni care au fost transferați la alte genuri. Astfel, în cadrul genului *Anabaenopsis* au fost recunoscute următoarele specii: *Anabaenopsis tanganyikæ* (G.S. West) Miller (1923), *Anabaenopsis cunningtonii* Taylor (1932), *Anabaenopsis ambigua* Pandey et Mitra (1962), *Anabaenopsis circularis* (G.S. West) Woloszyńska et Miller in Miller (1923), *Anabaenopsis woltereckii* Behre (1956), *Anabaenopsis hungarica* Halász (1939), *Anabaenopsis nadsonii* Woronichin (1929), *Anabaenopsis elenkinii* Miller (1923), *Anabaenopsis kelifii* Kogan (1962), *Anabaenopsis luzonensis* Taylor (1932), *Anabaenopsis doliiformis* Noda (1963), *Anabaenopsis intermedia* Kogan (1967), *Anabaenopsis venkataramanii* Chandhyok (1966), *Anabaenopsis milleri* Woronichin (1929), *Anabaenopsis rippkae* (Florenzano et al.) comb. nova, *Anabaenopsis arnoldii* Aptekar' (1926), *Anabaenopsis knipowitschii* (Usachev) comb. nova, *Anabaenopsis teodorescui* Moruzi (1960), *Anabaenopsis magna* Evans (1962), *Anabaenopsis issatschenkoi* Woronichin (1934), *Anabaenopsis abijatae* Kebede et Willén (1996).

Concluzii

Taxonomia genului *Anabaenopsis* a evoluat în timp datorită studiilor morfologice temeinice realizate pe parcursul secolului XX. Dacă inițial au fost evidențiate doar două specii de alge, atunci actualmente se cunosc peste 30 de specii și taxoni. O revizuire temeinică a speciilor din genul *Anabaenopsis* s-a produs la începutul sec. XXI, care are la bază atât aspectele morfologice, cât și, îndeosebi, caracteristicile indicatorilor acizilor nucleici, care oferă o viziune mai clară asupra reprezentanților genului.

Genul *Anabaenopsis* a fost și rămâne a fi studiat din punct de vedere taxonomic, deoarece este reprezentat de un număr considerabil de alge cianofite, care au variații morfologice și genetice specifice, prezentând interes în sistematizare și în evoluția lumii vegetale.

Referințe:

1. WOLOSZYNSKA, J. Das phytoplankton einiger javanischer Seen, mit berucksichtigung des sawa-planktons. In: *Buletin acad. sci. Cracovie. mat.-nat. ser.*, 1912, p.649-709.
2. МИЛЛЕР, В.В. *К систематике рода Anabaena. Русский архив протистологии.* Москва, 1923. 245 с.
3. GEITLER, L. Synoptische Darstellung der Cyanophyceen, etc. In: *Beih. Bot. Zbl.*, 1925, p.163.
4. DREW, M. The occurrence of heterocysts and spores at both ends of the filament in the genus *Cylindrospermum* Kütz. In: *Rev. Algol.*, 1930, vol.143, p.120-125.
5. FREMY, P. *Les Myxophycees de l' Afrique equatoriale francaise.* Caen: édit. des "Archives de botanique, 1930. 509 p.
6. GEITLER, L. *Cyanophyceae.* Dr L. Rabenhorsts *Kryptogamen-Flora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz.* Vol. XIV. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1932. 1196 p.
7. GONZÁLEZ GUERRERO, P. El Género *Anabaenopsis* (Wolosz) V. Miller en España. In: *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat.*, t. XXVIII, Madras, p.357-438.
8. TAYLOR, R.W. Notes on the genus *Anabaenopsis*. In: *Amer. J. Bot.*, 1932, no.19, p.454-463.
9. ЕЛЕНКИН, А.А. *Синезеленые водоросли СССР, Монография пресноводных и наземных Cyanophyceae, обнаруженных в пределах СССР.* Специальная (систематическая) часть. Москва: Изд-во Академии Наук СССР, 1938. 984 с.
10. BAY, J. Taxonomic studies on the genus *Anabaenopsis*. In: *Taxonomy of algae, Madras*, 1980, p.115-142.
11. SILI, C., MASCALCHI, C., VENTURA, S. Evolutionary differentiation of the sister cyanobacterial genera *Cyanospira* Florenzano, Sili, Pelosi et Vincenzini and *Anabaenopsis* (Woloszyńska) Miller in response to extreme life conditions. In: *J. Fottea*, 2011, no.11(1), p.107-117.
12. ITEMAN, I., RIPPKA, R., TANDEAU de MARSAC, N., HERDMAN, M. rDNA analyses of planktonic heterocystous cyanobacteria, including members of the genera *Anabaenopsis* and *Cyanospira*. In: *J. Microbiology*, 2002, no.148(Pt 2), p.481-496.
13. <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=146590>.
14. <http://www.cyanodb.cz/Anabaenopsis>
15. KOMÁREK, J. Phenotype diversity of the heterocytous cyanoprokaryotic genus *Anabaenopsis*. In: *Czech Phycology, Olomouc*, 2005, no.5, p.1-35.

Prezentat la 14.06.2016

CZU: 633.85: 665.5

РАСТЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПО СОДЕРЖАНИЮ ЦИТРАЛЯ В ЭФИРНОМ МАСЛЕ

Елена ПЕЛЯХ, Виктор МЕЛНИК,
Василий ЧОБАНУ, Ион УНГУРЯНУ*

Молдавский государственный университет

*Государственный университет медицины и фармации им. Н.Тестемицану

PLANTE DE PERSPECTIVĂ CU CONȚINUT DE CITRAL ÎN ULEIUL ETERIC

În lucrare sunt prezentate rezultatele studierii diferitelor specii de plante din flora spontană și de cultură a Moldovei. Speciile studiate sunt valoroase atât din punct de vedere științific, cât și economic prin acumularea uleiurilor eterice cu conținut de citral, linalool, geraniol, citronellol ca componente principale.

Cuvinte-cheie: uleiuri eterice, citral, linalool, geraniol, citronellol, floră spontană.

PLANTS PERSPECTIVE WITH CONTENT FROM CITRALI IN OIL ETHEREAL

In this paper are exposed the results of researches to the chemical composition of some widely growing plants. All studied species are of interest because synthesize very important biologically active substances, such as citral, linalool, geraniol, citronellol etc.

Keywords: essential, citrali, linalool, geraniol, citronellol, spontaneous.

Ароматические растения и их виды применялись с древнейших времен и в настоящее время широко используются в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Несмотря на появление синтетических аналогов компонентов эфирных масел, спрос на натуральные биологически активные вещества продолжает возрастать [1].

Одним из широко применяемых в различных областях является цитраль – ациклический монотерпеновый альдегид, используемый как душистое вещество в парфюмерии и как ароматизатор в пищевой промышленности; как антисептик, как сырье для получения витамина А и многих душистых веществ (иононов, гераниола, цитронеллола и др.); применяется он и в педиатрической практике [1,2]. Выделяют цитраль из эфирных масел лимонного, эвкалиптового, лимонного сорго, т.е. из растений отличных от Молдовы климатических зон. Получают цитраль также окислением кориандрового масла. О преимуществах мятного линалоольного масла по сравнению с кориандровым мы говорили ранее [3].

На протяжении ряда лет мы изучали дикорастущие эфиромасличные растения местной флоры, а также интродуцированные виды. Растения собирали в естественной среде обитания, высаживали на Биологической станции университета, в дальнейшем изучали их биологические особенности и биохимические характеристики. Компонентный состав эфирного масла определяли методами, принятыми для изучения терпеноидов [4,5]. В настоящей статье отражены результаты по нескольким перспективным видам эфиромасличных растений, синтезирующим ациклические монотерпеноиды.

Мелисса лекарственная *Melissa officinalis* L.

Растение обладает чрезвычайно низкой эфиромасличностью, однако представляет большой интерес благодаря прекрасному аромату его листьев, так как в эфирном масле содержатся соединения группы цитраля.

В составе эфирного масла мелиссы лекарственной в качестве основных компонентов обнаружены цитраль-А, цитраль-В, цитронеллаль лавандулил-изо-валерианат, фарнезен и в меньших количествах – линалоол, линалилацетат, фарнезол, фарнезилацетат.

Изучено изменение качественного состава эфирного масла за вегетационный период. Отметим, что фазы вегетации у мелиссы выражены нечетко. Одновременно на кусте присутствуют и цветущие, и отцветающие, и только лишь бутонизирующие соцветия, поэтому деление на фазы приблизительное, с учетом наибольшего числа соцветий в одной фазе.

Таблица 1

Изменение состава эфирного масла мелиссы за вегетационный период

| Фаза вегетации | Выход э.м., % | Фарнезен, % | Цитраль, % | Лавандулил-изо-валерианат, % | Фарнезол | Фарнезил-ацетат, % |
|----------------|---------------|-------------|------------|------------------------------|----------|--------------------|
| Бутонизация | 0,3 | 26,1 | 17,1 | 20,2 | 14,0 | 7,6 |
| Цветение | 0,03 | 21,7 | 9,6 | 17,9 | 4,8 | 4,7 |
| Отцветание | 0,05 | 30,1 | 25,7 | 5,1 | 5,4 | 3,8 |

Наиболее благоприятный период для сбора растений – фаза бутонизации, так как во время массового цветения содержание эфирного масла значительно снижается, что отличает мелиссу от многих эфиромаслических растений. В этот период установлено также высокое содержание цитраля (суммарно А и В) – 17,1% и лавандулил-изо-валерианата – 20,2%, которые и придают лимонный аромат всему растению.

При изучении семенного потомства от самоопыления мелиссы было установлено, что компонентный состав эфирного масла остается постоянным, а меняется лишь его количественное соотношение. Выделены сеянцы, отличающиеся повышенным содержанием цитраля при более высокой эфиромасличности.

При сравнении различных способов размножения мелиссы установлено, что вегетативный способ – наиболее рациональный. При этом происходит закрепление в потомстве определенных свойств и омоложение куста, что удлиняет сроки выращивания мелиссы.

Котовник кошачий *Nepeta cataria* L.

Это хорошо известное и широко применяемое растение. Размножается этот вид котовника только семенами, образуя кусты высотой до 1 м с толстыми грубыми стеблями, на долю которых приходится 50% веса куста. Растение вегетирует 2-3 года, после чего погибает.

Химический состав эфирного масла зависит от зоны возделывания, погодных условий. По литературным данным основными компонентами эфирного масла этого вида являются цитронеллол (50%), цитраль (10%), гераниол (12%) и другие ациклические монотерпеноиды, но также приводятся сведения о 79% непеталактона и следовых количествах ациклических терпеноидов [6]. У нашего экотипа основными компонентами эфирного масла являются непеталактон (до 60%), цитраль (5%), цитронеллол (4%), гераниол (9%-18%%).

Котовник закавказский *Nepeta transcaucasica* Grossch.

Этот вид котовника, произрастающий в диком виде на Кавказе, успешно интродуцирован в Молдове и хорошо приживается и размножается в естественных условиях.

Котовник закавказский от котовника кошачьего отличается значительно более высокой эфиромасличностью – до 1,5%, т.е. в 5 раз.

Основными компонентами эфирного масла котовника закавказского являются цитраль и цитронеллаль. За вегетационный период происходят определенные изменения в количественных соотношениях компонентов эфирного масла.

Таблица 2

Изменчивость эфирного масла котовника закавказского за вегетационный период

| Фаза вегетации | Выход э.м., % | Цитраль, % | Спирты свободные, % | Спирты связанные, % |
|-------------------|---------------|------------|---------------------|---------------------|
| Бутонизация | 1,3 | 15,6 | 57,0 | 21,6 |
| Начало цветения | 0,9 | 10,7 | 65,6 | 12,5 |
| Массовое цветение | 0,8 | 8,1 | 79,2 | 0,6 |
| Отцветание | 0,9 | 86,5 | 57,1 | 1,8 |

Котовник закавказский легко размножается вегетативным путем – делением куста, при этом черенки развиваются лучше сеянцев. Размножение черенками позволяет создать плантацию, выравненную

и по количеству, и по качеству эфирного масла. При делении куста могут получиться 30-40 саженцев. При семенном размножении неизбежно происходит расщепление и появляются сеянцы, накапливающие в эфирном масле в основном непеталактон.

С плантаций котовника закавказского можно получать по 2 укоса – в начале июня и в августе, т.к. кусты быстро отрастают и повторно цветут.

Таблица 3

Количество эфирного масла и основных компонентов по срокам уборки

| Сроки сбора | Выход э.м., % | Цитраль, % | Спирты, % |
|-------------|---------------|------------|-----------|
| 19.05.15 | 0,8 | 8,1 | 79,2 |
| 28.07.15 | 1,0 | 8,5 | 77,9 |
| 28.08.15 | 1,1 | 13,7 | 68,9 |

Плантации котовника закавказского могут эксплуатироваться долгие годы (10-12 лет), и растения будут сохранять свою продуктивность.

Змееголовник молдавский *Dracosephalum moldavica* L.

Однолетнее растение, размножающееся семенами. Семена высеивают прямо в грунт ранней весной в третьей декаде марта – первой декаде апреля. Первоначальная эфиромасличность растения – 0,0%, варьирование по годам составляет 0,7-1,2%. Эфирное масло светло-желтого цвета с приятным лимонным запахом и характеризуется следующими показателями: удельный вес – 0,9127; коэффициент рефракции – 1,4865; угол вращения поляризованного луча +5°.

В составе эфирного масла установлены следующие компоненты: пинен, линалоол, цитраль-А, цитраль-В, геранилацетат, гераниол. Содержание цитраля в среднем у популяции 42%, у отдельных сеянцев отмечается варьирование от 19% до 65%; геранилацетата – 48%, варьирование 20%-65%. При этом отмечается обратная корреляция между содержанием цитраля и геранилацетата.

За период вегетации наибольшее количество эфирного масла синтезируется в фазе массового цветения, затем оно резко снижается. Отметим, что при высушивании происходит значительная потеря эфирного масла – до 50%.

Таблица 4

Изменчивость содержания эфирного масла и основных компонентов змееголовника за вегетацию (высушенные растения)

| Фаза вегетации | Содержание эфирного масла | Цитраля, % | Геранилацетата, % |
|--------------------------|---------------------------|------------|-------------------|
| До бутонизации | 0,6 | 42,7 | 49,2 |
| Бутонизация | 0,4 | 34,1 | 54,9 |
| Массовое цветение | 0,6 | 45,4 | 52,0 |
| Отцветание | 0,3 | 52,5 | 39,6 |
| Молочная зрелость семян | 0,2 | 62,3 | 26,8 |
| Физиологическая зрелость | 0,2 | 66,9 | 23,5 |

Чабрец ползучий лимонный *Thymus serpyllum* v. *citriodora* L.

Вид распространен повсеместно в степях, на лесных полянах, в светлых лесах каменистых склонов Молдовы. Чабрец ползучий с лимонным запахом был собран нами в Хынчештском районе, размножен вегетативно на Биологической станции университета. Растение отличается приятным лимонным ароматом. В состав его эфирного масла входят следующие компоненты: цитраль-А (8,7%), цитраль-В (17,0%), цитронеллол (16,1%), линалоол (17,5%), гераниол (17,0%), геранилацетат (30,7%), которые и определяют лимонно-цветочный аромат растения.

Полынь лимонная туркменская *Artemisia balhanorum* Krasch

Растение эндемичное, в естественных условиях произрастает только в Туркмении по склонам хребта Большие Балханы. Семена полыни были собраны в месте её произрастания и выращивались на Биологической станции университета.

Полынь лимонная – сильноветвящийся многолетний кустарник высотой 50-80 см. Цветение начинается в первый год вегетации. Цветет в октябре, семена созревают в декабре. Нами проводились опыты по выращиванию данного вида полыни разными способами: посевом семян в грунт, рассадой, черенкованием. Обнаружено, что при семенном размножении происходит расщепление эфирного масла по компонентному составу и появляются сеянцы, синтезирующие туйон, туйол и некоторое количество пинена, что и формирует характерный запах полыни горькой. Для создания чистосортных плантаций полыни лимонной её необходимо размножать вегетативным способом.

Растения полыни лимонной обладают приятным цитрусовым ароматом с нотками апельсина, лимона, ананаса ввиду наличия в эфирном масле цитраля, цитронеллола, линалоола, гераниола. Эфиромасличность полыни лимонной варьирует по годам, составляя 0,8% – 2,0%. Кроме того, отмечено и значительное варьирование количества основных компонентов в её эфирном масле (Табл. 5)

Таблица 5

Характеристика эфирного масла изучаемых растений

| Наименование растения | Выход э.м., % | Основные компоненты эфирного масла | Содержание компонента, % |
|---|---------------|--|--|
| Мелисса <i>Melissa officinalis</i> L. | 0,25 – 0,5 | Фарнезен Фарнезол Фарнезилацетат Лавандулил-изо- валерианат Цитраль | 20,0 – 30,0 4,0 – 14,2 4,0 – 8,5 5,0 – 20,3 9,2 – 25,0 |
| Котовник кошачий <i>Nepeta cataria</i> L. | 0,3 – 0,5 | Непеталактон Гераниол Цитраль Цитронеллол | 32,4 – 60,0 9,0 – 18,2 5,4 – 27,5 3,8 – 12,7 |
| Котовник закавказский <i>Nepeta transcaucasica</i> Grossch | 0,8 – 1,4 | Цитраль Цитронеллол | 8,1 – 24,6 21,6 – 54,8 |
| Змееголовник молдавский <i>Dracocephalum</i> <i>moldavica</i> L. | 0,6 – 1,5 | Цитраль Геранилацетат Нерол | 34,0 – 67,2 23,0 – 52,3 2,5 – 7,0 |
| Полынь лимонная <i>Artemisia balhanorum</i> Krasch | 0,8 – 2,0 | Линалоол Цитраль Цитронеллол Геранилацетат Гераниол | 26,0 – 71,4 14,8 – 69,5 12,2 – 36,9 7,5 – 23,5 17,2 – 30,5 |
| Чабрец лимонный <i>Thymus serpyllum</i> var. <i>citriodora</i> L. | 0,8 – 1,0 | Цитраль Линалоол Гераниол Цитронеллол | 12,7 – 24,0 22,5 – 38,8 5,7 – 34,0 8,0 – 17,3 |

В результате селекционной работы была выделена группа сеянцев с высоким содержанием эфирного масла (2,2%-2,5%) и цитраля в нем (32,1%-40,0%), что, несомненно, представляет определённый практический интерес.

Почвенно-климатические условия Молдовы благоприятны для произрастания многих эфиромасличных культур, и дикорастущая флора является неиссякаемым источником сырьевых ресурсов [7,8]. Привлечение дикорастущих видов, введение их в культуру позволит расширить ассортимент эфиромасличных и лекарственных растений.

Литература:

1. BOZIN, B., MIMICA DUK, N., SIMIN, N., ANACKOV, G., Characterisation of Volatile Composition of Essential Oils of some Lamiacea Species and Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils. In: *J. of Agr. and Food Chem.*, 2006, no.54, p.1822-1828.
2. BRUNETON, I. *Pharmacognosy. Phytochemistry. Medicinal Plants*. 2nd ed. London, Paris, New York: Intercept LTD, p.999.
3. ПЕЛЯХ, Е.М., ЧОБАНУ, В.И. Дикорастущие виды и гибриды мяты как источник линалоола. В: *Вестник Ярославского регионального отделения РАЕН*, 2013, т.7, №2, с.86-89.
4. БОДРУГ, М.В. *Дикорастущие эфиромасличные растения Молдавии*. Кишинев: Штиинца, 1981. 142 с.
5. GUILLEN, M., CABO, N., BURILLO, J. Characterisation of essential oils of some cultivated aromatic Plants of industrial interest. In: *J. Sci. Food Agric.*, 1996, no.70, p.359-363.
6. Ibidem.
7. VINOGRADOV, B., VINOGRADOVA, N., GOLAN, L. *Aromatherapy (Educational Course)*. AND Group Inc., 1996. 450 p.
8. ГОРЯЕВ, М., ПЛИВА, И. *Методы исследования эфирных масел*. Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1962. 752 с.

Prezentat la 13.10.2016

CZU: 581.1: 576.8

CARACTERISTICA GENOMULUI LA OROBANCHACEAE*Maria DUCA, Angela PORT, Steliana CLAPCO, Adriana ACCIU**Universitatea Academiei de Științe a Moldovei*

În prezenta lucrare au fost analizate în plan comparativ cercetările expuse atât în publicații științifice, cât și în trei proiecte din bazele de date publice: *Angiosperm Phylogeny Website*, versiunea 13, *Parasitic Plant Connection* și *Parasitic Plant Genome Project*, fiind trasate anumite dependențe corelative dintre gradul de parazitism și tendințele evoluției genomului. S-a concluzionat că numărul de cromozomi, prezența unor introni, deleția unor regiuni din genomul plastidic furnizează informații utile în studiul mecanismelor evoluției genomului, apartenenței taxonomice specifice etc.

Cuvinte-cheie: *Orobanchaceae*, parazitism, evoluție, genom, plastom, condriom, transfer de gene.

CARACTERISTICS OF THE GENOME OF OROBANCHACEAE

The researches both from the scientific publications and three projects included in public databases: *Angiosperm Phylogeny Website*, version 13, *Parasitic Plant Connection*, *Parasitic Plant Genome Project* have been analysed and some correlation between degree of parasitism and genome evolution of *Orobanchaceae* have been highlighted. It has been concluded that number of chromosomes, presence of introns, deletion of some regions of plastid genome, provides useful information for studying of genome evolution mechanisms, specific taxonomic affiliations etc.

Keywords: *Orobanchaceae*, parasitism, evolution, genome, plastome, condriome, gene transfer.

Introducere

Antofitele parazite reprezintă un grup de plante slab studiat, interesul fiind determinat, în special, de rolul devastator în diminuarea recoltelor agricole. Cercetarea genomului acestor specii s-a axat, până nu demult, în mare parte pe seturi restrânse de gene-candidat, implicând tehnologii *low-throughput* (e.g. *Suppression Subtractive Hybridization*) [1,2]. Dezvoltarea tehnicilor de secvențiere în masă a permis desfășurarea unor studii moleculare de amploare a genomului, transcriptomului, proteomului la un număr tot mai mare de specii. Astfel, a fost lansat proiectul *Parasitic Plant Genome Project* ce vizează elucidarea modificărilor la nivel de genom asociate cu stabilirea modului de viață parazitar. Proiectul a demarat cu transcriptomurile speciilor parazite din 3 genuri diferite ale familiei *Orobanchaceae* (*Triphysaria*, *Striga* și *Orobanche aegyptiaca*) la diferite etape ale invaziei speciei gazdă *Arabidopsis thaliana* [3].

Familia *Orobanchaceae* este atribuită ordinului *Lamiales* și cuprinde un număr estimativ de 2000 de specii [4]. Grație faptului că este unica familie care include întreaga gamă de etape tranziționale evolutive, de la modul de viață autotrof, semiparazit, până la cel holoheterotrof, *Orobanchaceae* prezintă un model pentru studiul evoluției parazitismului, mecanismelor de recunoaștere a gazdei și specificului de diversificare a spectrului de gazde, traficului macromoleculilor și evoluției genomului după pierderea fotosintezei.

În prezenta lucrare au fost analizate în plan comparativ cercetările expuse atât în publicații științifice, cât și în trei proiecte din bazele de date publice: *Angiosperm Phylogeny Website*, versiunea 13 (<http://www.mobot.org/MOBOT/research/>), *Parasitic Plant Connection* (<http://www.parasiticplants.siu.edu/>) și *Parasitic Plant Genome Project* (PPGP, <http://ppgp.huck.psu.edu/>), care oferă informații privind analiza comparativă a genomului plantelor parazite.

Caracteristica genomului nuclear

O trăsătură specifică a genului *Orobanche* și a genurilor înrudite este numărul mare de cromozomi, de la 12, cunoscut la *Aphylon*, *Myzorrhiza* și *Phelipanche*, până la 41 de cromozomi la *Kapsiopsis* [5,6]. Numărul de cromozomi, poliploidia și mărimea genomului sunt înalt variabile în interiorul familiei, constituind obiectivul mai multor studii asupra paraziților din *Orobanchaceae*. Se cunoaște că *Lindenbergia* și *Schwalba* posedă 16 și, respectiv, 18 cromozomi [7,8]. Fiind în majoritate diploide, cu excepția unei specii tetraploide, grupul cel mai apropiat și înrudit de *Orobanchaceae* – *Rehmania* – conține 14 cromozomi [9]. Conform datelor curente, un număr mai mare de cromozomi este specific reprezentanților din clasa *Orobanche* exclusiv holoparazită, pe când poliploidia este o trăsătură caracteristică semiparaziților (ex. *Castilleja*, *Striga*, *Euphrasia*) [10-12].

Genurile *Lindenbergia*, *Schwalbea* și *Odentites* au cele mai mici genomuri (0,45 – 0,56 Gbp), similare cu dimensiunea genomului plopului și al orezului [7,8,13]. Alte *Orobanchaceae* fotosintetice, precum *Rhinanthus* și *Melampyrum*, depășesc de trei ori mărimea genomului uman [14]. Cel mai mic genom în clasa *Orobanche* holoparazită îl posedă *O. cumana* [6].

Diferențele în mărimea genomurilor de *Orobanchaceae*, similar majorității plantelor, sunt determinate de abundența ADN-ului repetitiv. De exemplu, în speciile de *Striga* (*S. asiatica*, *S. forbesii*, *S. gesnerioides*, *S. aspera*, *S. hermonthica*) ADN-ul repetitiv, reprezentat de elementele transpozabile, constituie aproximativ 10-19% din genomul nuclear [15].

Controlul și mecanismele reglatoare pentru elementele transpozabile sunt taxon-specifice și contribuie pe larg la stabilitatea genomică [16]. Se cunoaște că la unele plante limitările în nutriție afectează structura genomului. În ceea ce privește paraziții obligatorii, grație nutrienților oferiți de planta gazdă, aceste limitări pot să nu condiționeze modificări [17]. În acest context, prezintă interes de a studia dacă evoluția mărimii genomului corelează cu spectrul de gazde sau cu gradul de parazitism.

Plantele poliploide din familia *Orobanchaceae* tind să reducă mărimea genomului monoploid, ceea ce este în congruență cu unele linii de angiosperme poliploide neparazite. Deși mecanismele genetice nu sunt bine descifrate, se consideră că reducerea mărimii genomului poate avea cauze de natură biofizică sau biochimică (de ex., împerecherea cromozomilor în mitoză și meioză) [18,19]. La *Orobanchaceae* cele mai frecvente procese de creștere și descreștere a numărului de cromozomi sau a mărimii genomului s-au constatat în clasa *Orobanche*.

Caracteristica genomului extranuclear

Cromozomul plastidic (plastomul) la angiosperme are o structură înalt conservată și codifică proteine ale: subunităților aparatului fotosintetic (fotosisteme, complexul citocromic, ATP sintaza și complexul NAD(P)H), metabolismului lipidic, ribozomilor, complexului polimerazic, *procesing*-ului transcripturilor (*matK*, *infA*, *clpP*, *yef3*, *yef4*). Două dintre cele mai mari gene din genomul plastidic *ycf1* și *ycf2* prezintă un înalt grad de conservatism de secvență atât la plantele fotosintetice, cât și la cele nefotosintetice [20]. Funcția acestora nu este cunoscută, dar se presupune că ele nu posedă funcții metabolice, fiind implicate în procese *housekeeping* [21]. Adicional, genomul plastidic include două seturi pentru patru gene codificatoare de ARN ribozomal și 30 de gene pentru ARNt [22].

Grație naturii sale compacte și rolului primar în fotosinteză, o atenție deosebită s-a acordat evoluției genomurilor plastidice ale plantelor lipsite de fotosinteză. Încă în anul 1990 Pamphilis și Palmer au raportat despre pierderea tuturor genelor codificatoare pentru complexul dehidrogenazic NAD(P)H plastidic din plastomul holoparazitului *Epifagus virginiana*. Pierderile masive de gene au condus la reducerea aproximativ în jumătate a genomului față de speciile fotosintetice înrudite. De exemplu, mai multe gene codificatoare ale aparatului genetic sunt nefuncționale, inclusiv gene pentru ARNt, gene ale complexului polimerazic și unele gene codificatoare pentru proteinele ribozomale. Doar un număr mic de gene înrudite cu cele fotosintetice se mențin în plastom sub formă de pseudogene (de ex., *ΨrbcL* și *ΨatpA*). Cu toate acestea, poziția genelor și a repetițiilor inversate rămâne, în mare măsură, aceeași sau colineară cu cea a plantelor fotosintetice [23,24].

Diferite specii din *Orobanchaceae* posedă plastomuri considerabil diferite după dimensiune, indicând că evoluția reductivă a ADN-ului plastidic este un proces specific. Experiențele de cartare restricțională extensivă au sugerat că *Conopholis americana* posedă un genom plastidic semnificativ mai mic (cca 45 kb) față de ruda sa apropiată *E. virginiana*, datorită pierderii unei repetiții inversate largi [25,26]. Contrar, genomul plastidic al holoparazitului *Lathraea clandestina* are o mărime de circa 100-110 kb, cu sintenia genelor colineară cu *Epifagus* și majoritatea plantelor fotosintetizatoare [27]. În general, liniile de *Orobanchaceae* mai vechi, precum *Epifagus*, posedă o reducere mai mare a plastomului față de liniile evolutiv mai tinere, precum *Lathraea* și *Hyobache* [28].

Numeroase date sunt disponibile pentru gena *rbcL* care codifică subunitatea mare a complexului RuBisCO. Unele linii nefotosintetice (de ex., *Lathraea*, *Harveya*, *Myzorrhiza*) păstrează intact cadrul de citire pentru *rbcL* [13,29,30]. Alte plante nefotosintetizante, inclusiv majoritatea speciilor de *Orobanche*, poartă doar copia pseudogenei, iar unele indică deleția genei *rbcL* din plastom [29,31]. Astfel, s-a presupus o nouă funcție pentru complexul RuBisCO, neasociată cu fotosinteza, dar asociată cu biosinteza aminoacizilor și calea metabolică de glicoliză [28,29]. Conform datelor din literatură, putem conchide că limitarea constrângerilor funcționale și, ulterior, pierderea rapidă a genelor începe după tranziția la stilul de viață heterotrof obligator.

Reorganizările structurale ale ADN-ului plastidic (de ex., inversiile) la plantele parazite au loc cu o rată considerabil mai mică în comparație cu cantitățile de ADN pierdute. Sunt puține rapoarte privind modificările structurale ale plastomului. În general, gradul înalt de conservare structurală constatat pentru majoritatea angiospermelor este valabil și pentru holoparaziții din *Orobanchaceae*, chiar și pentru o durată lungă după pierderea funcției fotosintetice [32].

Genomurile mitocondriale (condriomuri), spre deosebire de plastomuri, sunt foarte predispușe atât la transferul orizontal al ADN-ului, cât și al ADN-ului din alte genomuri celulare, ceea ce le fac subiecte dificile pentru studiile evolutive și filogenetice [33,34].

Se consideră că ADN-ul genomului mitocondrial evoluează, în mod normal, mult mai lent decât ADN-ul nuclear [30]. Totuși, unele holoparazite, cu excepția celor din *Orobanchaceae* (*Epifagus*, *Orobanche* și *Boschniakia*), sunt supuse unei rate ridicate de substituție a nucleotidelor în ARN-ul mic ribozomal, în genele mitocondriale *coxI*, *atp1*, *matR* și exonii B și C ai genei *nad1* [35,36].

Puțin se cunoaște despre modificările micro- și macrostructurale, precum inserții, deleții și inversii în ADN-ul mitocondrial codificator și necodificator la plantele parazite. Este remarcabil faptul că plantele parazite au un intron în gena *coxI* caracteristic pentru zece dintre cele 12 linii de angiosperme la care parazitismul a evoluat independent [35]. Majoritatea modificărilor structurale genetice la paraziți au avut loc prin transferul orizontal de la plantă la plantă. Astfel, interacțiunea apropiată dintre plantele parazite și gazdele lor susțin ipoteza privind calitatea de donator a plantelor a intronului *coxI* la patogeni [37].

Transferul orizontal de gene

Sistemele gazdă-parazit sunt predispușe pentru transferul orizontal de gene/ADN. Se consideră că la plante transferul ADN-ului de la alte specii are loc cel mai frecvent în ADN-ul mitocondrial. Un exemplu elocvent de transfer orizontal, care implică genele mitocondriale, se referă la regiunea *atp1* a plantelor parazite *Rafflesiaceae* și *Apodanthaceae*. O copie care vizează secvența parțială a genei *atp1*, primită prin transfer orizontal, a fost identificată în mitocondria la *Pilostyles thurberi* [35]. De asemenea, copii ale genei *atp1* de la gazde au fost transferate la speciile clăzilor *Bartsia* și *Cuscuta* [37].

Transferul ARN-ului de la gazdă la parazit a fost raportat la *Triphysaria versicolor* și *Phelipanche aegyptiaca* [38]. Un fenomen similar a fost descris și pentru *Cuscuta* [39].

Datele curente sugerează că paraziții pot avea acces la o varietate largă de ARN a gazdei, inclusiv la transcripții codificatoare care funcțional sunt localizate în plastidele gazdelor. Astfel de cazuri au fost raportate pentru o genă expresată în nucleu, cu o funcție necunoscută, la *Striga hermonthica* și *Rafflesia* [40].

La *Orobanche* și *Phelipanche* a fost descris transferul orizontal al genelor *rbcL*, *rps2* și *trnL-F* din regiunile genomice plastidice. Cu toate acestea, se consideră că fragmentele primite prin transfer orizontal sunt localizate preponderent în genomul nuclear sau cel mitocondrial și mai puțin în plastom [41].

Concluzii

Din datele relatate se constată că membrii familiei *Orobanchaceae* posedă genomuri foarte dinamice, rezultat al poliploidiei și al modificărilor semnificative ale genomului și evoluției cromozomilor. Studiul plastomului a pus în evidență dinamica diferențială și complexă de reducere a acestuia după pierderea capacității de fotosinteză. Proiectele de analiză a transcripțiilor au relevat gene ipotetic implicate în căile metabolice și de semnalizare specifice sistemelor gazdă-parazit.

În pofida progreselor obținute, înțelegerea evoluției speciilor *Orobanchaceae* este limitată de lipsa datelor complete privind structura și dimensiunea genomurilor, expresia genelor și variațiile epigenetice. Cunoașterea specificului relațiilor în patosisteme, în special a aspectelor moleculare, ar facilita explicarea tendințelor de evoluție a sistemului gazdă-parazit, dar, în primul rând, construirea unor strategii mai eficiente de ameliorare atât clasică, cât și prin metode de inginerie genică.

Referințe:

1. DIE, J.V., DITA, M.A., KRAJINSKI, F., GONZALEZ-VERDEJO, C.I., RUBIALES, D., MORENO, M.T. and ROMAN, B. Identification by suppression subtractive hybridization and expression analysis of *Medicago truncatula* putative defence genes in response to *Orobanche crenata* parasitization. In: *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2007, no.70, p.49-59, ISSN 0885-5765
2. LIANG, L.Z., LIU, Y., JARIWALA, J., LYNN, D.G. and PALMER, A.G. Detection and Adaptation in Parasitic Angiosperm Host Selection. In: *American Journal of Plant Sciences*, 2016, no.7, p.1275-1290, ISSN 2158-2750

3. WESTWOOD, J., DEPAMPHILIS, C., DAS, M., FERNANDEZ-APARICIO, M., HONAAS, L., TIMKO, M., WAFULA, E., WICKETT, N., YODER, J. The Parasitic Plant Genome Project: New Tools for Understanding the Biology of *Orobanche* and *Striga*. In: *Weed Science*, 2012, vol.60, p.295-306, ISSN 1550-2759
4. BENNETT, J., MATHEWS, S. Phylogeny of the parasitic plant family *Orobanchaceae* inferred from phytochrome A. In: *American Journal of Botany*. 2006, no.93(7), p.1039-1051. ISSN 0002-9122
5. SCHNEEWEISS, G.M, PALOMEQUE, T., COLWELL, A.E., WEISS-SCHNEEWEISS, H. Chromosome numbers and karyotype evolution in holoparasitic *Orobanche* (*Orobanchaceae*) and related genera. In: *American Journal of Botany*, 2004, no.91, p.439-448, ISSN 0002-9122
6. WEISS-SCHNEEWEISS, H., GREILHUBER, J., SCHNEEWEISS, G. Genome size evolution in holoparasitic *Orobanche* (*Orobanchaceae*) and related genera. In: *American Journal of Botany*, 2006, no.93(7), p.148-156. ISSN 0002-9122
7. KADEREIT, J. *Flowering Plants – Dicotyledons: Lamiales*. Springer Publishing House, 2004, p.477. ISBN 978-3-642-62200-7
8. PIEDNOËL, M., SOUSA, A., RENNER, S. Transposable elements in a clade of three tetraploids and a diploid relative, focusing on Gypsy amplification, In: *Mobile DNA*, 2015, DOI 10.1186/s13100-015-0034-8
9. BEARDSLEY, P.M., SCHOENIG, S.E., WHITTALL, J.B., OLMSTEAD, R.G. Patterns of evolution in western North American *Mimulus* (*Phrymaceae*), 2004. In: *American Journal of Botany*, 2004, no.91, p.474-489. ISSN 0002-9122
10. BARKER, W., KIEHN, M., VITEK, E. Chromosome numbers in Australian *Euphrasia* (*Scrophulariaceae*). In: *Plant Systematics and Evolution Journal*, 1988, no.158, p.161-164. ISSN 0378-2697
11. HECKARD, L.K., CHUANG, T.I. Chromosome numbers, polyploidy, and hybridization in *Castilleja* (*Scrophulariaceae*) of the Great Basin and Rocky Mountains. In: *Brittonia*, 1977, no.29, p.159-172. ISSN 0007-196X
12. TANK, D., EGGER, J., OLMSTEAD, R. Phylogenetic classification of subtribe *Castillejinae* (*Orobanchaceae*). In: *Systematic Botany Journal*, 2009, no.34, p.182-197. ISSN 0363-6445
13. SAMIGULLIN, T., LOGACHEVA, M., PENIN A., VALLEJO-ROMAN, C. Complete Plastid Genome of the Recent Holoparasite *Lathraea squamaria* Reveals Earliest Stages of Plastome Reduction in *Orobanchaceae*, In: *Plos one*, March 2, 2016, DOI.org/10.1371/journal.pone.0150718
14. TALVE, T., MCGLAUGHLIN, M., HELENURM, K., WALLACE L., OJA, T. Population genetic diversity and species relationships in the genus *Rhinanthus* L. based on microsatellite markers. In: *Plant Biology*, 2014, Volume 16, Issue 2, p.495-502. ISSN 1438-8677
15. ESTEP, M., GOWDA, B., HUANG, K., TIMKO, M., BENNETZEN, J. Genomic Characterization for Parasitic Weeds of the Genus *Striga* by Sample Sequence Analysis. In: *The Plant Genome*, 2012, vol.5, no.1, p.30-41. ISSN 1940-3372
16. McDONALD, J. *Transposable Elements and Evolution*. Springer, 1992. 346 p. ISBN 978 94-10-48922
17. JOHNSON, N., WILSON, G., BOWKER, M., WILSON, J., MILLERD, M. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses, In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America Vols.*, 2010, no.2, 107(5), p.2093-2098, ISSN 0027-8424
18. LEITCH, A., LEITCH, I. Ecological and genetic factors linked to contrasting genome dynamics in seed plants. In: *New Phytologist*, 2012, no.194, p.629-646. ISSN 1469-8137
19. LEITCH, I., BENNETT, M. Genome downsizing in polyploid plants. In: *Biological Journal of the Linnean Society*, 2004, no.82, p.651-663. ISSN 1095-8312
20. WICKE, S., SCHNEEWEISS, G., de PAMPHILIS, C., MÜLLER, K., QUANDT, D. The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, gene function. In: *Plant Molecular Biology*, 2011, no.76 (3-5), p.273-297. ISSN 0167-4412
21. GRUZDEV, E., MARDANOV, A., BELETSKY, A., KOCHIEVA, E., RAVIN, N., SKRYABIN, K. The complete chloroplast genome of parasitic flowering plant *Monotropa hypopitys*: extensive gene losses and size reduction. In: *Mitochondrial DNA. Part B: Resources*, 2016, vol.1, no.1, p.212-213. ISSN 2470-1394
22. ALKATIB, S., FLEISCHMANN, T., SCHARFF, L., BOCK, R. Evolutionary constraints on the plastid tRNA set decoding methionine and isoleucine. In: *Nucleic Acids Research*, 2012, no.40, p.6713-6724. ISSN 0305-1048
23. MORDEN, C., WOLFE, K., DEPAMPHILIS, C., PALMER, J. Plastid translation and transcription genes in a nonphotosynthetic plant – Intact, missing and pseudogenes. In: *The EMBO Journal*, 1991, no.10, p.3281-3288. ISSN 1460-2075
24. WOLFE, K., MORDEN, C., PALMER, J. Function and evolution of a minimal plastid genome from a nonphotosynthetic parasitic plant. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America Vols.*, 1992, no.89, p.10648-1065. ISSN 0027-8424
25. WICKE, S., MULLER, K., De PAMPHILIS, C., QUANDT, D., WICKETT, N., ZHANG, Y., RENNER, S., SCHNEEWEISS, G. Mechanisms of functional and physical genome reduction in photosynthetic and nonphotosynthetic parasitic plants of the broomrape family. In: *Plant Cell.*, 2013, vol.20, no.10, p.3711-3725. ISSN 1531-298X

26. De PAMPHILIS, C., PALMER, J. Loss of photosynthetic and chlororespiratory genes from the plastid genome of a parasitic flowering plant. In: *Nature*, 1990, vol.348, p.337-339. ISSN 0028-0836
27. DELAVAUULT, P., RUSSO, N., LUSSON, N., THALOUARN, P. Organization of the reduced plastid genome of *Lathraea clandestina*, an achlorophyllous parasitic plant. In: *Plant Physiology*, 1996, vol.96, p.674-682. ISSN 0032-0889
28. LEEBENS-MACK, J., de PAMPHILIS, C. Power analysis of tests for loss of selective constraint in cave crayfish and nonphotosynthetic plant lineages. In: *Molecular Biology and Evolution*, 2002, no.19, p.1292-1302. ISSN 0737-4038
29. WOLFE, A., de PAMPHILIS, C. Alternate paths of evolution for the photosynthetic gene *rbcL* in four nonphotosynthetic species of *Orobanchaceae*. In: *Plant Molecular Biology*, 1997, vol.33, p.965-977. ISSN 1573-5028
30. WOLFE, K., LI, W.-H., SHARP, P. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs (plant molecular evolution/molecular clock/mutation rate/organelle DNA/inverted repeat). In: *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1987, vol.84, p.9054-9058. ISSN 1091-6490
31. DELAVAUULT, P., THALOUARN, P. The obligate root parasite *Orobanche cumana* exhibits several *rbcL* sequences. In: *Gene*, 2002, vol.297, p.85-92. ISSN 1879-0038
32. WICKE, S. *Assessing the Evolutionary Patterns of Plastid Genome Reduction in a Group of Non-Photosynthetic Parasitic Angiosperms (Orobanchaceae)*. Ph. D. Thesis, Wien University. Wien, 2012. 246 p.
33. DAVIS, C., XI, Z. Horizontal gene transfer in parasitic plants. In: *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, vol.26, p.14-19. ISSN 1369-5266
34. KNOOP, V., VOLKMAR, U., HECHT, J., GREWE, F. Mitochondrial genome evolution in the plant lineage. In: Kempten F. (ed). *Advances in plant biology – mitochondrial genomes*. New York: Springer Science & Business, 2011, p.3-29. ISBN 978-0-387-89780-6
35. BARKMAN, T., MCNEAL, J., LIM, S.-H., COAT, G., CROOM, H., YOUNG, N. Mitochondrial DNA suggests at least 11 origins of parasitism in angiosperms and reveals genomic chimerism in parasitic plants. In: *BMC Evolutionary Biology*, 2007, no.7, p.1-15. ISSN 1471-2148
36. FILIPOWICZ, N., RENNER, S. The worldwide holoparasitic *Apodanthaceae* confidently placed in the *Cucurbitales* by nuclear and mitochondrial gene trees. In: *BMC Evolutionary Biology*, 2010, no.10, p.219. ISSN 1471-2148
37. MOWER, J., STEFANOVIC, S., HAO, W., GUMMOW, J., JAIN, K., AHMED, D., PALMER, J. Horizontal acquisition of multiple mitochondrial genes from a parasitic plant followed by gene conversion with host mitochondrial genes. In: *BMC Biology*, 2010, vol.8, no.150, p.2-16. ISSN 1741-7007
38. ZHANG, Y. *Horizontal gene transfer studies in parasitic plants of the Orobanchaceae*. Ph. D. Thesis, The Pennsylvania State University, SUA, 2013. 232 p.
39. WESTWOOD, J., RONEY, J., KHATIBI, P., STROMBERG, V. RNA translocation between parasitic plants and their hosts. In: *Pest Management Science*, 2009, vol.65(5), p.533-542. ISSN 1526-4998
40. XI, Z., BRADLEY, R., WURDACK, K., WONG, K., SUGUMARAN, M., BOMBLIES, K., REST, J., DAVIS, C. Horizontal transfer of expressed genes in a parasitic flowering plant. In: *BMC Genomics*, 2012, no.13, p.227. ISSN 1471-2164
41. PARK, J.-M., MANEN, J.-F., SCHNEEWEISS, G. Horizontal gene transfer of a plastid gene in the non-photosynthetic flowering plants *Orobanche* and *Phelipanche* (*Orobanchaceae*). In: *Mol. Phyl. Evol.*, 2007, no.43, p.974-985. ISSN 1055-7903

Prezentat la 15.07.2016

CZU: 581.48:633.11

ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ХРАНЕНИЯ СЕМЯН КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ *TRITICUM AESTIVUM L.* И *TRITICUM DURUM L.*

Людмила КОРЛЭТЯНУ, Виктория МИХАИЛЭ, Анатолие ГАНЯ

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы

STUDIAREA POTENȚIALULUI DE PĂSTRARE A SEMINȚELOR MOSTRELOR DE *TRITICUM AESTIVUM L.* ȘI DE *TRITICUM DURUM L.*

În articol sunt prezentate rezultatele evaluării parametrilor morfofiziologici ai semințelor mostrelor din colecția de grâu comun și de grâu durum ce permit a elucida potențialul de păstrare la conservarea lor *ex situ*. Genotipurile au fost clasificate în baza capacității de păstrare a viabilității semințelor stocate în banca de gene. Testul de îmbătrânire accelerată a semințelor poate fi aplicat în scopul monitorizării mostrelor de colecție din genofondul plantelor.

Cuvinte-cheie: *Triticum aestivum L.*, *Triticum durum L.*, bancă de gene, potențial de păstrare, energie germinativă, germinație, biomasa plantulelor, peroxidază.

STUDY OF STORAGE POTENTIAL OF SEEDS OF *TRITICUM AESTIVUM L.* AND *TRITICUM DURUM L.* COLLECTION ACCESSIONS

This article presents the results of studies on characterization of morpho-physiological parameters of seeds of collection accessions of soft and durum wheat that allowed identification of their storage potential during *ex situ* conservation. Grading of genotypes was performed taking into account their potential ability to maintain viability in plant gene bank. It is reasonably practicable to use accelerated aging test for monitoring of collection accessions of gene pool.

Keywords: *Triticum aestivum L.*, *Triticum durum L.*, gene bank, storage potential, germinating power, germinability, biomass of seedlings, peroxidase.

Введение

В последние годы в генетических банках растений при консервации *ex situ* всё чаще используется термин «потенциал хранения семян» [1-5]. Основным условием правильного хранения семян является необходимость сохранения их физиологических качеств и сведения до минимума скорости старения. Потенциал хранения ортодоксальных семян определяется такими факторами, как качество семян, обусловленное условиями во время их формирования, и временем между физиологической зрелостью и урожаем [6]. Потеря физиологических качеств семян приводит к снижению урожая и низким стандартам семян, к потере их однородности, а также к ухудшению роста и развития растений и низкой устойчивости к экологическим стрессам. Производство семян с высокой всхожестью само по себе недостаточно. Чтобы обеспечить высокий потенциал хранения семян, необходимо не только получить семенной материал с высокой жизнеспособностью, но и обеспечить его правильное хранение с целью поддержания начальной всхожести. Поэтому очень важным является определение потенциала хранения (ПХ) различных генотипов и проведение градации по данному признаку коллекционного материала, находящегося на хранении в генетических банках растений.

Методы и материалы

Для определения потенциала хранения семян злаковых культур использовали тест на ускоренное старение семян (УСТ) [7]. Данный тест позволяет определить процент нормально и аномально развитых проростков после стрессорного воздействия. Показатели лабораторной всхожести после УСТ хорошо коррелируют со всхожестью семян в неблагоприятных полевых условиях.

Объектами исследования служили семена мягкой и твердой пшеницы из коллекции Института генетики. УСТ семян проводили в условиях повышенной температуры (41-43°C) и влажности воздуха (90-100%), срок старения семян – 72 часа. После УСТ семена проращивали в термостате в чашках Петри при 25°C. В каждом варианте количество семян составляло 300 штук. Оценку ПХ семян проводили по следующим морфобиологическим параметрам: энергии прорастания (ЭП) и всхожести (В) семян, длине корешков (ДК), числу корешков (ЧК), сырой биомассе корешков (СБК), которые определяли по Международным правилам ISTA [7]. Из физиологических параметров изучали выход

электролитов из семян по электропроводности растворов до термического стресса и затем в динамике в течение 2,5-3-х часов [8]. Для определения электропроводности растворов семян использовали кондуктометр N5721M. Из биохимических параметров изучали активность фермента пероксидазы (ПО) в корешках проростков по методу Ермакова и Арасимович [9]. Полученные результаты были обработаны с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.

Результаты и обсуждение

После проведения теста на УСТ семян мягкой пшеницы было обнаружено уменьшение значений их морфологических параметров по сравнению с нормальными семенами. Изменения проявлялись в большей или меньшей степени в зависимости от генотипа. В зависимости от падения всхожести семян после УСТ генотипы мягкой пшеницы были разделены на 3 группы (Рис.1). У семян 1-ой группы генотипов (Moldova 5; Moldova 5 îmbunătățită; Moldova 5 x Moldova 76) падение всхожести составило 23-33%; у 2-ой (Moldova 77; Dumbrăvița; Avantaj) – 44-47%, у 3-ей (Moldova 11; Plai; Talisman) – 54-69%.

У генотипов 1-ой группы уменьшение морфологических параметров (ДК, ЧК, СБК) после УСТ по отношению к контролю составило, соответственно, 3,0-38,0%; 2,0-12,0%; и 12,0-50,0% (Рис.2,а,б,в). Эти семена показали лучшую способность к хранению, т.е. у них высокий потенциал хранения. У семян 2-ой группы эти параметры уменьшились после теста на УСТ на 29-35; 5-7; 14-39% по отношению к контролю, а у 3-ей, соответственно, на 31-42; 4-8; 8-68% по отношению к контролю.

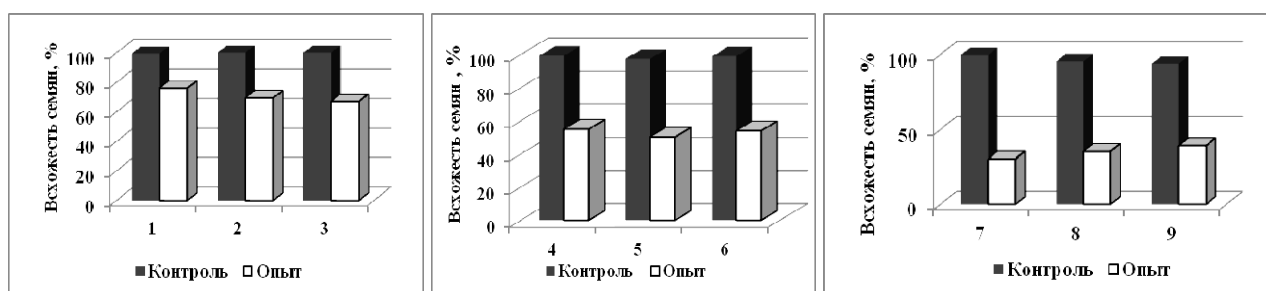


Рис.1. Всхожесть семян различных генотипов *Triticum aestivum* L. после ускоренного старения, %.

Генотипы: 1- *Moldova 5*; 2- *Moldova 5 îmb.*; 3 – *Moldova 5 x Moldova 79*; 4 – *Moldova 77*; 5 – *Dumbrăvița*; 6 – *Avantaj*; 7 – *Moldova 11*; 8 – *Plai*; 9 – *Talisman*.

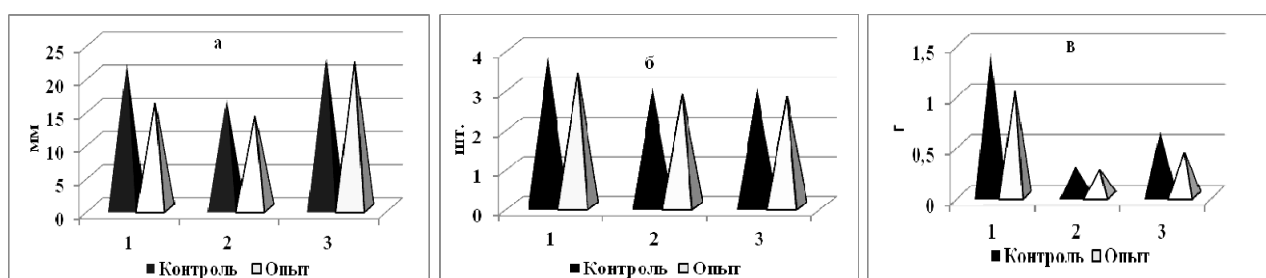


Рис.2. Морфологические параметры семян *Triticum durum* L. при ускоренном старении.

Примечание: а – длина корешков; б – количество корешков с проростка; в – биомасса корешков.

Генотипы: 1 – *Moldova 5*; 2 – *Moldova 5 îmbunătățită*; 3 – *Moldova 5 x Moldova 79*.

Электропроводность опытных растворов с состаренными семенами по сравнению с нормальными семенами увеличивалась в начале опыта в среднем на 7-26%, а после действия сильного термического стресса (спустя 150 мин. после стресса) это увеличение составило 7-25% по отношению к контролю (Рис. 3-4). Изучаемые генотипы различались по этому показателю. Данные закономерности получены на большинстве генотипов мягкой пшеницы после тестирования семян на УСТ. Они совпадают с литературными данными об увеличении электропроводности растворов, в которых экспонировались старые семена. Этот параметр может быть использован в качестве теста для оценки потенциала хранения семян.

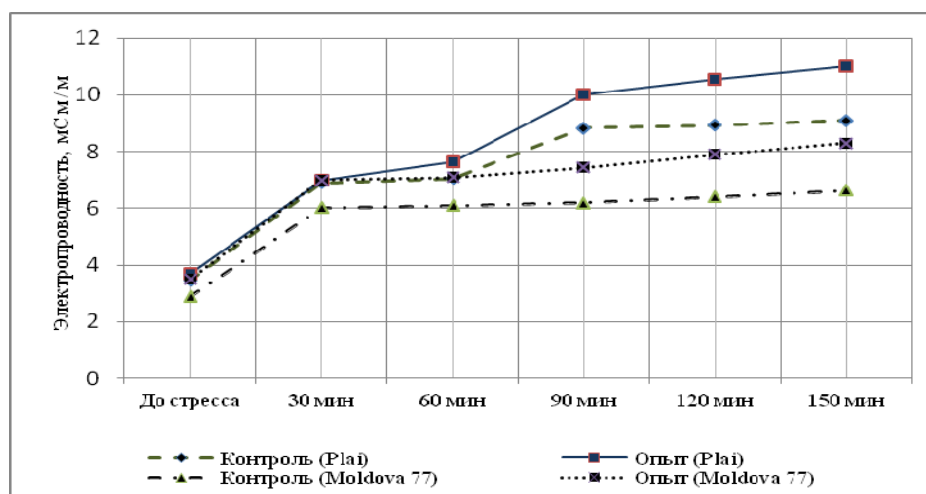


Рис.3. Динамика электропроводности растворов семян *Triticum aestivum* L. Генотипы: Plai; Moldova 77.

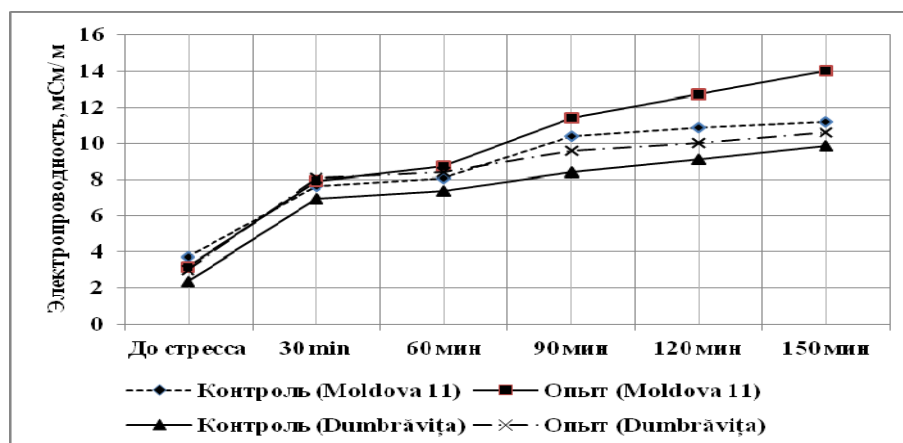


Рис.4. Динамика электропроводности растворов семян *Triticum aestivum* L. Генотипы: Moldova 11; Dumbrăvița.

По содержанию фермента пероксидазы в корешках проростков семян мягкой пшеницы после УСТ наблюдалось существенное увеличение параметра по сравнению с контролем, что является характерным при действии термического стресса. Опытные варианты по содержанию пероксидазы в корешках проростков превышали контрольные (превышение доходило до 44% по отношению к контролю).

При изучении реакции генотипов твердой пшеницы на УСТ они также были подразделены на 3 группы по изменению всхожести. В 1-ой группе всхожесть семян составила 67%; во 2-ой – 49-50%; в 3-ей – 20% (Рис.5). Длина корешков после УСТ у семян изучаемых генотипов уменьшалась по-разному: падение по отношению к контролю доходило до 68%; по числу корешков различия между генотипами были небольшими: уменьшение параметра составляло в среднем 3-20% по отношению к контролю. Изменение сырой биомассы корешков после УСТ семян колебалось в зависимости от генотипа в пределах 7-50% по отношению к контролю. Содержание фермента пероксидазы в корешках проростков определяли у двух генотипов твердой пшеницы, и существенных различий между состаренными и нормальными семенами не обнаружено. По выходу электролитов из семян трех форм твердой пшеницы (Augiu 373; Hordeiforme 333; Hordeiforme 340) были получены положительные результаты, т.е. и до стресса, и после у состаренных семян выход электролитов был выше, чем у нормальных. До стресса увеличение электропроводности по отношению к контролю составляло 4-15% в зависимости от генотипа. После выхода параметра «электропроводность» на плато его увеличение в опытном варианте по сравнению с контролем доходило до 10% (Рис. 6).

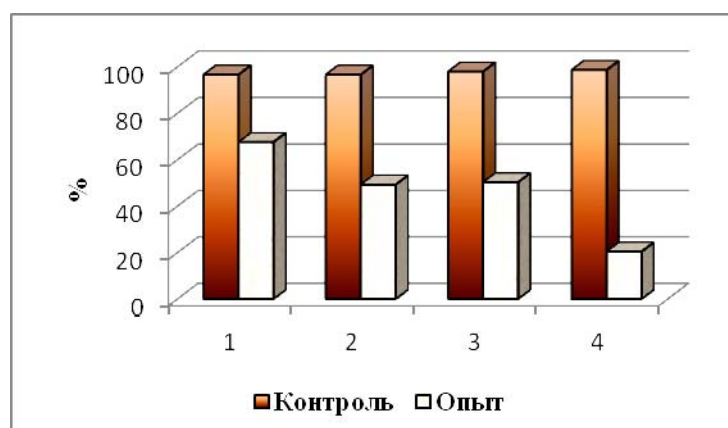


Рис.5. Влияние ускоренного старения на всхожесть семян *Triticum durum*, %
Генотипы: 1 – Auriu 273; 2 – Hordeiforme 333; 3 – Hordeiforme 340; 4 – Hordeiforme 335.

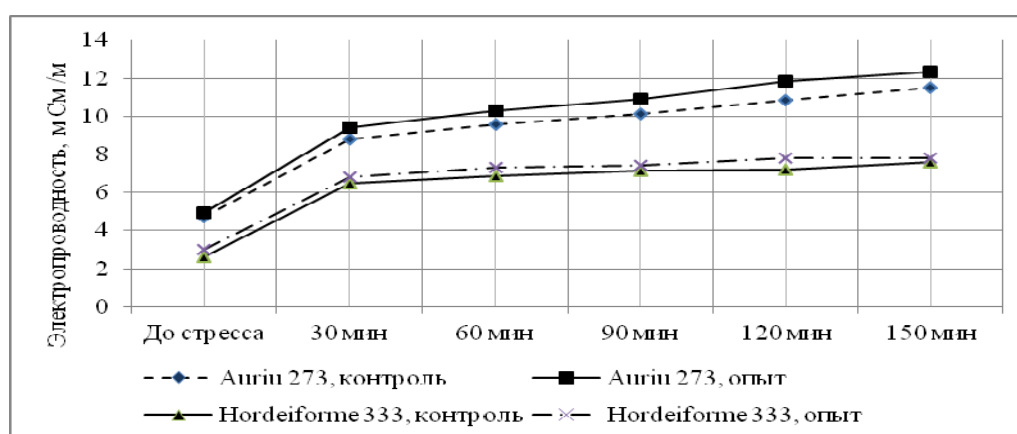


Рис.6. Электропроводность растворов семян *Triticum durum* L.

Следовательно, с помощью теста на ускоренное старение семян можно осуществлять мониторинг коллекционных образцов генофонда. Это позволяет проводить постоянный учет их жизнеспособности и классифицировать генотипы по параметрам старения семян из рабочих и активных коллекций. Применяемая методика позволяет: 1) характеризовать коллекционные образцы по жизнеспособности; 2) давать рекомендации по срокам воспроизводства семенного материала; 3) указывать на необходимость восстановления жизнеспособности образцов с помощью физико-химических факторов.

Выводы

1. На коллекционных образцах сортов мягкой и твёрдой пшеницы была усовершенствована методика и определены оптимальные условия ускоренного старения семян: температура, влажность воздуха и сроки старения семян.
2. Показано, что электропроводность растворов с состаренными семенами у большинства генотипов мягкой и твёрдой пшеницы выше, чем у растворов с нормальными семенами.
3. С помощью теста на ускоренное старение семян выявлены генотипические особенности коллекционных образцов пшеницы, проведено распределение их по группам с учётом потенциальных возможностей сохранения жизнеспособности образцов после действия высоких температур и влажности.
4. Дана оценка потенциала хранения генотипов пшеницы по морфологическим и физиологическим параметрам семян и проростков, что является важной характеристикой объектов при консервации *ex situ* зародышевой плазмы растений.

Литература:

1. NIRMALA, K., UMARANI, R. Storage potential of primed seeds of okra (*Abelmoschus esculentus*) and beet root (*Beta vulgaris*). In: *Australian Journal of Crop Sciences*, 2014, vol.8, no.9, p.1290-1297.
2. AGHILIAN, S., KHAJEH-HOSSEINI, M., ANVARKHAH, S. Evaluation of seed storage potential in forty medicinal plant species. In: *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 2014, vol.7, no.10, p.749-759.
3. DEMIR, I., MAVI, K. Controlled deterioration and accelerated aging tests to estimate the relative storage potential of cucurbit seed lots. In: *Hort Science*, 2008, vol.43, no.5, p.1544-1548.
4. MIELEZRSKI, F., MARCOS-FILHO, H. Assesment physiological potential of stored pea (*Pisum sativum* L.) seeds. In: *Journal of Seed Science*, 2013, vol.35, no.1, p.42-50.
5. HAVSTAD, T., AAMLID, T.S., LOMHOLT, A. Evaluation of vigor tests for determination of seed storage potential in red clover (*Trifolium pratensis* L.) and timothy (*Phleum pratense* L.). In: *Seeds Science and Technology*, 2011, vol.39, no.3, p.637-648.
6. VILLELA, F.A., MENEZES, N.L. Seed storage potential. In: *Seed News*, 2009, vol.13, no.4, p.22-25.
7. HAMPTON, J.G. et al. *Handbook of vigor test methods*. ISTA. Zurich, Switzerland, 1995. 120 p.
8. DASCALIUC, A., CUZA, P. Determinarea termotoleranței la gorun și stejarul pedunculat cu ajutorul metodei de scurgere a electrolitilor. În: *Mediul Ambiant*. 2007, nr.6 (36), p.27-31.
9. ЕРМАКОВ, А.И. и др. *Методы биохимического исследования растений*. Москва: «Колос», 1987, с.42-43.

Prezentat la 21.10.2016

CZU: 582.2: 582

DEPISTAREA ȘI IDENTIFICAREA FOCULUI BACTERIAN AL ROZACEELOR LA CULTURILE POMICOLE

Maria MAGHER

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al AȘM

Focul bacterian, bacterioza, la pomii fructiferi și la alte plante rozacee poate deveni devastator în livezi și, prin urmare, împiedică în mare parte dezvoltarea economică. Multe dintre simptomele focului bacterian pot fi recunoscute imediat după infectare. Prin utilizarea mediilor microbiologice speciale, bacteria *Erwinia amylovora* a fost izolată din eșanțioane de măr, păr și gutui infectați. Prin teste de inoculare a fost confirmată patogenitatea și virulența acesteia la plantele gazdă.

Cuvinte-cheie: foc bacterian, bacterioză, *Erwinia amylovora*, simptome, virulență.

DETECTION AND IDENTIFICATION OF FIRE BLIGHT IN ORCHARDS

Fire blight, a bacteriosis of fruit-trees and other rosaceous plants, can be a disastrous disease in orchards and is therefore of great economic importance. Many symptoms of fire blight can be seen during short time after infection. Using special microbiological media this pathogenic bacterium has been isolated from samples of infected apple, quince and apple trees. Inoculation tests confirmed its pathogenicity and virulence to host plants.

Keywords: fire blight, bacteriosis, *Erwinia amylovora*, symptoms, virulence.

Introducere

Focul bacterian este una dintre cele mai păgubitoare boli care afectează plantațiile de păr, măr și gutui, dar și numeroase specii ornamentale, fiind provocată de bacteria *Erwinia amylovora* [1, 2]. Bacteria este Gram-negativă, nu sporulează, are formă de bastonaș cu capetele rotunjite, de 0,6-2,5 x 0,5-1,2 μ, mobilă, având cili dispuși peritrih [3].

Focul bacterian al rozaceelor începe primăvara cu arsura florilor, continuă vara cu atacul lăstarilor și se termină toamna cu apariția ulcerățiilor. Patogenul *Erwinia amylovora* atacă toate organele aeriene ale plantelor [4]. Arsura inflorescențelor este primul simptom care apare primăvara devreme. Poate fi afectată o singură floare sau întreaga inflorescență. La început floarea pare hidrozată, apoi se ofilește, se brunifică și se înnegrește. Infecția progresează spre peduncul care se înnegrește. Uneori, pe timp călduros și umed, din peduncul exsudează picături de lichid. Bacteria progresează rapid, cuprinzând lăstarii și ramurile [5-7].

După inflorescențe, cele mai sensibile organe ale plantei la focul bacterian sunt lăstarii suculenți și ramurile. La început se ofilește vârful și deseori se îndoiește sub formă de cârjă de păstor. Pe timp umed (60-95% umiditatea relativă a aerului), începând cu perioada înfloritului, pe lăstarii bolnavi apar picături de exsudat. Când umiditatea relativă a aerului este scăzută, din țesuturile bolnave exsudează filamente care au aspect de rețea vătoasă, incoloră. Aceste șuvițe pot fi ușor desprinse de vânt, diseminând patogenul [8].

Pe fructe boala apare numai când ele sunt verzi, cu totul ocazional pe cele mature sau după recoltare. Porțiunea infectată a fructului la început poate să apară hidrozată, cu țesuturi brunificate sau înnegrite. Perele deseori prezintă de-a lungul zonei necrozate o margine verde-închis, hidrozată, iar la mere se produce o înroșire prematură, care înconjoară zona putredă [9].

La pomii care sunt sensibili la această boală infecția poate coborî spre ramuri mai vechi, șarpante și trunchi, producând leziuni sau ulcere și exsudări. Deseori, prin îndepărtarea scoarței de la ramuri sau șarpante, într-o zonă limitrofă leziunilor, țesuturile dedesubt apar maro-roșcate [10].

Simptomele manifestate în cazul focului bacterian pot fi similare cu cele cauzate de alți factori, atât biotici, cât și abiotici. Fitopatogenii *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. și *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall sunt două bacterii cu un impact deosebit asupra speciilor pomicele sămânțoase, care prezintă probleme de identificare în anumite fenofaze de dezvoltare a pomilor. Flori vestejite, fructe de măr și păr brunificate pot apărea și în cazul atacului de *P. syringae* sau a temperaturilor joase din primăvară [9-14].

După T. Van der Zwet [15], *E. amylovora* ierneză de-a lungul marginilor ulcerățiilor formate în anul anterior. Primăvara, bacteriile din țesuturile de pe margine și adiacente ulcerelor se înmulțesc, producând inoculul

primar [16]. În timpul înfloritului, bacteriile, transportate de diferiți vectori (insecte, vânt, ploaie ș.a.), pătrund prin deschideri naturale, îndeosebi prin stomate nectarifere, stigmat necutinizate, antere, stomatele sepalelor, precum și prin răni produse de vânt, rănila pe tulpini produse cu unelte de grădină ș.a. [17,18]. Bacteriile se multiplică și invadează spațiile intercelulare. Aici se realizează o afluență a unei mase lichide, care după ce umple spațiile intercelulare iese afară sub formă de exsudat. După câteva zile, celulele gazdei încep să colapseze, datorită plasmolizei și se colorează datorită necrozei, iar florile sunt distruse complet. Suprafața nectariană este cea mai vulnerabilă pentru invazii, nectarul fiind un mediu excelent pentru multiplicarea bacteriilor. Din floare infecția se extinde prin peduncul în lăstar, invadând frunzele și în final ramurile. Aici, infecția se exteriorizează prin producerea de ulceratii, se extinde în șarpante și în trunchi, evoluând până la moartea pomului [19].

Prin cercetările efectuate de mai mulți savanți s-a stabilit că bacteria *E. amylovora* poate popula vasele conducătoare și suprafața organelor aeriene, fără a produce boala. Declanșarea și evoluția procesului infecțios sunt determinate de mai mulți factori: nivelul de rezistență a plantelor, condițiile mediului înconjurător, precum și rănila produse de vânt, grindină, unelte ș.a. Cu toate că bacterioza este cunoscută încă din secolul XIX, până în prezent un șir de cercetători din diferite țări prezintă rapoarte despre consecințele devastatoare ale acesteia la măr și păr, ea rămânând a fi una dintre cele mai studiate boli bacteriene [20]. În mai multe rapoarte științifice se menționează despre pagubele deosebit de mari produse de această bacterioză [21-23], prezența căreia este recunoscută în multe țări ale lumii, inclusiv în Ucraina și în România [24-26]. Din punct de vedere economic, bacterioza este periculoasă din mai multe puncte de vedere. În primul rând, pentru gama speciilor de plante afectate de o mare importanță comercială (măr, păr, gutui și plante ornamentale). În al doilea rând, din lipsa metodelor eficiente de control, când nu există încă niciun produs înregistrat, care poate fi aplicat cu succes contra fitopatogenului [27].

Mărul și părul sunt principalele specii pomicele sămânțoase cultivate în exploatațiile pomicele extinse și pe loturile producătorilor agricoli din Republica Moldova [28]. Primele focare de foc bacterian în țara noastră au fost semnalate prin anii 1991-1992 [29]. Conform cercetărilor întreprinse prin anii 1993-1997, boala s-a răspândit pe tot teritoriul țării, făcând mari ravagii la păr și gutui, mai puțin la măr. În anii 1994-1997 bacterioza capătă caracter de epifitotie, afectând 820 ha de păr și 297,5 ha de gutui, care au fost defrișate. Ulterior au fost întreprinse tratamente cu diferite produse chimice și biologice pentru eradicarea bolii [30].

Având în vedere și statutul de carantină al fitopatogenului *Erwinia amylovora*, observațiile și cercetările întreprinse au fost orientate spre monitorizarea arealului de răspândire a bacteriozei în perioada actuală la culturile de măr, păr și gutui pe teritoriul Republicii Moldova.

Material si metode

Cercetările au avut loc în cadrul Laboratorului „Fitopatologie și Biotehnologie” al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al AȘM. Ca material pentru cercetare au fost folosite probe de măr, păr și gutui cu simptome de bacterioză. Pentru depistarea simptomelor de bacterioze la culturile pomicele sămânțoase au fost efectuate sondaje fitosanitare în toate zonele Republicii Moldova, începând cu perioada umflării mugurilor și până în toamnă, după scuturarea frunzelor, în perioada anilor 2003-2013. Bacterioza a fost identificată vizual după simptomele descrise în literatura de specialitate [31]. Pentru izolarea bacteriei au fost utilizate medii de cultură CCT, Levan și King B specifice pentru bacteria *E. amylovora* [32]. Patogenitatea izolatelor bacteriene obținute din probele cu simptome de bacterioze a fost stabilită prin inocularea plantelor gazdă [33]. Pentru inocularea încrucișată în cadrul experiențelor au fost utilizați lăstari de gutui, fructe verzi de păr și de măr. În calitate de control pozitiv a fost utilizată tulpina E10 (din colecția secției „Imunologie, protecție și virusologie” a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare), iar apa sterilă a servit drept control negativ.

Lăstarii au fost bine spălați cu apă curentă, apoi clățiți cu apă sterilă. Mugurii de la baza frunzelor, din zona de vârf a lăstarilor, au fost inoculați cu suspensie bacteriană (titrul 10^7 ufc/ml după standardul McFarland) cu ajutorul seringilor de unică folosință. După inoculare, lăstarii au fost plasați în 300 ml apă sterilă de robinet în baloane de 500 ml și acoperiți cu peliculă, pentru crearea unei atmosfere umede. Fiind ținuți la temperatura camerei (20-26°C), au fost urmăriți zilnic timp de 10 zile.

Fructele de cca 1,5–4 cm în diametru au fost dezinfectate cu alcool de 70%, apoi spălate cu apă sterilă. Fructele inoculate într-un singur punct, așezate în vase căptușite cu hârtie de filtru sterilă și umectată, au fost incubate la $26 \pm 1^\circ\text{C}$, fiind urmărite zilnic pe parcursul a 7 zile. Fiecare fruct a fost inoculat cu 0,1 ml de sus-

pensie bacteriană cu titrul de 10^7 ufc/ml. Evaluarea rezultatelor s-a efectuat în baza apariției simptomelor caracteristice focului bacterian: brunificații și picături de exsudat. Din fructele și lăstarii care au manifestat simptome bacteria a fost reizolată pe cele trei medii diagnostice, pentru confirmarea postulatelor lui Koch [34].

Rezultate și discuții

Primul simptom al bolii este întâlnit primăvara în perioada înfloritului, având drept cauze infecțiile florilor deschise, cu polen adus de vânt, insecte sau alți vectori de la pomii bolnavi din apropiere [35]. Monitorizarea culturilor de măr, păr și gutui s-a soldat cu depistarea simptomelor de bacterioză pe flori, frunze, lăstari, ramuri și tulpini. Infecția nu s-a manifestat cu aceeași intensitate în fiecare an, primele simptome fiind depistate în timpul și imediat după înflorire. În condițiile zonei centrale a Republicii Moldova, anii 2012 și 2013 au fost foarte favorabili pentru focul bacterian al rozaceelor, care la o răspândire de 37,7%, calculată la 100 pomi de măr, atinge intensitatea de 5,7% [36]. Primăvara elementele climatice sunt considerate extrem de importante pentru apariția bolii [37].

În perioada înfloririi pomilor simptomele bolii s-au manifestat prin hidrozarea și ofilirea florilor, urmate de brunificare la măr și gutui, iar la păr înnegrire (Fig.1 A, B, C).

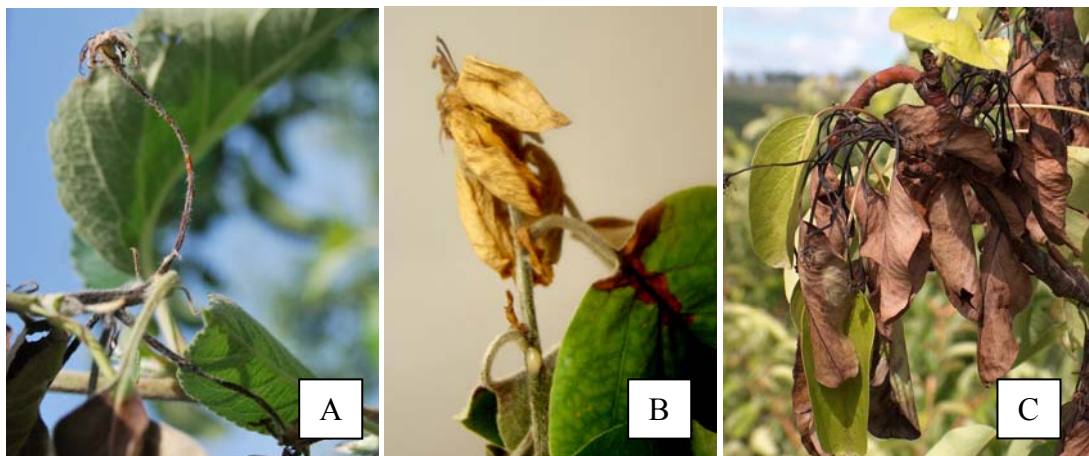


Fig.1. Simptome de foc bacterian la flori de măr (A), gutui (B) și păr (C).

Pe lăstari simptomele bacteriozei au fost depistate începând cu faza lor inițială de creștere și până în luna august, când condițiile climatice erau favorabile pentru multiplicarea și răspândirea agentului patogen. Inițial la măr și gutui frunzele apăreau cu brunificații de-a lungul nervurilor, urmate de necrozarea acestora. Astfel de simptome au fost depistate și la păr, deosebindu-se prin culoarea negricioasă a țesutului afectat. După pierderea turgescenței lăstarii ofiliți se îndoaiau, căpătând forma „cârjei de păstor” caracteristică focului bacterian (Fig.2 A, B, C).

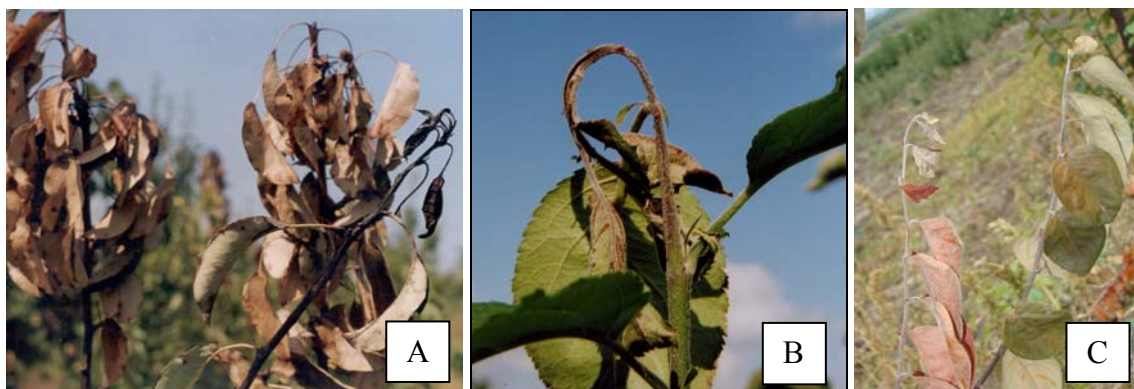


Fig.2. Lăstari încovoiați în formă de „cârjă de păstor” la păr (A), măr (B), gutui (C).

La atacuri puternice pomii păreau a fi arși, ceea ce constituie un simptom important pentru detectarea la distanță a plantelor bolnave (Fig.3 A, B, C). Pe parcursul examinării pomilor am depistat lăstari afectați siste-

mic, vârfurile cărora la început de ofilire prezentau pigmentare gălbuie, iar „cârja de păstor” fiind înregistrată mai des în perioada creșterii active a lăstarilor.

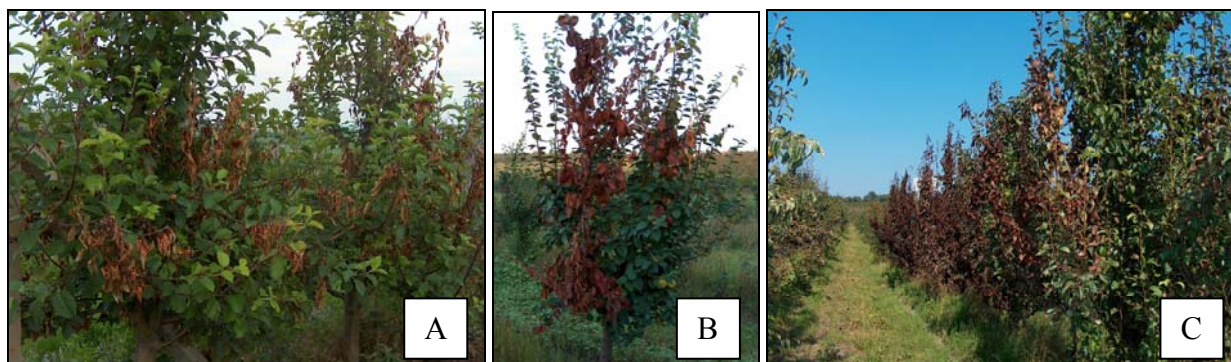


Fig.3. Lăstari afectați de focul bacterian la măr (A), gutui (B) și păr (C).

Pe lăstari și ramuri mai vechi au fost frecvent fixate ulcerări și exsudări (Fig.4 A și B). Prin îndepărtarea scoarței de la ramuri, din zona limitrofă leziunilor, depistam țesuturi brun-roșcate (Fig.4 C).



Fig.4. Exsudat bacterian la suprafața lăstarilor de măr (A și B) și cu țesut brun-roșcat sub scoarță (C).

Fructele de măr infectate prezentau inițial o înroșire prematură în zona putredă, în cazul soiurilor cu pulpa roșie, și o întunecare a țesutului la soiurile verzi. Perele prezentau de-a lungul zonei necrotice o margine verde-închis, hidrostată, care a fost observată și în urma infecției artificiale în condiții de câmp, unde simptomele bolii au apărut după două zile de la infectare, manifestându-se prin întunecarea țesuturilor în zona inoculată și apariția exsudatului bacterian. Fructele sau mumifiat după 144 de ore de la inoculare, rămânând atașate de ramuri [38] (Fig.5).



Fig.5. Fructe de măr (A și B) și păr (C și D) afectate de focul bacterian al rozaceelor.

Țesuturile infectate de multe ori exsudau picături de lichid, inițial alb-cremoase, care pe măsura îmbătrânirii deveneau chihlimbarii. Deseori țesutul afectat prezenta și filamente cu aspect de rețea vătoasă, incoloră (Fig.6).



Fig.6. Picături de exsudat bacterian pe suprafața țesuturilor infectate.

Exsudatul bogat în germeni patogeni, prin scurgeri pe alte ramuri sau trunchi, infectează alte zone ale pomilor [39]. Aceste scurgeri atrag și insectele, care transmit bacteria pe alte plante sănătoase. Trunchiul cu eventuale răni, punctul de altoire și portaltoiul sunt porți de acces al bacteriei în interiorul pomului. Zona infectată a portaltoiului apare hidrozată, cu exsudat bacterian, iar țesutul de sub scoarță brun-roșcat. Simptomele de foc bacterian la portaltoi pot fi ușor confundate cu putrezirea coletului, produsă de ciuperca *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn.) Schröt [40].

Din probele cu simptome de bacterioză au fost obținute izolate bacteriene, care pe mediile de nutriție au format colonii caracteristice pentru *E. amylovora*. Pe mediul CCT peste 48 de ore coloniile erau violete-pal, rotunde, convexe, netede, cu centrul mai dens, devenind după 72 de ore mucoide. Pe mediul King B, după 48 de ore se formau colonii mici, alb-murdare, rotunjite, puțin bombate, iar prin expunere la raze UV, după 72 de ore de incubare, nu prezentau pigment fluorescent. Pe mediul Levan, peste 48 de ore am obținut colonii surii, rotunjite, puternic bombate, netede, ce deveneau mucoide peste 48-72 ore de incubare. Rezultate similare au fost obținute și pentru martorul de referință, cultivat în condiții identice pe aceleași medii nutritive.

În rezultatul infecțiilor încrucișate, simptome de foc bacterian au fost obținute în toate variantele experimentale, unde lăstarii și fructele au fost infestate cu suspensii preparate din izolatele bacteriene și din martorul de referință (*a se vedea* Tabelul).

Tabel

Rezultate obținute după inocularea încrucișată cu izolate bacteriene din probe de măr, păr și gutui

| Izolatele experimentate | Material utilizat | Cantitatea utilizată, bucați | Simptome de foc bacterian depistate după inoculare* | | | |
|--|---------------------|------------------------------|---|-------------|-----------|------------|
| | | | la 3 zile | la 4-5 zile | la 7 zile | la 10 zile |
| M1 – obținut din probă de păr | Fructe verzi de păr | 9 | + | ++ | ++ | (+) |
| | Lăstari de gutui | 9 | - | + | + | ++ |
| P9 – obținut din probă de măr | Fructe verzi de măr | 9 | - | + | ++ | ++ |
| | Lăstari de gutui | 9 | - | + | + | ++ |
| G12 – obținut din probă de gutui | Fructe verzi de păr | 9 | + | ++ | ++ | (+) |
| | Fructe verzi de măr | 9 | - | + | + | ++ |
| Control pozitiv – tulpina de referință E10 | Fructe verzi de păr | 3 | + | ++ | ++ | (+) |
| | Fructe verzi de măr | 3 | - | + | + | ++ |
| | Lăstari de gutui | 3 | - | + | + | ++ |
| Control negativ – apă distilată sterilă | Fructe verzi de păr | 3 | - | - | - | - |
| | Fructe verzi de măr | 3 | - | - | - | - |
| | Lăstari de gutui | 3 | - | - | - | - |

*+ = brunificații; ++ = exsudat bacterian; (+) = brunificare totală a fructelor; - = lipsă de simptome.

Conform rezultatelor prezentate în Tabel, simptome caracteristice focului bacterian la fructele de păr au apărut după trei zile de la inoculare, manifestate prin necroza țesutului, urmate de apariția exsudatului și brunificarea totală. La fructele de măr brunificarea țesutului în zona inoculată a fost depistată după 4 zile de la inoculare, iar picăturile mici de exsudat după 7 zile. Simptome de necrozare a frunzelor lăstarilor de gutui au fost observate după 5 zile, iar îndoirea vârfului după 10 zile de la inoculare. Simptome similare au fost observate și la materialul inoculat cu suspensia martorului de referință. În cazul controlului negativ nu am depistat simptome. Rezultatele obținute după inocularea încrucișată atestă caracterul infecțios al celor trei izolate obținute din probe de măr, păr și gutui, fiind deci necesare un control fitosanitar cât mai riguros al plantațiilor pomicole și aplicarea urgentă a măsurilor de protecție în cazul depistării simptomelor de foc bacterian.

După 7 zile de incubare a fructelor de măr am depistat zone necrozate cu picături de exsudat în locul inoculării celor trei izolate cercetate și a tulpinii martor E10. Prin secționarea fructelor am depistat brunificații interne cauzate de difuzia bacteriei, ceea ce nu s-a produs în varianta control.

La utilizarea coloniilor bacteriene cu caractere morfologice caracteristice pentru *E. amylovora* au fost observate brunificații ale frunzelor ca simptome primare, urmate de îndoirea vârfului lăstarilor de gutui, formând așa-numita „cârjă de păstor” și picături de exsudat bacterian, care constituie simptomele de bază ale focului bacterian al rozaceelor la culturile pomicole.

Din fructele și lăstarii cu simptome de foc bacterian, apărute în rezultatul inoculării artificiale, au fost pregătite maceratele și efectuate însămânțări în cutii Petri pe mediile de nutriție specifice agentului fitopatogen. După trei zile de incubare la 27°C, pe toate mediile de cultură am obținut colonii cu morfologie specifică bacteriei *E. amylovora*, conform descrierilor din standardul EPPO - PM 7/20.

Simptomele caracteristice focului bacterian, apărute pe fructele și lăstarii infectați, dovedesc natura virulentă a izolatelor utilizate și capacitatea unui inocul bacterian, prezent la o specie sămânțoasă, de a iniția rapid boala, în condiții de mediu favorabile, la restul culturilor pomicole.

Concluzii

1. Este confirmată prezența focului bacterian al rozaceelor la culturile de măr, păr și gutui prin postulatele lui Koch, generalizate conform următoarelor criterii: 1) depistarea simptomelor de boală pe planta gazdă; 2) izolarea bacteriei în cultură pură; 3) inițierea infecției prin inocularea unei plante gazdă; 4) izolarea bacteriei din planta inoculată simptomatică.

2. Apariția simptomelor de foc bacterian depistate la plantele studiate și rezultatele obținute la inoculările încrucișate ne permit să constatăm caracterul înalt virulent al fitopatogenului *Erwinia amylovora*, prezent în plantațiile pomicole sămânțoase de pe teritoriul Republicii Moldova.

3. În anii favorabili boala poate afecta toate părțile aeriene ale plantelor.

Referințe:

- PIQUÉ NÚRIA. Virulence Factors of *Erwinia amylovora*. In: *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, no.16, p.12836-12854.
- VRANCKEN, K. Pathogenicity and infection strategies of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* in *Rosaceae*: State of the art. In: *Microbiology*, 2013, no.159, p.823-832.
- SEVERIN, V. *Focul bacterian al rozaceelor (Erwinia amylovora)*. București: Ceres, 1996. 15 p.
- KAMBERA TIM et al. Characterization of the Biosynthetic Operon for the Antibacterial Peptide Herbicolin in *Pantoea vagans* Biocontrol Strain C9-1 and Incidence in *Pantoea* Species. In: *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, vol.78, no.12, p.4412-4419.
- BONN, W.G., VAN DER ZWET, T. Distribution and economic importance of fire blight. In: *Fire Blight: The Disease and Its Causative Agent, Erwinia amylovora*, J.L. Vanneste, ed (Wallingford, U.K.: CAB International), 2000, p.37-53.
- BILLING, E. Fireblight (*Erwinia amylovora*) and Weather – a Comparison of Warning Systems. In: *Ann. Appl. Biol.*, 1980, no.95, p.365-377.
- BILLING, E. Fire Blight. Why do views on host invasion by *Erwinia amylovora* differ? In: *Plant Pathology*, 2011, no.60, p.178-189.
- VAN DER ZWET, T. *Fire Blight – Its Nature, Prevention, Management*. U.S. Department of Agriculture. Agriculture Information Bulletin, 1999, no.631. 97 p.
- El fuego bacteriano de las rosáceas (*Erwinia amylovora*). V.A. Impresores, S.A., 2009, p.18. ISBN: 978-84-491-0962-1

10. KEIL, H.L., VAN DER ZWET, T. Recovery of *Erwinia amylovora* from symptomless stems and shoots of Jonathan apple and Barlett pear trees. In: *Phytopathology*, 1972, no.62, p.39-42.
11. CHIRIAC, I.P., LIPȘA, F.I.D., ULEA, E. Comparative study regarding in vitro infections with *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on pomaceae species. In: *Cercetări Agronomice în Moldova*, 2015, vol.XLVIII, no.1(161), p.97-106.
12. DOOLOTKELDIEVA, T., BOBUSHEVA, S. Fire Blight Disease Caused by *Erwinia amylovora* on *Rosaceae* Plants in Kyrgyzstan and Biological Agents to Control This Disease. In: *Advances in Microbiology*, 2016, no.6, p.831-851.
13. DECKERS, T., SCHOOF, H. Bacterial Problems in Belgian Pear Growing. In: *The compact fruit tree*, 2001, vol.34, no.4, p.121-124.
14. MAGHER, M. Arsura și focul bacterian la culturile pomicele sămânțoase – simptome, diagnoză și combatere. În: *Lucrări științifice ale Universității Agrare de Stat din Moldova*, 2015, vol.42(1), p.319-325. ISBN 978-9975-64-272-9
15. VAN DER ZWET, T., KEIL, H.L. Fire Blight – A bacterial disease of *Rosaceous plants*. Agriculture Handbook 510. US Department of Agriculture. Washington, 1979. 200 p.
16. BIGGS, A.R., TURECHEK, W.W., GOTTWALD, T.R. Analysis of fire blight shoot infection epidemics on apple. In: *Plant Dis.*, 2008, no.92, p.1349-1356.
17. NADARASAH, G., STAVRINIDES, J. Insects as alternative hosts for phytopathogenic bacteria. In: *FEMS Microbiol. Rev.*, 2011, no.35, p.555-575.
18. MCART, SCOTT H. et al. Arranging the bouquet of disease: floral traits and the transmission of plant and animal pathogens. In: *Ecology Letters*, 2014, no.17, p.624-636.
19. FARKAS AGNES et al. Floral traits affecting fire blight infection and management. In: *Trees*, 2012, no.26, p.47-66.
20. VANNESTE, I.L. What is fire blight? Who is *Erwinia amylovora*? How to control it? In: *Fire Blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. Wallingford UK: CABI Publishing, 2000, p.1-8.
21. STOCKWELL, V.O., DUFFY, B. *Use of antibiotics in plant agriculture*. In: *Rev. Sci. Tech., Off. int. piz.*, 2012, no.31(1), p.199-210.
22. IDIA RUZ, CONCEPCIY MORAGREGA, EMILIO MONTESINOS. *Evaluation of four whole-plant inoculation methods to analyze the pathogenicity of Erwinia amylovora under quarantine conditions*. In: *International Microbiology*, 2008, no.11, p.111-119. ISSN: 1139-6709
23. NORELLI, J.L., JONES, A.L., ALDWINCKLE, H.S. Fire Blight Management in the Twenty-first Century. In: *Plant Disease*, vol.87, no.7, p.756-765.
24. LAGONENKO, A. et al. First Report of *Erwinia amylovora* Fire Blight in Belarus. In: *Journal of Phytopathology*, 2008, vol.156, no.10, p.638-640.
25. МАГЕР, М.Г. Некоторые исторические и экономические аспекты бактериального ожога в Республике Молдова. В: *Информационный бюллетень ВПРС МОББ (41)*, Материалы докладов Международного симпозиума «Защита растений – проблемы и перспективы», Кишинев, 30-31 октября 2012 года, с.223-227. ISSN 978-9875-56-069
26. ЯКОВЛЕВА, Л.М. и др. *Erwinia amylovora* – возбудитель бактериального ожога древесных в Украине. В: *Мікробіологічний журнал*, 2014, том 76, №46 лепень-серпень, с.26-33.
27. VRANCKEN, K. et al. Pathogenicity and infection strategies of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* in *Rosaceae*: State of the art. In: *Microbiology*, 2013, no.159, p.823-832.
28. DONICA, I., DONICA, A. Starea actuală și perspectiva pomiculturii în Republica Moldova. În: *Revista Akademos*, 2009, nr.2(13), p.71-76.
29. НИКОЛАЕВ, А.Н., ВОЛОЩУК, Л.Ф., ТЕРТЯК, Д.Д. Бактериальный ожог плодовых культур – новое для Молдовы заболевание. В: *Protecția integrată a plantelor (culegere de articole)*, Chișinău, 1997, p.194-198.
30. МАГЕР, М.К., БОУБЭТРЫН, И.Н., ПЫНЗАРУ, Б.В. Бактериальный ожог плодовых в Молдове. В: *Protecția plantelor de dăunători, boli și buruieni în Republica Moldova*. Tezele rapoartelor Conferinței științifico-practice, Chișinău, 12-13 noiembrie, 1998, p.59.
31. VAN DER ZWET, T. *Fire Blight – Its Nature, Prevention, Management*. U.S. Department of Agriculture. Agriculture Information Bulletin, 1999, no.631. 97 p.
32. PM 7/20 (2). *Erwinia amylovora*. In: *EPPO Bulletin*, 2013, vol.43(1), p.21-45. ISSN 0250-8052
33. MAGHER, M. Unele caractere fenotipice ale izolatelor bacteriene obținute din plante de măr, păr și gutui. În: *Lucrări științifice ale Universității Agrare de Stat din Moldova*, 2013, vol.36(2), p.239-242. ISBN 978-9975-64-125-8
34. КИРАЙ, З. и др. *Методы фитопатологии*. Москва: Колос, 1974, с.97.
35. PATERNOSTER, THOMAS et al. Selection of a biocontrol agent based on a potential mechanism of action: degradation of nicotinic acid, a growth factor essential for *Erwinia amylovora*. In: *International Microbiology*, 2010, no.13, p.195-206. ISSN: 1139-6709

36. МАГЕР, М. и др. Эффективность фунгицида Aliette 80 WG в борьбе с бактериозами яблони и идентификация изолятов, выделенных из пораженных тканей растений. В: *Современное состояние и перспективы инновационного развития сельского хозяйства*. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию со дня основания Научно-исследовательского института сельского хозяйства, 16-17 ноября 2015, г. Тирасполь, с.322-327. ISBN 978-9975-53-552-6
37. JOHNSON, K.B., STOCKWEL, V.O. Management of fire blight: A case study in microbial ecology. In: *Ann. Rev. Phytopathol.*, 1998, nr.36, p.227-248.
38. MAGHER, M.G. Simptome caracteristice pentru *Erwinia amylovora* și unele aspecte morfologice ale izolatelor bacteriei. În: *Știința agricolă*, 2010, nr.2, p.21-24.
39. MANSFIELD JOHN et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. In: *Molecular plant pathology*, 2012, no.13(6), p.614-629.
40. Crown Canker of Dogwood: *Phytophthora cactorum* [Accesat: 10.11.2016]. Disponibil: <http://plantclinic.cornell.edu/factsheets/dogwoodcrowncanker.pdf>

Prezentat la 11.09.2016

CZU: 579: 61+579.676

UTILITATEA UNOR GENURI DE BACTERII INTESTINALE ȘI SEMNIFICAȚIA LOR ÎN SĂNĂTĂȚEA ORGANISMULUI

Maria TIMOȘCO, Victoria BOGDAN, Aliona VELCIU

Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM

În cadrul investigațiilor ce vizează izolarea și identificarea monotulpinilor de lactobacterii intestinale s-a constatat că acestea reprezintă lactobacterii în diversă formă (bacili și coci) ce aparțin familiilor Lactobacillaceae și Streptococcaceae și genurilor: Lactobacillus (33,29%), Lactococcus (19,32%), Streptococcus (22,51%) și Enterococcus (24,86%). Conform activității antagoniste și capacității adezive sporite, acestea au demonstrat utilitate esențială pentru organism. Cercetările în experimente model (pe porci sugari) au depistat deosebire esențială între nivelul cantitativ și calitativ al bacteriilor din genurile Lactobacillus și Enterococcus la animale cu simptome de disfuncții diareice (diminuare cu 22,46, 26,71 și 22,44% și creștere cu 20,50, 18,47 și 16,86% respectiv vârstei de 7, 15 și 30 de zile), comparativ cu cele sănătoase. Concomitent, s-a dovedit că mărirea numărului de enterococi a avut caracter diferențiat, pentru că s-a evidențiat creștere numai la specia de *Enterococcus faecalis*, iar la specia *Enterococcus faecium* – diminuare. Prin aceasta s-a confirmat opinia despre rolul semnificativ al lactobacteriilor în sănătatea organismului, deoarece în cazul patologiei intestinale are loc diminuarea cantitativă a celor cu proprietăți utile și sporirea celor de categorie condiționat patogenă.

Cuvinte-cheie: lactobacterii, genuri microbiene, activitate antagonistă, capacitate adezivă, utilitate, rol semnificativ.

THE UTILITY SOME GENERES OF GUT BACTERIA AND THEIR SIGNIFICANCE IN THE ORGANISM HEALTH

The studies directed of isolation and to identify mono strains of intestinal lactobacteria have found these represent lactobacteria in diverse form (bacilli and cocci) that belong families Lactobacillaceae and Streptococcaceae and genres: Lactobacillus (33,29%), Lactococcus (19,32%), Streptococcus (22,51%) and Enterococcus (24,86%). According antagonistic activity and greater adhesive capacities they demonstrated essential utility for the organism. Research in model experiments (the piglets) detected essential difference between quantitative and qualitative level bacteria of the genus Lactobacillus and Enterococcus to animals with dysfunctions diarrheal symptoms (decreasing by 22.46, 26.71 and 22.44% growth 20.50, 18.47 and 16.86% respectively age of 7, 15 and 30 days), compared to the healthy. Concomitant it was shown to increase the number of Enterococci had differentiated character, because it evidenced growth only at species of Enterococcus faecalis, and decrease – species Enterococcus faecium. Through this it was confirmed opinion about the significant role of lactobacteria in the health of organism, because in the case of intestinal pathology quantitative reduction occurs those with useful properties and increasing - the category pathogenic conditioning.

Keywords: lactobacteria, microbial genres, antagonist activity, cohesiveness, utility, significant role.

Introducere

Informația existentă atenționează că lactobacteriile dispun de un șir de proprietăți utile pentru organism, iar utilitatea acestor bacterii, în mare măsură, poate fi diferențiată [1-3]. Se consideră că unele specii de lactobacterii contribuie la îmbunătățirea imunității organismului [4-5]. Printre acestea au fost evidențiate cele cu proprietăți imunomodulatoare [6-8] și imunostimulatoare [9]. Concomitent se relatează că ele îndeplinesc un șir de funcții utile pentru organism, cum ar fi cea de protecție (referitor la speciile cu activitate antagonistă mare și la cele cu capacități adezive sporite) [10-14]. Coeficientul de combatere a microorganismelor cauzatoare de maladii intestinale la lactobacterii se datorează, în mare măsură, bacteriocinilor sintetizate de către ele [15-17]. Alta este cea sintetizatoare a substanțelor biologice active (de tipul vitaminelor, enzimelor, aminoacizilor, adevizinelor, lectinelor ș.a.) [18].

Deoarece aceste bacterii au o gamă largă de proprietăți utile, considerate de acțiune probiotică și simbiotică, ele au fost propuse spre includere în componența unor preparate farmaceutice cu destinație profilactică și terapeutică, precum și de fortificare a sănătății organismului [19-24].

În unele lucrări se atenționează că nivelul cantitativ al acestor bacterii în conținutul intestinal uman se recomandă în calitate de test pentru aprecierea rapidă a stării bacteriocenozei intestinale (sanogene sau patologice) [21,25,27], iar în altele atenția principală este atrasă rolului lor în sănătatea organismului [22,24,26,28 ș.a.].

Cele expuse au condiționat scopul lucrării – determinarea utilității unor genuri de bacterii intestinale (tulpinilor autohtone) și a semnificației lor în sănătatea organismului.

Material și metode

Pentru atingerea scopului trasat în calitate de material de studiu a servit conținutul intestinal(rectal) acumulat de la copii, viței și porcei în dinamica de vârstă. Inocularea mostrelor s-a efectuat pe medii nutritive electiv agarizate, utilizate pentru izolarea monotulpinilor de microorganisme presupuse ca lactobacterii și pentru determinarea indicilor cantitativi ai acestor bacterii în dependență de starea sănătății organismului (sanogene sau patologice). Izolarea, identificarea și experimentarea lactobacteriilor autohtone s-a realizat prin metode microbiologice clasice și cu ajutorul determinatoarelor Bergy (1984-2005), iar a indicilor cantitativi la indivizi sănătoși și cu simptome de patologii intestinale – prin folosirea metodelor descrise deja în lucrările precedente [34-36].

Rezultate și discuții

Din conținutul intestinal al copiilor, vițelilor și porcelor au fost izolate 1661 monotulpini de bacterii intestinale (respectiv câte 1245, 219 și 197 tulpini). După identificare s-a constatat că toate produc acid lactic. De aceea, s-a considerat că acestea reprezintă lactobacterii în diversă formă (bacili și coci) cu apartenența la 2 familii: Lactobacillaceae și Streptococcaceae și 4 genuri: Lactobacillus (553), Lactococcus (321), Streptococcus (374) și Enterococcus (413 monotulpini). Acestea au constituit, respectiv, 33,29, 19,32, 22,51 și 24,86%, adică pe primul loc erau lactobacilii, pe al doilea – enterococii, pe al treilea – streptococii și pe al patrulea – lactococii. Considerând că de la copii au fost izolate o cantitate mai mare de monotulpini, a fost rațional de a determina cota procentuală a fiecărui dintre genurile nominalizate (Tabl.1).

Tabelul 1

Apartenența de gen a lactobacteriilor izolate din conținutul intestinal al copiilor de diverse vârste

| Vârsta copiilor, ani | Cantitatea totală de tulpini supusă cercetărilor | Apartenența de gen | Cantitatea tulpinilor izolate | Cota, % |
|----------------------|--|--------------------|-------------------------------|---------|
| 1 | 120 | Lactobacillus | 45 | 37,50 |
| | | Lactococcus | 35 | 29,16 |
| | | Streptococcus | 26 | 21,66 |
| | | Enterococcus | 14 | 11,66 |
| 2 | 130 | Lactobacillus | 47 | 36,15 |
| | | Lactococcus | 39 | 30,00 |
| | | Streptococcus | 28 | 21,53 |
| | | Enterococcus | 16 | 12,30 |
| 3 | 147 | Lactobacillus | 52 | 35,37 |
| | | Lactococcus | 44 | 29,93 |
| | | Streptococcus | 30 | 20,40 |
| | | Enterococcus | 21 | 14,28 |
| 5 | 164 | Lactobacillus | 54 | 32,93 |
| | | Lactococcus | 31 | 18,90 |
| | | Streptococcus | 37 | 22,56 |
| | | Enterococcus | 42 | 25,60 |
| 7 | 167 | Lactobacillus | 55 | 32,93 |
| | | Lactococcus | 27 | 16,16 |
| | | Streptococcus | 38 | 22,75 |
| | | Enterococcus | 47 | 28,14 |
| 10 | 169 | Lactobacillus | 55 | 32,54 |
| | | Lactococcus | 23 | 13,60 |
| | | Streptococcus | 42 | 24,85 |
| | | Enterococcus | 49 | 28,99 |
| 12 | 177 | Lactobacillus | 56 | 31,64 |
| | | Lactococcus | 20 | 11,29 |
| | | Streptococcus | 47 | 26,55 |
| | | Enterococcus | 54 | 30,50 |
| 16 | 171 | Lactobacillus | 47 | 27,48 |
| | | Lactococcus | 17 | 9,94 |
| | | Streptococcus | 49 | 28,65 |
| | | Enterococcus | 58 | 33,91 |

Datele din Tabelul 1 demonstrează că lactobacteriile izolate de la copii în mare măsură reprezintă genul *Lactobacillus*, atingând nivelul de: 37,50; 36,15; 35,37; 32,93; 32,93; 32,54; 31,64 și 27,48% (respectiv vârstei de: 1, 2, 3, 5, 7, 10, 12 și 16 ani). Referitor la bacteriile în formă de coci, se observă următoarea continuitate: în perioada de 1-3 ani pe primul loc erau lactococii, pe al doilea – streptococii și pe al treilea – enterococii, iar în perioada de 5-16 ani cea mai mare cotă procentuală ocupau bacteriile genului *Enterococcus*, apoi *Streptococcus* și *Lactococcus*.

În continuare, la toate tulpinile izolate, conform indicelui de combatere a microorganismelor din genurile *Escherichia* și *Salmonella*, a fost determinată activitatea antagonistă, pentru că tocmai acestea prezentau pericol pentru indivizii umani și animalii, fiind provocatori ai patologiilor intestinale (dismicrobismului și disfuncțiilor diareice).

Rezultatele obținute la inocularea tulpinilor de bacterii izolate în comun cu escherichiile și salmonelele pe medii nutritive electivă expuse în Tabelul 2 au demonstrat că acestea sunt cu activitate antagonistă înaltă.

Tabelul 2

Activitatea antagonistă a tulpinilor de lactobacterii intestinale izolate de la copii, viței și purcei de diferită vârstă

| Cantitatea monotulpinilor cercetate | Genul lactobacteriilor | Indicele de combatere a cauzanților maladiilor diareice, % | |
|-------------------------------------|------------------------|--|-------------|
| | | Escherichii | Salmonelle |
| 1245 | Lactobacillus | 76,13-78,90 | 74,07-78,19 |
| | Enterococcus | 74,55-82,60 | 72,35-73,47 |
| | Streptococcus | 85,45-89,35 | 66,45-70,24 |
| | Lactococcus | 68,75-70,37 | 54,50-61,36 |
| 219 | Lactobacillus | 74,75-79,94 | 71,47-86,73 |
| | Enterococcus | 82,35-86,48 | 64,55-68,25 |
| | Streptococcus | 67,46-69,37 | 60,37-65,42 |
| | Lactococcus | 62,50-66,35 | 55,44-60,49 |
| 197 | Lactobacillus | 73,35-78,13 | 71,77-79,33 |
| | Enterococcus | 81,39-85,62 | 63,54-65,66 |
| | Streptococcus | 65,71-68,44 | 55,63-60,78 |
| | Lactococcus | 58,39-63,25 | 61,65-64,53 |

Notă: 1245 tulpini de bacterii au fost izolate de la copii, 219 – de la viței și 197 – de la purcei.

Acest fapt este confirmat prin gradul de oprimare a celulelor microbiene a test-microbilor utilizați. La tulpinile de bacterii izolate de la copii de diverse vârste indicele de combatere a escherichiilor a atins nivelul de 68,75 - 89,35%, iar a salmonelelor – de 54,50-78,19%; ale celor de la viței – respectiv, de 62,50-86,48% și de 55,44-86,73%, iar de la purcei – de 58,39-85,62% și 55,63-79,33%.

Continuitatea indicelui maxim de combatere a bacteriilor genului *Escherichia* a fost următoarea: pe primul loc s-a evidențiat la lactobacteriile genului *Streptococcus*, constituind circa 89,35%, și ale genului *Lactobacillus*, constituind circa 78,91%; pe locul doi erau cele din genul *Enterococcus* – cu 86,48%; pe locul trei erau cele din genul *Lactobacillus* – cu 79,94%, iar pe locul patru – cele din genul *Lactococcus*, cu 70,37%.

Deoarece aderarea și adaptarea lactobacteriilor la celulele epiteliale intestinale se datorează, în mare măsură, proprietăților adezive ale acestora, la monotulpinile autohtone a fost determinat și indicele adeziunii, iar rezultatele obținute sunt relatate în Tabelul 3.

Datele acestui Tabel denotă că indicele adeziunii tuturor monotulpinilor experimentate a fost destul de înalt, însă cel mai pronunțat s-a dovedit a fi la tulpinile de bacterii din genul *Lactobacillus*, care la copii a atins nivelul în limitele de 4,67-5,13; la viței – de 4,54-4,93 și la purcei – de 4,41-4,79 u.c., apoi la cele din genurile: *Enterococcus* (respectiv, de 4,58-4,77; 4,38-4,50; 4,28-4,66 u.c.); *Streptococcus* (de 3,66-4,37; 3,25-3,62; 3,13-3,46 u.c.) și *Lactococcus* (de 3,16-3,70; 2,90-3,30; 2,62-3,04 u.c.).

Tabelul 3

**Capacitatea adezivă a tulpinilor de lactobacterii intestinale izolate de la copii,
viței și purcei de diferită vârstă**

| Numărul de monotulpini testate | Genul microorganismelor | Cantitatea celulelor microbiene aderate la 25 de eritrocite sanguine native | Indicele adeziunii, u.c. | |
|--------------------------------|-------------------------|---|--------------------------|-----------|
| 1245 | 411 | Lactobacillus | 116,76 – 128,34* | 4,67-5,13 |
| | 301 | Enterococcus | 114,50 – 119,30* | 4,58-4,77 |
| | 297 | Streptococcus | 91,70 – 109,40* | 3,66-4,37 |
| | 236 | Lactococcus | 79,00 – 92,50* | 3,16-3,70 |
| 219 | 65 | Lactobacillus | 113,45 – 123,25** | 4,54-4,93 |
| | 58 | Enterococcus | 109,60 – 112,50** | 4,38-4,50 |
| | 40 | Streptococcus | 81,40 – 90,70** | 3,25-3,62 |
| | 56 | Lactococcus | 72,70 – 82,50** | 2,90-3,30 |
| 197 | 77 | Lactobacillus | 110,25 – 119,75*** | 4,41-4,79 |
| | 54 | Enterococcus | 107,20 – 116,70*** | 4,28-4,66 |
| | 37 | Streptococcus | 78,40 – 86,60*** | 3,13-3,46 |
| | 29 | Lactococcus | 65,70 – 76,20*** | 2,62-3,04 |

Notă: eritrocitele sanguine native sunt obținute din sânge: *) uman, **) bovin și ***) porcine.

Deci, potrivit acestor date, toate tulpinile de lactobacterii studiate au demonstrat o capacitate adezivă înaltă confirmată prin nivelul cantitativ al indicelui adeziunii, fiind mai mare de 2 u.c. (2,62-5,13). Concomitent, este de menționat că opinia existentă referitor la oportunitatea utilizării lactobacteriilor la pregătirea și producerea în masă a preparatelor probiotice de origine microbială este experimental confirmată. De aceea, considerăm că propunerea a astfel de bacterii spre utilizare în scopul producerii noilor remedii microbiene probiotice este argumentată, însă pot fi recomandate numai tulpinile ce dispun de activitate antagonistă și capacitate adezivă pronunțate.

Așadar, în mod experimental s-a constatat că tulpinile autohtone de lactobacterii experimentate au reflectat asemenea cerințe. De aceea, s-a conchis că ele, mai ales cele izolate de la copii, pot fi propuse spre includere în componența unor compoziții sau preparate microbiene cu destinație probiotică sau sanocreatogenă. Deci, în baza rezultatelor obținute s-a evidențiat posibilitatea recomandării diferențiate a tulpinilor autohtone de lactobacterii, izolate în debut, în scopul includerii în componența unor compoziții sau preparate microbiene, strict necesare pentru realizarea bacterioprofilaxiei și bacterioterapiei patologiilor intestinale (dismicrobismului și disfuncțiilor diareice).

Deoarece între bacili cantitatea tulpinilor cu apartenența la genurile *Lactobacillus* și *Enterococcus*, comparativ cu numărul bacteriilor altor genuri, era mai mare, în continuare a fost studiat rolul sau semnificația acestora în sănătatea organismului. Experimentele au fost realizate *in vivo*, pe animale model (purcei sugari) în dinamica de vârstă a animalelor (7, 15 și 30 zile după naștere).

Rezultatele obținute sunt reflectate în Tabelul 4.

Tabelul 4

**Indicii cantitativi ai lactobacteriilor autohtone la animale model (purceii sugari)
cu și fără disfuncții intestinale diareice**

| Lotul | Genul de microorganisme | Cantitatea celulelor microbiene la 1g de conținut intestinal, logaritmi zecimali(log), conform vârstei (zile) | | | Deosebirea de lotul martor, % conform vârstei (zile) | | |
|-------|-------------------------|---|-----------|-----------|--|--------|--------|
| | | 7 | 15 | 30 | 7 | 15 | 30 |
| I | 1 | 8,37±0,20 | 8,46±0,13 | 8,42±0,12 | | | |
| | 2 | 7,17±0,12 | 7,36±0,10 | 7,53±0,11 | | | |
| II | 1 | 6,49±0,20 | 6,20±0,17 | 6,25±0,18 | -22,46 | -26,71 | -22,44 |
| | 2 | 8,64±0,17 | 8,72±0,15 | 8,79±0,17 | +20,50 | +18,47 | +16,86 |

Notă: Loturile de purcei sugari: I – lot martor (animale clinic sănătoase); II – lot experimental (animale bolnave, cu simptome de disfuncții intestinale diareice).

Genurile de microorganisme: 1 – *Lactobacillus*, 2 – *Enterococcus*.

Semnele „-” și „+” indică valorile numerice, respectiv mai mici sau mai mari, comparativ cu lotul martor (I).

În baza a astfel de date se poate afirma că indicii cantitativi ai bacteriilor intestinale din genurile *Lactobacillus* și *Enterococcus* la purceii cu simptome de disfuncții intestinale diareice se deosebeau considerabil de aceștia la animalele clinic sănătoase. Dacă la primele numărul lactobacililor era diminuat (cu 22,46, 26,71, 22,44% respectiv vârstei de 7, 15 și 30 zile), iar al enterococilor – mărit (cu 20,50, 18,47 și 16,86%), apoi la ultimele invers. Concomitent, este de menționat că la animalele din lotul experimental (II) bacteriile speciei *Enterococcus faecium* (utile organismului) se depistau în cantitate mai mică, iar cele ale speciei *Enterococcus faecalis* (condiționat patogene) – în cantitate mai mare, comparativ cu numărul acestora la animalele sănătoase.

Așadar, în baza informației existente [1-36], precum și a rezultatelor prezentei lucrări s-a constatat că lactobacteriile pot fi recunoscute cu utilitate sporită pentru organism. Experimental (pe exemplul microorganismelor din genurile *Lactobacillus* și *Enterococcus*) s-a dovedit că ele îndeplinesc un rol semnificativ în activitatea vitală și sănătatea lui, pentru că indicii cantitativi și calitativi ai acestor bacterii suferă schimbări esențiale în cazul patologiei intestinale (disfuncției diareice).

Referințe:

1. ТКАЧЕНК, Е.И., УСПЕНСКИЙ, Ю.П. *Питание, микробиоценоз и интеллект человека*. СпецЛит., 2006. 590 с. ISBN 5-299-00319-6
2. MARUO, T., SAKAMOTO, M., TODA, T., BENNO, Y. Monitoring the cell number of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC in human feces by real-time PCR with strain-specific primers designed using the RAPD technique. In: *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, no110(1), p.69-76.
3. QUARTIERI, A., SIMONE, M., GOZZI et al. Comparison of Culture-Dependent and Independent Approaches to Characterize Fecal Bifidobacteria and Lactobacilli. In: *Anaerobe*, 2015. pii: S1075-9964(15)30066-4. doi:10.1016/j
4. LIN, W.H., YU, B., LIN, C.K. et al. Immune effect of heat-killed multistrain of *Lactobacillus acidophilus* against *Salmonella typhimurium* invasion to mice. In: *J. Appl. Microbiol.* 2007, no102(1), p.22-31.
5. PAINEAU, D., CARCANO, D., LEYER, G. et al. Effects of seven potential probiotic strains of specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. In: *Immunology and Medical Microbiology*, 2008, no53, p.107-113.
6. FOLIGNE, B., NUTTEN, S., GRANGETTE, C. et al. Correlation between in vitro and in vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. In: *World J. Gastroenterol.*, 2007, no13(2), p.236-243.
7. O'HARA, A.M., O'REGAN, P., FANNING, A. et al. Functional modulation of human intestinal epithelial cell responses by *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus salivarius*. In: *Immunology*, 2006, no118(2), p.202-215.
8. VINDEROLA, G., MATAR, C., PALACIOS, J., PERDIGÓN, G. Mucosal immunomodulation by the non-bacterial fraction of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389. In: *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, no115(2), p.180-186.
9. БУЛАТОВА, Е.М., БОГДАНОВА, Н.М., ЛОБАНОВА, Е.А., ГАБРУССКАЯ, Т.В. Кишечная микробиота: современные представления. В: *Педиатрия*, 2009, №87(3), с.105-110.
10. ANOKHINA, I.V., KRAVTSOV, E.G., YASHINA, N.V. et al. Characterization of surface adhesins of lactobacilli used in production of probiotic preparations. In: *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2006, no141(6), p.716-719.
11. HÜTT, P., SHCHEPETOVA, J., LÖIVUKENE, K. et al. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. In: *J. Appl. Microbiol.*, 2006, no100(6), p.1324-1332.
12. JOHNS, P., PEREIRA, S.L., LEONARD, A.E. et al. Cytoprotective agent in *Lactobacillus bulgaricus* extracts. In: *Curr. Microbiol.*, 2007, no54(2), p.131-135.
13. MACPHERSON, A.J., HAPFELMEIER, S., MCCOY, K.D. The armed truce between the intestinal microflora and host mucosal immunity. In: *Semin. Immunol.*, 2007, no19(2), p.57-58.
14. MATIJASIC, B.B., STOJKOVIC, S., ROGELJ, I. Survival and in vivo adhesion of human isolates *Lactobacillus gasseri* LF221 and K7 in weaned piglets and their effects on coliforms, clostridia and lactobacilli viable counts in faeces and mucosa. In: *J. Dairy Res.*, 2006, no73(4), p.417-422.
15. DE VUYST, L., LEROY, F. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. In: *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, no13(4), p.194-199.
16. DIERKSEN, K.P., MOORE, C.J., INGLIS, M. et al. The effect of ingestion of milk supplemented with salivarin A-producing *Streptococcus salivarius* on the bacteriocin-like inhibitory activity of streptococcal populations on the tongue. In: *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2007, no59(3), p.584-591.
17. DIMOVA, M.I. Study of probiotic properties of bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* G3/3(13) strain. In: *Mikrobiol. Z.*, 2006, no68(4), p.47-54.
18. KIM, E.Y., KIM, Y.H., RHEE, M.H. et al. Selection of *Lactobacillus* sp. PSC101 that produces active dietary enzymes such as amylase, lipase, phytase and protease in pigs. In: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2007, no53(2), p.111-117.

19. LIMDI, J.K., O'NEILL, C., MCLAUGHLIN, J. Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology? In: *World J. Gastroenterol.*, 2006, no12(34), p.5447-5457.
20. MAKELAIMEN, H., FORSSTEN, S., OLLI, K. et al. Probiotic lactobacilli in a semi-softcheese survive in the simulated human gastrointestinal tract. In: *International Dairy Journal*, 2009, no11, p.675-683.
21. TIMOȘCO, M., FLOREA, N., VELCIU, A. *Evidențierea bacteriologică rapidă a dismicrobismului intestinal.* (Recomandări metodice). Chișinău, 2010. 25 p.
22. QUIGLEY, E.M. New perspectives the role of the intestinal flora in health and disease. In: *J. Gastrointestin. Liver. Dis.*, 2006, no15(2), p.109-110.
23. MARTINEZ, R.C., BEDANI, R., SAAD, S.M. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. In: *Br. J. Nutr.*, 2015, no7, p.1-23.
24. TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V. *Starea bacteriocenozei intestinale ca factor de semnalizare a dereglărilor în sănătate.* *Buletin de perinatologie*, 2015, nr.3, p.54-59.
25. VELCIU, A., TIMOȘCO, M., CIOCHINĂ, V. et al. *Diferențierea dismicrobismului și disfuncțiilor intestinale diareice: Recomandare metodică.* Chișinău: Tipografia AȘM, 2011. 40 p. ISBN 978-9975-62-298-1
26. TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V. Reprezentanți ai microbiocenozei intestinale și starea sănătății organismului. În: *Buletin de perinatologie*, 2014, nr.3(63), p.25-28.
27. TIMOȘCO, M., VELCIU, A., FLOREA, N. Proprietățile de bază ale unor reprezentanți obligativi ai bacteriocenozei intestinale la copii. În: *Buletin de perinatologie*, 2010, nr.1(45), p.32-35.
28. TIMOȘCO, M., BOGDAN, V. VELCIU, A. Semnificația unor genuri de microorganisme ale familiei Streptococcaceae în activitatea vitală a macroorganismului. In: *Buletin de perinatologie*, 2013, nr.1(57), p.8-11.

Prezentat la 06.10.2016

CZU: 616-092:616.24

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОБМЕННЫХ НАРУШЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ И РЕКУРРЕНТНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Алла ДОНОС*, Светлана ГАРАЕВА, Анна ЛЕОРДА, Влада ФУРДУЙ,
Галина ПОСТОЛАТИ, Галина РЕДКОЗУБОВА

* Государственный университет медицины и фармации им. Н.Тестемичану,
Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы

MECANISMELE PATOGENICE ALE TULBURĂRILOR METABOLICE ÎN CONDIȚIILE PNEUMONIILOR EXTRASPITALICEȘTI ȘI ALE BOLILOR RESPIRATORII RECURENTE

Sunt evidențiate mecanismele de influență a pneumoniilor comunitare și a infecțiilor respiratorii recurente la copii asupra metabolismului aminoacizilor liberi în serul sanguin, precum și influența modificărilor calitative și cantitative ale aminoacizilor asupra funcției și morfologiei țesuturilor și organelor.

Cuvinte-cheie: pneumonii extraspitalicești, infecții respiratorii recurente, patogeneză, infecții herpetice virale, metabolism, aminoacizi.

PATHOGENETIC MECHANISMS OF METABOLIC DISORDERS UNDER COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AND RECURRENT RESPIRATORY DISEASES

The paper highlights the community-acquired children's pneumonia and recurrent respiratory infections mechanisms of influence in the exchange of free amino acids serum, and shows the qualitative and quantitative amino acid modifications influence in the morphology and function of tissues and organs.

Keywords: community-acquired pneumonia, recurrent respiratory infections, pathogenesis, herpes viral infections, metabolism, amino acids.

Введение

Высокий уровень заболеваемости и летальности от инфекционных болезней у детей представляет актуальную проблему несмотря на достижения фундаментальной медицины и успешное внедрение в медицинскую практику инновационных технологий для улучшения качества диагностики и лечения. В общей структуре инфекционных заболеваний у детей по-прежнему доминируют острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), показатели заболеваемости от которых ежегодно остаются высокими и не имеют тенденции к снижению. Патогенетическую сущность внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний у детей составляет инфекционно-воспалительный процесс с последующей эндогенной интоксикацией. Это сложный многофакторный аутокаталитический процесс, приобретающий с течением времени универсальный характер.

Герпесвирусные инфекции вызывают не только острый инфекционный процесс с токсическим поражением клеточных структур различных органов и тканей, но и при латентном течении способствуют изменениям и нарушениям иммунного ответа [1,2]. Персистенция герпес-вирусов у детей в условиях внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний является фактором, усугубляющим депрессию фагоцитарной активности нейтрофилов, Т-клеточного звена иммунитета, показателей интерфероногенеза [3]. Таким образом, в основе частых и длительных респираторных заболеваний лежит изменение иммунологической реактивности организма ребенка. Однако в основе снижения резистентности детей лежат транзиторные, функциональные изменения не только иммунной системы, но и всего гомеостаза, поскольку выпадение любого звена метаболизма ведет к цепной реакции взаимосвязанных расстройств. Уровень свободных аминокислот (САК) и их производных сам по себе является регулирующим фактором многих узловых пунктов метаболизма и объективно отражает состояние метаболического баланса [4,5]. Поэтому обмен азотистых соединений, в частности – свободных аминокислот, неизбежно должен отражать уровень и специфику патологических изменений в организме при острой пневмонии и у часто болеющих детей.

Цель исследования состоит в попытке освещения интимных механизмов влияния внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний у детей на обмен свободных аминокислот сыворотки крови, а также влияния модификации качественного и количественного состава аминокислот сыворотки крови на функциональное состояние ряда органов.

Материал и методы

В данной и предыдущих работах методом жидкостной ионообменной хроматографии [6,7] исследовано содержание свободных аминокислот в сыворотке крови детей 1-10 лет при острой пневмонии и у часто болеющих детей, имеющих в анамнезе герпесвирусные инфекции.

Результаты и их обсуждение

Известно, что окислительный стресс, трактуемый как синдром основного заболевания, принимает участие в патогенезе более чем ста заболеваний организма человека и животных. На этом основании указанные процессы, включающие инициацию липопероксидации, стимуляцию свободнорадикальных реакций, денатурацию протеинов и ДНК, принято рассматривать как свободнорадикальную патологию. Базисным метаболическим сдвигом последних является резкое смещение баланса про- и антиоксидантных систем в сторону оксидантов. Синтезирующиеся биорадикалы способны активировать вторичные реакции, вызывать окислительную модификацию биомакромолекул (прежде всего – протеинов и ДНК) и стимулировать липопероксидацию, оказывая негативное влияние на функционирование клеток организма. Эти нарушения ведут к полной или частичной деградации молекулярных мишеней АФК либо изменению их свойств, приводя к формированию относительно стабильных метаболитов (в частности – гомоцистеина и его производных), которые могут быть использованы в качестве индикаторов интенсивности окислительного стресса и, соответственно, скорости протекания свободнорадикальных реакций [8]. В условиях окислительного стресса наиболее часто подвергаются окислительной модификации такие аминокислоты, входящие в состав основных белков организма, как лизин, пролин и аргинин. Важно отметить, что это происходит несмотря на неспецифическое действие биогенных или ксеногенных радикалов на полипептидную цепь. В то же время изменения, индуцируемые активными формами кислорода в белках, затрагивают не только их первичную структуру, но и способны изменять вторичную и третичную структуру протеинов, создавая условия для агрегации последних или даже их фрагментирования. К наиболее подверженным окислительной модификации белкам принято относить протеины, насыщенные SH-группами (например, дегидрогеназы, АТФазы и др.) [9,10].

Таким образом, в результате гипоксии и ферментных сдвигов наблюдается интенсификация процессов перекисного окисления липидов, сдвиг кислотно-щелочного равновесия в сторону ацидоза, что способствует нарушению функций различных органов и систем, особенно печени.

В последние годы исследователи подошли к выяснению интимных механизмов эпигенетических модификаций генов в условиях влияния факторов окружающей среды. Показано, что информация, кодирующая белки, записанная в виде нуклеотидной последовательности ДНК, может измениться, во-первых, вследствие точечных мутаций, хромосомных aberrаций и др., становясь основой генной эволюции, а также многих генных болезней; во-вторых, изменяется состояние генов – они попеременно активируются, ингибируются, вплоть до полного выключения. Каждый ген имеет свой, только ему присущий *status quo*, что предопределено в процессе эмбрионального развития, который зависит от как внутренних, так и внешних факторов. Но включение/выключение генов регулируется эпигенетическими модификациями (хотя они не затрагивают последовательность ДНК, однако меняют ее «обвеску»), которые также зависят от множества внешних и внутренних факторов. В клетке ДНК компактизирован комплекс белков гистонов, различные химические модификации которых включают или выключают ген. Помимо этого, выключение генов происходит при модификации непосредственно молекулы ДНК (метилование) [11]. Некоторые компоненты пищи влияют на эти процессы [12-14].

Ацетилирование гистонов (включение гена). Сульфарафан (содержащийся в капусте, брокколи, цветной капусте) и диаллилдисульфид (из чеснока) – включают гены, подавляя ферменты, которые репрессируют ген посредством снятия ацетильной метки с гистонов. Поэтому сульфарафан способен включать молчащие в раковых клетках гены – регулировщики нормального деления, что подавляет рост опухоли. Масляная кислота, образуемая микрофлорой человека при употреблении клетчатки, оказывает аналогичное влияние на работу генов, а также активирует иммунную систему, что подавляет рост раковых клеток.

Метилирование ДНК (выключение гена). Источники метильных групп – холин, метионин, фолиевая кислота (содержатся в яйцах, шпинате, бобовых и печени). Хронический дефицит метильных групп влечет спонтанное образование опухолей, а также ведет к активации мобильных элементов генома. Второй механизм, посредством которого пища изменяет экспрессию генов: «компонент пищи → рецептор → сигнальный путь → транскрипционный фактор → включение генов». Компоненты пищи расщепляются в процессе пищеварения до более простых веществ (аминокислоты, моносахара, жирные кислоты), которые транспортируются далее в клетки и связываются рецепторами. Сигнал от рецептора распространяется по клетке, доходит до ядра и экспрессия генов изменяется.

Таким образом, основной патологический процесс при эндотоксикозе протекает на клеточном и молекулярном уровне и связан с изменением свойств клеточных мембран, что приводит к нарушению клеточного гомеостаза, вызывая дистресс клеток (депрессию их функциональной активности).

Как известно, иммунная система призвана сохранять биологическую индивидуальность организма, распознавая и уничтожая чужеродные антигены вирусной, бактериальной и химической природы, а также удаляя из организма трансформированные собственные клетки. При этом развивается клеточный или гуморальный иммунный ответ по так называемому Т-зависимому или Т-независимому типу, что приводит к синтезу антиген-специфических иммуноглобулинов (Ig) (антител) класса А, G, М или Е, поликлональной активации В-клеток и синтезу неспецифических антигензависимых IgG и IgM, или гиперчувствительности замедленного типа, иммунологической толерантности. Иммунный ответ на конкретный антиген определяется совокупностью генетических и фенотипических особенностей, факторов окружающей среды (стресс, повышение температуры, радиация и др.), а также воздействием пищевых веществ. Все эти факторы потенциально могут обладать иммуномодулирующими свойствами, не изменяя при этом специфичности самого иммунного ответа. Компоненты пищи могут обладать модифицирующими свойствами в отношении клеточного и гуморального, а также неспецифического и нативного (природного) иммунитета. Они могут рассматриваться в качестве антигенов, митогенов или пищевых аллергенов, способных влиять как на системный, так и локальный иммунный ответ [12]. Снижение энергетической ценности рациона или содержания основных нутриентов, в частности – аминокислот, может привести к обеднению массы лимфоидных органов и функциональным нарушениям в иммунной системе. Это проявляется снижением хелперной активности лимфоцитов за счет снижения продукции цитокинов, нарушением межклеточных контактов при снижении экспрессии поверхностных антигенов, а также нарушением прохождения клеточного цикла и, как следствие, снижением пролиферативной способности клетки. При нормальном физиологическом состоянии белки пищи стимулируют синтез поликлональных IgA и IgM в Пейеровых бляшках. Расщепление белка до пептидов, способных всасываться без изменения функциональной структуры, оказывает выраженное стимулирующее влияние на иммунную систему [15,16]. От 30 до 40% периферических Т- и В-лимфоцитов обновляются каждые три дня, а подавляющее большинство В-лимфоцитов – в течение 10 дней [17], поэтому однократное воздействие пищевых факторов приводит к нестойкому изменению иммунного ответа организма в течение периода времени, сопоставимого со временем существования короткоживущего пула лимфоцитов. Появление новой генерации лимфоцитов способно восстановить физиологическое течение иммунных реакций. Длительные воздействия иммуномодуляторов вызывают более существенные изменения в иммунной системе. Если вещества, попадающие с пищей, обладают мутагенными или генотоксическими свойствами, то вызванные ими хромосомные нарушения сохраняются в клетках памяти, что может являться причиной нарушений вторичного иммунного ответа. Модулирующее действие пищевых веществ реализуется на субклеточном, клеточном и межклеточном уровнях взаимодействия. Влияние питания на клетки состоит в изменении свойств плазматической мембраны и активации мембранных ферментов, регуляции экспрессии рецепторов и их аффинности, активации рецепторзависимых сигнальных путей или инициации дополнительных сигналов в клетке, модуляции факторов транскрипции, активации протоонкогенов и вхождении в клеточный цикл, изменении экспрессии генов цитокинов и иммуноглобулинов и регуляции апоптоза. Именно на уровне рецепторов и их сигнальных путей реализуется влияние пищевых веществ на клетки иммунной системы, что в дальнейшем проявляется уже на уровне межклеточных взаимодействий и в целом на развитии иммунного ответа. Белокрылов Г.А. и др.(1986, 1988) выделили функциональную группу иммуноактивных аминокислот, куда входят треонин, валин, триптофан, аспарагиновая и

глутаминовая кислоты, серин, аланин, цистин, γ -аминомасляная кислота (γ АМК). Помимо того, что они формируют иммуноактивные белки организма, иммуноактивные аминокислоты обладают способностью ускорять производство Т-лимфоцитов, усиливают выработку специфических антител [18]. Эти аминокислоты обладают иммунологической активностью в широком диапазоне доз и поэтому наравне с пептидами перспективны в качестве иммуномодуляторов. Особенно характерна в этом плане аспарагиновая кислота, отличающаяся наиболее выраженной активностью. Проявление иммунологической активности у этих аминокислот, входящих и не входящих в состав белка, свидетельствует о наличии на Т-лимфоцитах рецепторов для этих соединений. В активированных Т-лимфоцитах повышается активный транспорт лизина и аргинина. Аргинин стимулирует антигенспецифический иммунный ответ в слизистых, повышает синтез цитокинов и митогениндуцированную пролиферацию лимфоцитов в Пейеровых бляшках. Уровень цистеина и его метаболита глутатиона резко снижен при инфекционных заболеваниях [19]. Глутамин необходим для поддержания функциональной активности нервной системы, роста клеток и повышения сопротивляемости организма к стрессу, потенцирует митогензависимую пролиферацию лимфоцитов и иммунный ответ на Т-зависимые антигены, а также усиливает противовирусный и противоопухолевый иммунитет. Дефицит триптофана приводит к нарушениям процессов активации и пролиферации лимфоцитов, снижает активность цитотоксических Т-лимфоцитов. Высокая иммунологическая активность отдельных аминокислот позволяет предположить, что аминокислоты как филогенетически более древние структуры выполняют в организме самостоятельную иммунорегуляторную функцию, т.е. наравне с пептидами являются самостоятельным звеном системы гомеостаза [20].

Суммируя влияние белков на иммунный ответ, следует выделить основные положения:

- 1) белковая недостаточность затрагивает все звенья иммунного ответа;
- 2) даже при низких количествах белка иммунный ответ может быть ослаблен, но не теряется его специфичность;
- 3) кратковременный белковый дефицит является стрессом для организма и приводит к повышению синтеза адаптогенных гормонов;
- 4) белковая недостаточность, как правило, сопровождается дефицитом витаминов и микроэлементов, что усиливает негативное влияние комбинированного алиментарного дефицита на иммунный ответ.

Таким образом, на каждое звено иммунного ответа одновременно воздействуют несколько пищевых факторов, что позволяет говорить не о влиянии отдельных компонентов, а об иммуномодулирующем действии питания. Конечный результат такого воздействия определяется:

- 1) иммунным статусом организма;
- 2) локальным иммунитетом желудочно-кишечного тракта;
- 3) наличием бактериальной или вирусной инфекции;
- 4) особенностью метаболических путей организма и уровнем обмена веществ;
- 5) генетическим контролем экспрессии генов.

Микрофлора ЖКТ, измененная в условиях хронической герпесвирусной инфекции, также влияет на метаболизм аминокислот [3,21]. Действительно, данные литературы свидетельствуют, что причинами нарушения всасывания аминокислот являются повреждение стенки тонкого кишечника (отек слизистой оболочки, воспаление) или неравномерное по времени всасывание отдельных аминокислот [2]. Всасываемость витаминов часто снижена, что влияет, в свою очередь, на всасываемость, синтез и обмен аминокислот. В связи с этим, большое значение приобретает возможность регенерации метионина, обладающего детоксицирующим действием (с участием серина, глицина через гомоцистеин). Промежуточным переносчиком метильной группы в этой реакции служит производное витамина В₁₂ – метилкобаламин, выполняющий роль кофермента. Кроме того, под действием бактерий в кишечнике в условиях нарушенного метаболизма путем декарбоксилирования ряда аминокислот синтезируются ложные нейротрансмиттеры – октопамин, р-фенилэтиламин, тирамин, предшественниками которых являются ароматические аминокислоты. Ложные нейромедиаторы конкурируют с нормальными медиаторами головного мозга – норадреналином, дофамином, адреналином, замещая их. Подобным эффектом обладает также и продукт метаболизма триптофана серотонин. Действительно, патологии нервной системы наблюдались нами у 90% детей в условиях внебольничных пневмоний и рекур-

рентных респираторных заболеваний, гиперактивность – у 70,9% таких детей. Нами был вычислен коэффициент *тормозные/возбуждающие* САК [22], характеризующий соотношение тормозных и возбуждающих процессов мозга на основе баланса медиаторных САК [23]. Несмотря на то, что у часто болеющих детей как тормозные, так и возбуждающие САК сыворотки крови изменены разнонаправленно, этот коэффициент повышен у них по сравнению с контролем в 1,4 раза. Это может свидетельствовать о возможном влиянии данного дисбаланса на функциональную активность ЦНС, что провоцирует преобладание тормозных процессов. Действительно, энцефалопатия выявлена у 19,35% детей с герпес-вирусными инфекциями в острой фазе, и у 27,28% детей – в латентной фазе.

Постоянство уровня γ АМК как одного из нейромедиаторов в ткани мозга существенно для деятельности ЦНС. Нарушение баланса между системой γ АМК и другими системами нейромедиаторов может стать причиной нарушения мембранного потенциала нервных клеток, регуляции активности синапсов. Кроме того, недостаточность витамина В₆, модификация обмена САК в ткани мозга являются причиной нарушения активности нейронных путей, контролирующей содержание γ АМК [24]. Выявленное нами в сыворотке крови часто болеющих детей повышенное содержание γ АМК в 1,5 раза говорит о снижении интенсивности метаболизма этой САК вследствие вероятного недостатка фолиевой кислоты и В₆ в связи с изменениями их всасываемости в ЖКТ. Поскольку производные γ АМК осуществляют многообразные эндотелиопротекторные, вазодилатирующие, антитромботические, антигипоксические функции, ограничивающие процессы перекисного окисления липидов, можно сделать вывод об ухудшении работы антиоксидантной системы организма у часто болеющих детей. Наконец, γ АМК при недостаточности печени вследствие сниженного почечного клиренса через ГЭБ может поступать в ЦНС в больших количествах, изменяя, таким образом, баланс нейромедиаторных САК.

В условиях внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний в результате гипоксии и ферментных сдвигов наблюдается интенсификация процессов перекисного окисления липидов, сдвиг кислотно-щелочного равновесия в сторону ацидоза, что вызывает нарушения функций различных органов и систем, особенно печени. Поэтому у детей, больных пневмонией, закономерно нарушаются обменные процессы, в частности – белковый обмен [25,26]. На это указывают результаты собственных исследований: у детей в условиях внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний, по сравнению со здоровыми, снижено суммарное содержание показателей азотистого обмена и содержание САК плазмы крови. Данные литературы свидетельствуют, что причинами нарушения всасывания аминокислот являются повреждение стенки тонкого кишечника (отек слизистой оболочки, воспаление) или неравномерное по времени всасывание отдельных аминокислот [2]. Кроме того, у больных детей в условиях внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний диагностирован токсический гепатит у 64,15% в острой фазе и у 84,09% – в латентной фазе. Выявленное нами снижение содержания глутамата и его амида глутамина в сыворотке крови детей с рекуррентными респираторными заболеваниями, по сравнению с контролем, коррелирует с повышенным уровнем NH₃, что свидетельствует о снижении функционального состояния гепатоцитов.

В рамках теории эксайтотоксичности [27] развиваются и аргументируются представления о том, что избыточное высвобождение возбуждающих нейротрансмиттеров (глутамата и аспартата) является ключевым звеном патогенеза многих заболеваний ЦНС, в том числе и перинатальных энцефалопатий и детского церебрального паралича, и обуславливает запуск биохимических реакций, ведущих к деструкции мембраны нервных клеток. У детей в условиях внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний имеет место нарушение баланса дикарбоновых САК, играющих важнейшую роль в определении структуры белковых молекул, регуляции их свойств и продолжительности жизни. Скорость посттрансляционного дезамидирования белков зависит, главным образом, от соотношения в их молекулах аспарагина и глутамина. Наконец, глутаминовая и аспарагиновая кислоты занимают центральное место в процессах связывания, транспорта и выведения из организма биологически активных форм азота. Нарушение превращений этих САК при эндогенных интоксикациях может играть ключевую роль в формировании патологий обменных процессов в целом. Маркерами эндогенной интоксикации могут быть и серосодержащие САК – метионин и его дериваты, поскольку количественные изменения их содержания в крови во многом определяют статус живого организма. Полагают, что цистеин играет при интоксикациях особую роль, так как лимитирует в этом процессе

синтез пептидов и белков [28]. Повышение содержания триптофана и нарушение серотонинового пути его метаболизма вследствие снижения активности гепатоцитов приводит к накоплению его токсического метаболита – 5-гидроксилуксусной кислоты в тканях и органах [4,5]. Поэтому повышение содержания в сыворотке крови триптофана при интоксикациях позволяет считать эту аминокислоту информативным маркером эндогенной интоксикации.

Патологические процессы печени и почек играют ведущую роль в развитии нарушений конечных этапов метаболизма аминокислот при эндотоксикациях. Маркерами интоксикаций могут служить такие неспецифические показатели, как индекс С и коэффициент Фишера, а также соотношение аминного азота в плазме и эритроцитах, а информативными маркерами эндогенной интоксикации может считаться содержание серосодержащих аминокислот, в частности – метионина и его деривата глутатиона. Выявленные изменения индексов *Фишера*, *С*, *Р*, *тирозин/фенилаланин*, *тормозные/возбуждающие САК* [22] подтверждают наличие таких органных проявлений хронической эндотоксикации, как изменения функционирования печени, поджелудочной железы, ЖКТ, щитовидной железы, ЦНС. Их можно рекомендовать в качестве показателей для проведения скрининга часто болеющих детей в условиях внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний.

Значительное снижение концентрации иммуноактивных САК также может быть маркером сниженного статуса иммунной системы у часто болеющих детей. Безусловно, такое состояние иммунной системы является фактором высокого риска развития осложнений, как местных (присоединение бактериального воспаления на различных уровнях респираторного тракта), так и общих (формирование иммунокомплексной и иной иммунной патологии) [16]. В условиях хронической бронхолегочной патологии незаменимые САК, в частности – метионин, становятся лимитирующими. Изменение содержания в сыворотке крови триптофана и гистидина позволяет считать их информативными маркерами эндогенной интоксикации

Выводы

Собственные результаты анализа свободных аминокислот сыворотки крови, а также анализ данных литературы, позволяют заключить, что герпесвирусные инфекции в условиях внебольничных пневмоний и рекуррентных респираторных заболеваний, изменяя аминокислотный профиль САК крови, ухудшают азотистый обмен в целом, провоцируя токсические поражения клеточных структур различных органов и тканей, вызывая полиорганную дисфункцию, и способствуют изменениям и нарушениям иммунного ответа.

Литература:

1. БАРАНОВА, И.П. Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей. В: *Материалы конгресса педиатров-инфекционистов*. Москва, 2003, с.141-143.
2. БУЛГАКОВА, В.А., БАЛАБОЛКИН, И.И. Острые респираторные инфекции у часто болеющих детей. В: *Медицинский совет*, 2007, № 3, с.25-30.
3. ЕРШОВ, Ф.И., КАСЬЯНОВА, Н.В. Цитомегаловирусная инфекция (современные данные об эпидемиологии, клинике, диагностике и терапии) В: *Инфекции и антимикробная терапия*, 2002, т.4, №4, с.76-89.
4. КРИЧЕВСКАЯ, А.А., ЛУКАШ, А.И., ШУГАЛЕЙ, В.С. и др. *Аминокислоты, их производные и регуляция метаболизма*. Ростов на Дону, 1983. 180 с.
5. НЕФЕДОВ, Л.И. *Формирование фонда свободных аминокислот и их производных в условиях метаболического дисбаланса* / Дисс.докт.мед.наук. Минск, 1992.
6. ДОНОС, А.А., ГАРАЕВА, С.Н., ЛЕОРДА, А.И. Профили свободных аминокислот в сыворотке крови как показатель иммунного статуса часто болеющих детей и детей с пневмонией. В: *Евразийский Союз ученых (ЕСУ). Медицинские науки*, 2015, №12 (21), с.60-63.
7. ДОНОС, А.А., ГАРАЕВА, С.Н., ЛЕОРДА, А.И., ПОСТОЛАТИ, Г.В. Процессы торможения и возбуждения в ЦНС у часто болеющих детей как показатель их психического здоровья. В: *Сборник публикаций мультидисциплинарного научного журнала «Архивариус» по материалам VII Международной научно-практической конференции «Наука в современном мире»*. Киев, 2016, с.126-129.
8. МЕНЬЩИКОВА, Е.Б., ЛАНКИН, В.З., ЗЕНКОВ, Н.К. и др. *Окислительный стресс. Преокиданты и антиоксиданты*. Москва, 2006. 556 с.
9. ЧЕСНОКОВА, Н.П., ПОНУКАЛИНА, Е.В., БИЗЕНКОВА, М.Н. и др. *Активация свободно-радикального окисления — эфферентное звено типовых патологических процессов*. Изд-во СГМУ, 2006. 177 с.

10. ЧЕШОКОВА, Н.П., МИХАЙЛОВ, А.В., МОРРИСОН, В.В. и др. *Инфекционный процесс*. Изд-во Академии естествознания, 2006. 484 с.
11. AFMAN, L., MÜLLER, M. Nutrigenomics: from molecular nutrition to prevention of disease. In: *J. Am. Diet. Assoc.*, 2006, 106, p.569-576.
12. ДНАНБИ, J.M., МОТЕ, P.L., WINGO, J. et al. Calories and aging alter gene expression for gluconeogenic, glycolytic and nitrogen metabolising enzymes. In: *Am J Physiol.*, 1999, 277(2), p.E352-360.
13. FRANCIS, G.A., FAYARD, E., PICARD, F., AUWERX, J. Nuclear receptors and the control of metabolism. In: *Annu. Rev. Physiol.*, 2003, 65, p.261-311.
14. LEE, C.K., KLOPP, R.G., WEINDRUCH, R. Gene expression of aging and its retardation by calorie restriction. In: *Science*, 1999, 285(5432), 1390-1393.
15. БЕСЕДНОВА, Н.Н. Регуляция иммунных процессов пептидами природного происхождения. В: *Антибиотики и химиотерапия*, 1999, №1, с.31-35.
16. TREGONING, J.S., SCHWARZE, J. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. In: *Clin. Microbiol. Rev.*, 2010, vol. 23(1), p.74-98.
17. БЕРЕЗОВ, Т.Т., КОРОВКИН, Б.Ф. *Биологическая химия*. Москва, 1998. 750 с.
18. БЕЛОКРЫЛОВ, Г.А., МОЛЧАНОВА, И.В., СОРОЧИНСКАЯ, Е.И. Способность некоторых аминокислот, входящих в состав белка, стимулировать тимусзависимый иммунный ответ. В: *Бюлл. экп. биол. и мед.*, 1986, №7, с.4-17.
19. MÜLLER, M., KERSTEN, S. Nutrigenomics: goals and strategies. In: *Nat. Rev. Genet.*, 2003, 4, p.315-322.
20. БЕЛОКРЫЛОВ, Г.А., МОЛЧАНОВА, И.В. Количественная характеристика действия некоторых аминокислот на иммунный ответ. В: *Иммунология*, 1988, 36, с.61-64.
21. КУСКОВА, Т.К., БЕЛОВА, Е.Г. Семейство герпесвирусов на современном этапе. В: *Лечащий врач*, 2004, № 05, с.18-25.
22. ГАРАЕВА, С.Н., РЕДКОЗУБОВА, Г.В., ПОСТОЛАТИ, Г.В. *Аминокислоты в живом организме*. Кишинев, 2009. 550 с.
23. РАЕВСКИЙ, К.С. Возбуждающие аминокислоты, патология ЦНС и пути ее фармакологической коррекции. В: *Итоги науки и техники. Серия: Физиология человека и животных*. Москва, 1989, т.36, с.148-176.
24. BEN-ARI, Y., GAIARSA, J., TYZIO, R., KHAZIROV, R. GABA: a pioneer transmitter that excites neurons and generates primitive oscillations. In: *Physiol Rev.*, 2007, 87, p.1215-1284.
25. СИЛЬВЕСТРОВ, В.П. Пневмония: исторические аспекты и современность. В: *Терапевтический архив*, 2003, т.3, № 9, с.63-69.
26. ТАТАРЕНКО, Ю.А. Оптимизация терапии внебольничных пневмоний у детей раннего возраста. В: *Медицина и образование в Сибири*, 2012, № 3, с.67-72.
27. АРХИПОВ, В.И., КАПРАЛОВА, М.В., ПЕРШИНА, Е.В. Эксайтотоксичность и экспериментальные подходы к нейропротекции. В: *Современные проблемы науки и образования*, 2013, № 5, с.28-36.
28. BREUILLE, D., BECHEREAU, F., BUFFIERE, C. Beneficial effect of amino acid supplementation, especially cysteine, on body nitrogen economy in septic rats. In: *Clinical Nutrition*, 2006, 25, p.634-642.

Prezentat la 15.07.2016

CZU: 616.831:614.4

CONCEPT DESPRE STIGMATIZAREA PACIENȚILOR CU EPILEPSIE

Elena BOUNEGRU

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Epilepsia se impune ca o problemă majoră de sănătate publică prin consecințele sale medicale, sociale, culturale și economice. Maladia poate avea efecte diverse asupra bunăstării sociale și psihologice a bolnavilor. Prin urmare, dezonorarea din partea comunității a pacienților cu epilepsie este acel impact ce formează stigmatizarea. Acest fenomen include stigmatizarea publică, autostigmatizarea și stigmatizarea familială. Studiile anterioare au demonstrat că stigmatizarea bolnavilor cu epilepsie este mult mai mare comparativ cu alte maladii psihiatrice. Scopul acestei lucrări constă în estimarea nivelului stigmei la pacienții epileptici, evaluarea stării afective a acestora. Pentru aceste persoane efectele negative ale stigmatizării includ: refuzul de a căuta tratament, respingerea subiecților de către familie și prieteni, probleme în ce privește angajarea în câmpul muncii etc.

Cuvinte-cheie: epilepsie, stigmatizare, autostigmatizare, stigmatizare publică, stigmatizare familială.

CONCEPT ABOUT THE STIGMATIZATION OF PATIENTS WITH EPILEPSY

Epilepsy is imposed as a major public health problem through its medical, social, cultural and economic consequences. The disease can have various effects on social and psychological well-being of patients. Therefore, dishonoring the community of patients with epilepsy represents an impact that forms the stigmatization of society. This phenomenon includes public stigma, and selfstigmatization in family stigma. Previous studies have shown that the number of patients with epilepsy that are stigmatized is much higher compared to other psychiatric diseases. The purpose of this study was to estimate the level of stigmatization in epileptic patients, assessing their emotional state. For these people the negative effects of stigma include: refusal to find out an efficient treatment, subjects are rejected by family and friends, problems in finding a job, etc.

Keywords: epilepsy, stigmatization, self stigmatization, public stigma, family stigma.

Introducere

Epilepsia este una dintre cele mai răspândite boli cronice; de ea suferă circa 65 milioane de persoane de pe glob. Povara epilepsiei este mai grea decât cea a bolilor de mușchi, a sclerozei multiple, a Parkinsonului și a demenței, toate la un loc. Dacă în Evul Mediu bolnavul epileptic era total marginalizat social, fiind considerat „demonizat”, în prezent acesta este încă frustrat la încadrarea sa în societate, în câmpul muncii, întemeierea unei familii. Toate acestea, ca și tendința de izolare cauzată de anxietate, de tema de a nu face criză, fac din pacientul suferind de epilepsie un om retras, singuratic, care se simte izolat și ignorat de către cei din jur. Majoritatea celor ce suferă de epilepsie (80%) se găsesc în țările în curs de dezvoltare, sărăcia, traumele și bolile infecțioase constituind un risc major. Și în țările dezvoltate epilepsia apare în fiecare an la 40–70 din 100.000 de persoane, cu o creștere în rândul persoanelor în vârstă.

Există o mare lacună în abordarea și atitudinea față de bolnavul cu epilepsie și se numește ea *stigmatizarea*. Prevalența stigmatizării la bolnavii cu epilepsie este mult mai mare decât la alte maladii psihiatrice. În studiile stigmatizării pentru pacienții cu epilepsie s-au implicat numeroși autori [1-10]. Ei susțin că calitatea vieții pacientului epileptic ar trebui privită nu doar din punct de vedere medical, dar și din perspectiva adaptării calitative în societate. Aceasta poate avea efecte economice, sociale și culturale, ca, de exemplu, refuzul căsătoriei cu acești pacienți în India și China.

Cuvântul „*stigma*” (adoptat din limba greacă) a fost introdus de Erving Goffman (1963) în studiile sale privind reabilitarea pacienților care au trecut prin spitale de psihiatrie de tipul unei „instituții totale”.

Există două tipuri de stigmă: stigma externă și stigma internă.

Stigma externă (discriminarea) se referă la atitudinea nedreaptă din partea celorlalți, determinată de lipsa de cunoștințe, intoleranță, prejudecăți. Discriminarea împiedică persoanele epileptice să trăiască o viață normală în societate, le obligă să-și ascundă diagnosticul. În plus, stigmatizarea afectează și pe ceilalți membri ai familiei persoanelor discriminate, proces numit stigmatizare prin asociere.

Stigma internă (autostigmatizarea, self-stigma) se referă la rușinea și așteptarea de a fi discriminat, care împiedică pacienții să vorbească despre experiențele lor și să caute ajutor. Acești pacienți încep să se perceapă

ca fiind diferiți, inacceptabili în comunitate. Consecințele negative ale acestui fenomen se reflectă atât în modificarea randamentului personal, cât și a funcționării sociale și a complianței la tratament.

Ambele stigme au efecte devastatoare, deoarece duc la izolare socială și la restricționarea suportului social.

Noutatea și originalitatea științifică. Noutatea științifică și originalitatea studiului constă în specificul abordării problematicii stigmatizării, precum și a conotației sale negative asupra calității vieții pacienților epileptici. Importanța studiului realizat rezidă în elucidarea factorilor ce favorizează stigmatizarea și a consecințelor ei asupra stării psihoemoționale la acești pacienți.

Material și metode

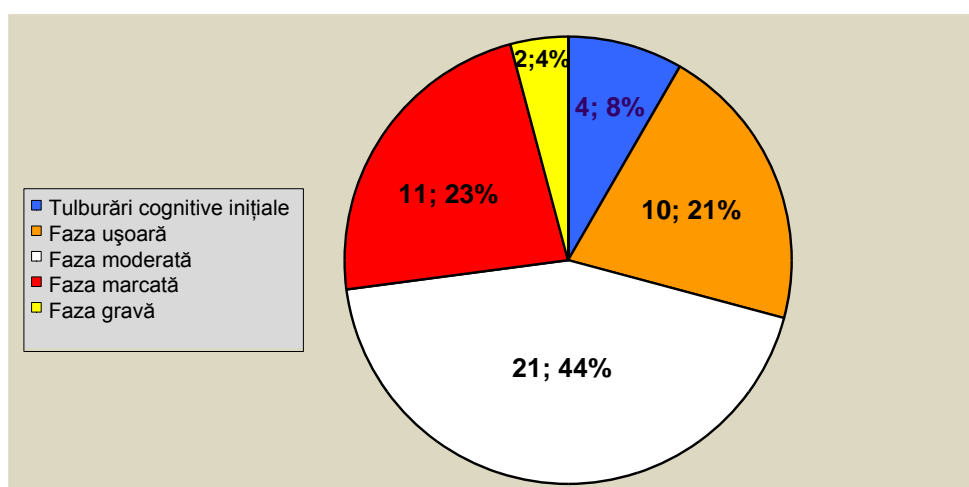
Pentru realizarea scopului au fost luați în studiu 50 de pacienți cu epilepsie din cadrul secțiilor clinice ale IMSP SCP. Metodele utilizate sunt următoarele: chestionarul pentru evaluarea factorilor stigmatizării dominanți în epilepsie, scala Hamilton, chestionarul Beck, testul MMSE, scala Rosenberg.

Rezultate

Tabelul 1

Rezultatele scalei MMSE

| Scorul MMSE | Stadiul | Caracteristici | Pacienți | |
|-------------|------------------------------|--|----------|------|
| | | | Abs | % |
| 30 p | Normal | Fără simptome | 0 | 0 |
| 24-27 p | Tulburări cognitive inițiale | Simptome mnezice | 4 | 8,0 |
| 21-23 p | Faza ușoară | Deficite mnezice și de gândire conturate | 10 | 2,0 |
| 18-20 p | Faza moderată | Deficite de gândire clare | 21 | 42,0 |
| 15-17 p | Faza marcată | Simptome cognitive și psihiatrice. Necesită un grad de asistență | 11 | 22,0 |
| 12-16 p | Faza severă | Necesită asistență pentru activități obișnuite zilnice | 2 | 4,0 |
| 0-11 p | Faza gravă | Necesită asistare instituționalizată | 2 | 4,0 |



Concluzie: Datele demonstrează că, conform stadiului, majoritatea bolnavilor prezintă o fază moderată (42,0%) și o fază marcată (22,0%) a demenței.

Tabelul 2

Rezultatele scalei pentru evaluarea factorilor dominanți ai stigmatizării

| A | | | B | | | C | | |
|------------|--------------|------|------------|--------------|------|------------|--------------|------|
| Nr. puncte | Nr. pacienți | | Nr. puncte | Nr. pacienți | | Nr. puncte | Nr. pacienți | |
| | Abs | % | | Abs | % | | Abs | % |
| 12-15 | 26 | 52,0 | 6-7 | 4 | 8,0 | 6-7 | 1 | 2,0 |
| 16-20 | 23 | 46,0 | 8-10 | 25 | 50,0 | 8-10 | 41 | 82,0 |
| 21-25 | 1 | 2,0 | 11-12 | 21 | 42,0 | 11-12 | 8 | 6,0 |

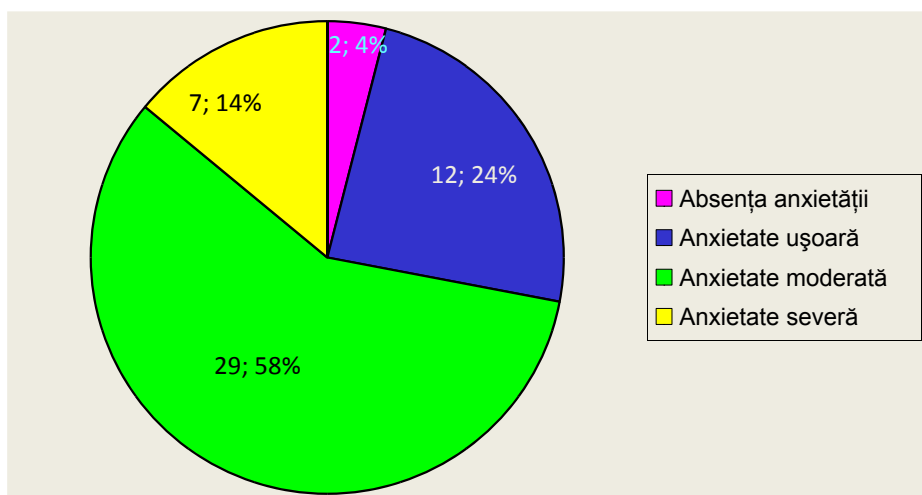
Notă: A – personalitatea fiecărui pacient; B – administrarea tratamentului medicamentos; C – familia pacientului.

Concluzie: Datele expuse denotă că unul dintre factorii principali îl constituie administrarea tratamentului medicamentos, anume acest lucru favorizează stigmatizarea la 41 de pacienți epileptici. Un alt factor care influențează la fel de mult calitatea vieții bolnavului este reacția familiei față de această maladie, deoarece o atitudine negativă a familiei va influența stigmatizarea. În cele din urmă, fiecărui individ îi revine capacitatea de a accepta diagnosticul care este discriminat de societate, pentru pacientul epileptic constituind o probă de rezistență și luptă continuă cu sine însuși, dar și cu societatea.

Tabelul 3

Rezultatele scalei HAM-A

| Grad de severitate | Abs | % |
|--------------------|-----|------|
| Absența anxietății | 2 | 4,0 |
| Anxietate ușoară | 12 | 24,0 |
| Anxietate moderată | 29 | 58,0 |
| Anxietate severă | 7 | 14,0 |

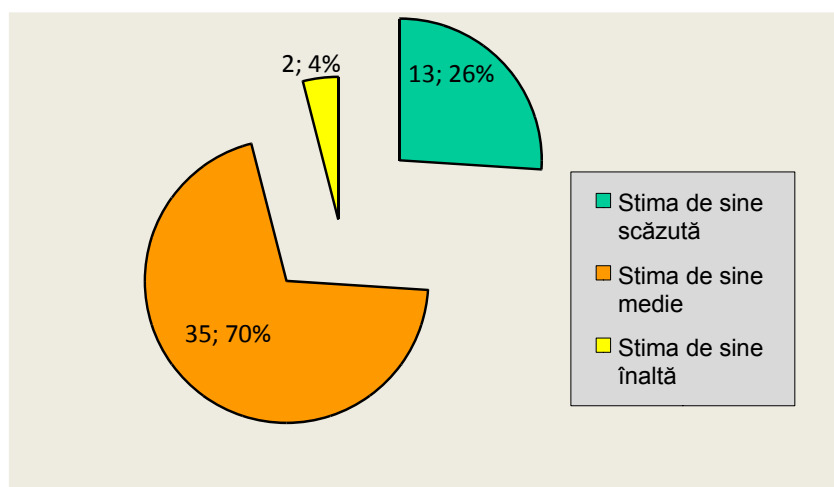


Concluzie: Observațiile noastre au demonstrat că majoritatea pacienților prezintă un nivel de anxietate moderată (58,0%).

Tabelul 4

Rezultatele scalei Rosenberg

| Stima de sine scăzută | | | Stima de sine medie | | | Stima de sine înaltă | | |
|-----------------------|--------------|------|---------------------|--------------|------|----------------------|--------------|---|
| Nr. puncte | Nr. pacienți | | Nr. puncte | Nr. pacienți | | Nr. puncte | Nr. pacienți | |
| | Abs | % | | Abs | % | | Abs | % |
| 10-16 | 13 | 26,0 | 17-33 | 35 | 70,0 | 34-40 | 2 | |

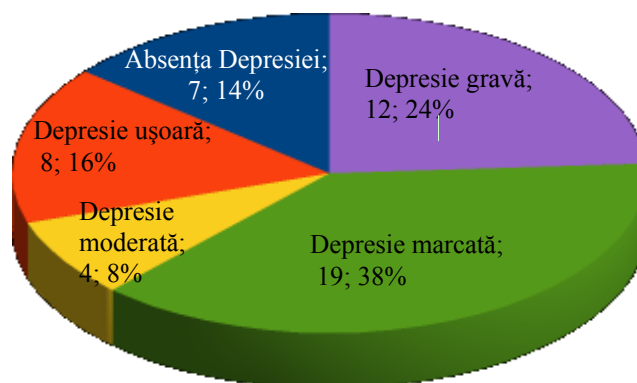


Concluzie: Observațiile noastre atestă că circa 2/3 dintre pacienții afectați de epilepsie prezintă o stimă de sine medie (70%), fapt condiționat de ignorarea persoanelor suferinde de epilepsie de către societate.

Tabelul 5

Rezultatele Scalei Beck

| Absența simptomaticii depresive | Depresie ușoară | Depresie moderată | Depresie marcată | Depresie gravă |
|---------------------------------|-----------------|-------------------|------------------|----------------|
| 7 pacienți | 8 pacienți | 4 pacienți | 19 pacienți | 12 pacienți |



Concluzie: Luând în considerare rezultatele obținute, se atestă un grad marcat al Depresiei (68%), iar aceasta favorizează în mod direct prezența stigmatizării și izolarea acestor persoane în lumea lor.

Concluzii generale și recomandări

1. Epilepsia se impune ca o problemă majoră de sănătate publică prin consecințele sale medicale, sociale și economice din țară, efectele negative ale stigmatizării fiind valorificate prin refuzul de a căuta tratament, respingerea subiecților de către familie și prieteni.
2. Luând în considerare rezultatele studiului efectuat, s-a ajuns la concluzia că la acești pacienți mai tare sunt afectate funcțiile intelectual-mnestice, fiind constatate stări depresive marcate.
3. Strategia noastră esențială în asistența medicală și reabilitare a fost axată pe îmbunătățirea calității vieții pacienților epileptici și pe încadrarea lor în societate prin informarea despre dauna stigmatizării în rândurile populației generale.
4. Consilierea familiei bolnavului epileptic este foarte importantă pentru a evita formarea stigmatizării familiale și va crește calitatea vieții bolnavului epileptic.

5. Un rol aparte în consilierea pacientului cu epilepsie revine personalului medical. De puterea lui de a convinge va depinde cum pacientul va accepta necesitatea tratamentului. Atmosfera de calm și simpatie pe care o vom crea în jurul pacientului îl va face pe acesta să-și recapete optimismul și încrederea în viață.
6. În scopul reducerii autostigmei, se recomandă diminuarea discriminării sociale, îmbunătățirea asistenței terapeutice, implementarea de programe educaționale pentru populație.

Referințe:

1. JACOBY, A., AUSTIN, J.K. *Social stigma for adults and children with epilepsy*, 2007.
2. BAKER, G.A., BROOKS, J., BUCK, D. and JACOBY, A. *The Stigma of Epilepsy: A European Perspective*, 2000. <http://www.online library wiley>.
3. CRAMER, J.A., BLUM, D., REED, M., FANNING, K. *Epilepsy Impact Project Group. The influence of comorbid depression on seizure severity*, 2003.
4. CRAMER, J.A., WESTBROOK, L.E., DEVINSKY, O., PERRINE, K., GLASSMAN, M.B., CAMFIELD, C. *Development of the Quality of Life in Epilepsy Inventory for Adolescents*, 1999.
5. DSM-IV Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Source Information, <https://www.nlm.nih.gov/> (Accesat: 04.03.2015).
6. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders Clinical descriptions and diagnostic guidelines. World Health Organization, 2015. <http://www.who.int/classifications/icd/en/bluebook.pdf>.
7. OPREA, N., NACU, A., OPREA, V. *Psihiatrie*. Chișinău, 2007.
8. POPOVICIU, L. *Epilepsiile*. Cluj-Napoca: Dacia, 1976.
9. БОЛДЫРЕВ, А.И. *Психические особенности больных эпилепсией*. Москва: Медицина, 2000.
10. БОЛДЫРЕВ, А.И. *Социальный аспект больных эпилепсией*. Издание второе, переработанное и дополненное. Москва, Медицина, 1997.

Prezentat la 30.11.2016

CZU: 343.54:[615.85: 613.885](478)

IMPACTUL PSIHIATRICO-LEGAL AL INFRAȚIUNILOR SEXUALE ÎMPOTRIVA MINORILOR ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Constanța MADAN

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Actuala cercetare are drept scop studierea și relevarea structurii infracțiunilor sexuale împotriva minorilor din Republica Moldova și determinarea urmărilor psihiatrice evidente. Studiului au fost supuse și analizate 100 de cazuri de infracțiuni sexuale împotriva minorilor, cercetate în secția clinică a Centrului de Medicină Legală din municipiul Chișinău, săvârșite în perioada anilor 2010-2015. Ulterior, în fișele medicale din arhiva Spitalului Clinic de Psihiatrie au fost căutate numele acestor victime, în vederea stabilirii prezenței la ele a unor tulburări psihice. S-a stabilit impactul infracțiunilor sexuale asupra stării psihice a minorilor în funcție de anumite criterii, folosind o fișă-schemă statistică anexată.

Cuvinte-cheie: *infracțiune sexuală, impact, urmări psihice, minori.*

THE FORENSIC AND PSYCHIATRIC CONSEQUENCES OF THE SEXUAL OFFENSES DIRECTED AGAINST THE MINORS FROM REPUBLIC OF MOLDOVA

The research purpose is to study and reveal the structure of sexual offenses against minors in Moldova with obvious psychiatric consequences. 100 cases of sexual offenses against children examined at Clinical Department of Forensic Medical Center and at the Archive of the Psychiatric Hospital from Moldova were studied, during the period of 2010-2015. It was established the impact of the sexual abuse to minors according by some points, using an annex statistics.

Keywords: *sexual offence, impact, psychiatric consequences, minors.*

Introducere

Abuzul sexual reprezintă implicarea unui copil sau adolescent minor dependent și imatur din punctul de vedere al dezvoltării psiho-sexuale în activități sexuale pe care nu este în măsură să le înțeleagă, care sunt nepotrivite pentru vârsta sa sau pentru dezvoltarea sa psiho-sexuală, activități sexuale pe care le suportă fiind constrâns prin violență sau seducție ori care transgresează tabu-urile sociale legate de rolurile familiale; aceste activități includ, de regulă, contact fizic, cu sau fără penetrare sexuală [1].

Victimele agresiunilor sexuale suferă o traumă semnificativă, în special copiii. Abuzul sexual îndreptat împotriva copiilor modifică starea lor emoțională, fizică și psihică și procesul de formare a acestora.

De multe ori copiii nu vorbesc despre ceea ce li se întâmplă. Motivele din cauza cărora copiii întârzie să dezvăluie un abuz sexual: gândesc că nu pot fi crezuți, se jenează, se simt vinovați, pot fi handicapați mental, ar putea să fie ambivalenți în ceea ce privește abuzul, actul e făcut de persoana pe care copilul o iubește și în care are încredere [2].

Deci, acest subiect este unul dintre cele mai importate care necesită o abordare foarte serioasă din partea societății.

Material și metode

Studiului au fost supuse și analizate 100 de cazuri de infracțiuni sexuale împotriva minorilor, cercetate în secția clinică a Centrului de Medicină Legală din municipiul Chișinău, săvârșite în perioada anilor 2010-2015. Ulterior, în fișele medicale din arhiva Spitalului Clinic de Psihiatrie au fost căutate numele acestor victime, în vederea stabilirii prezenței la ele a unor tulburări psihice. S-a stabilit impactul infracțiunilor sexuale asupra stării psihice a minorilor în funcție de sex, debutul maladiei, simptomatologia dezvoltată, prezența leziunilor, relația victimei cu agresorul, folosind o fișă-schemă statistică anexată. Materialul selectat a fost introdus pe fișe-scheme individuale de colectare a informației. Indicii stabiliți au fost analizați prin metoda analitică cu prelucrare computerizată.

Rezultate și discuții

În urma cercetării eșantionului s-a stabilit că 60% (31 de cazuri) din cele 100 au dezvoltat patologie psihiatrică în urma abuzului sexual, acesta având un impact major asupra stării psihice a minorilor și doar 40% (21 de cazuri) din cei investigați au fost anterior spitalizați în Spitalul Clinic de Psihiatrie, actualizându-se patologiile deja existente.

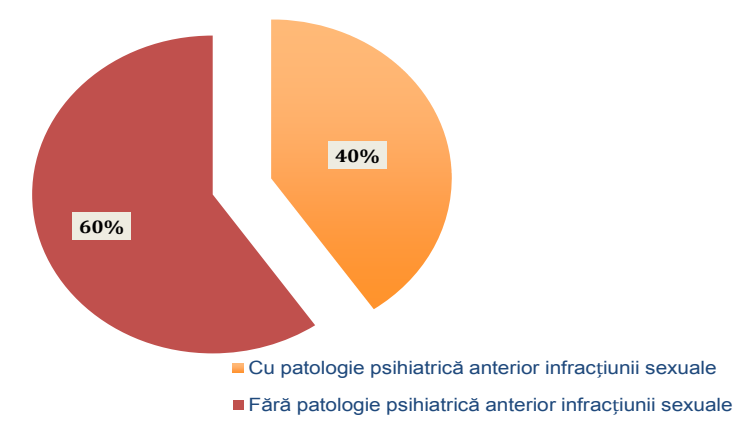


Fig.1. Debutul maladiilor psihice la minorii abuzați sexual.

În figurile 2 și 3 este prezentată structura cazurilor de infracțiuni sexuale împotriva minorilor după sex. Cele mai multe cazuri de viol au fost în rândul fetelor: atât al celor care au fost internate anterior în repetate rânduri în Spitalul Clinic de Psihiatrie, cât și al celor care au fost internate primar în urma abuzului sexual.

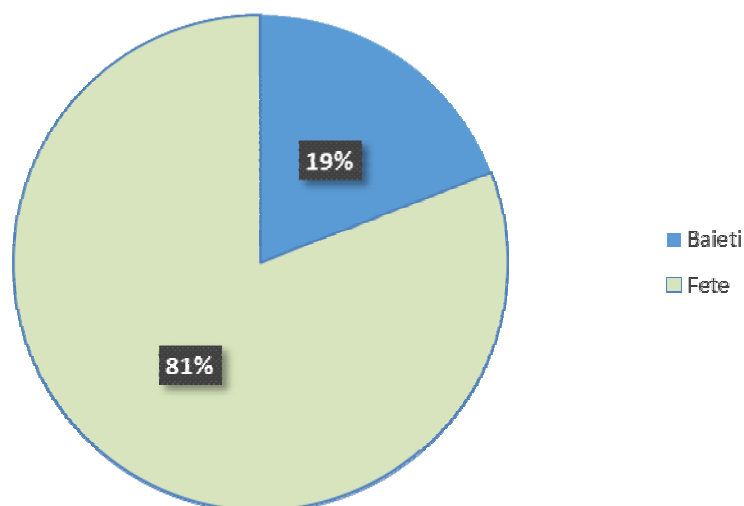


Fig.2. Structura cazurilor de infracțiuni sexuale după sex la copiii cu patologie psihiatrică anterior abuzului sexual.

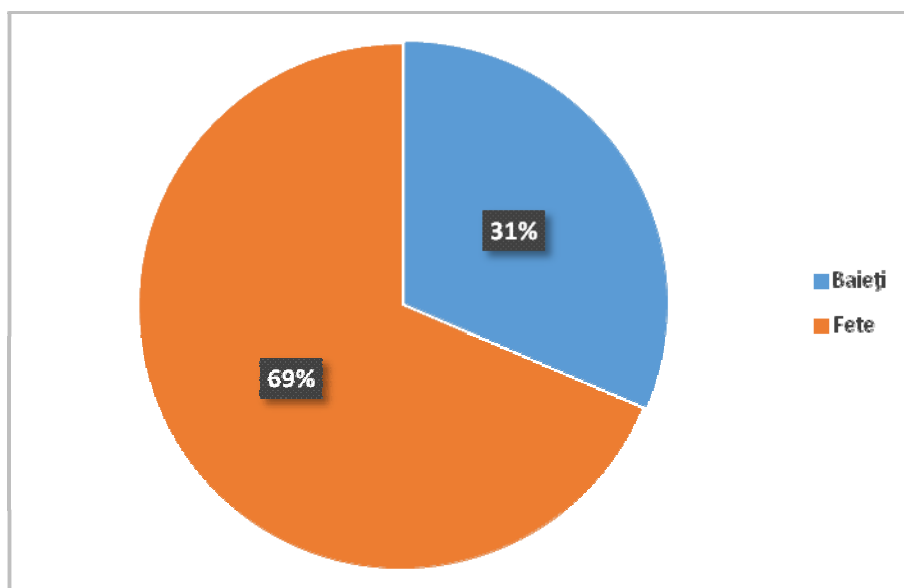


Fig.3. Structura cazurilor de infracțiuni sexuale după sex la copiii fără patologie psihiatrică anterior abuzului sexual.

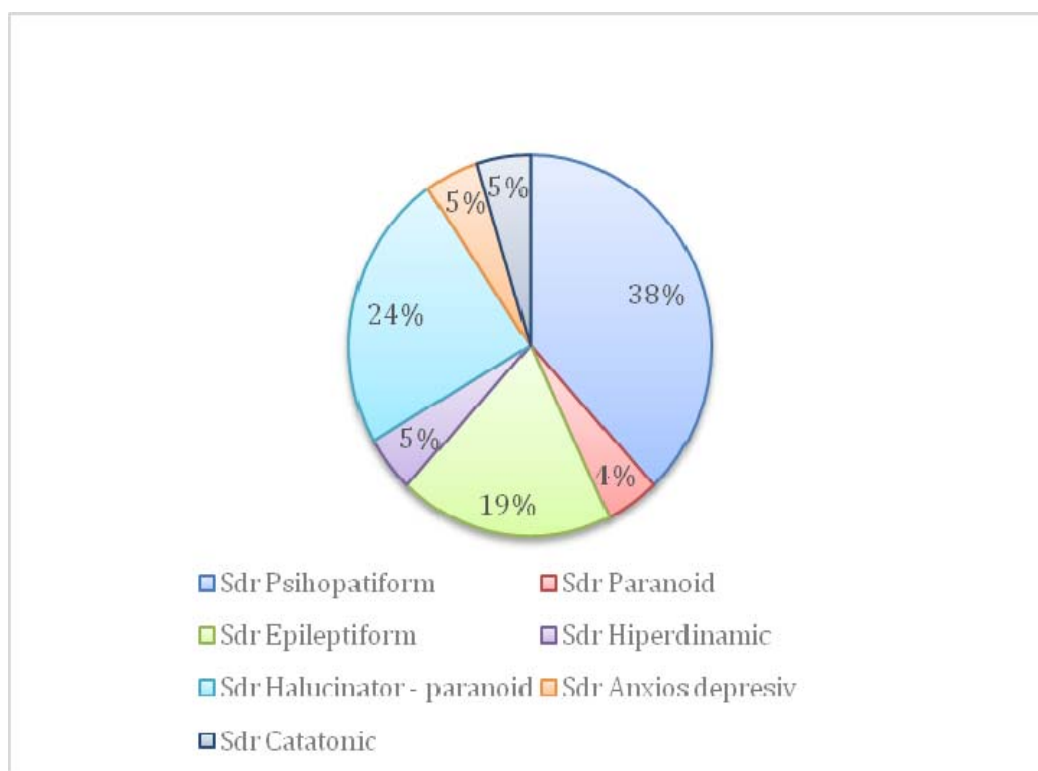


Fig.4. Rata minorilor cu tulburări psihice deja existente la momentul abuzului.

Analizând Figura 4, observăm sindroamele manifestate la pacienți în urma infracțiunii sexuale, în dependență de tulburarea psihică individuală deja existentă. Au fost depistate următoarele sindroame: Sdr. psihopatiform 29% (6 cazuri), Sdr. halucinator-paranoid 24% (5 cazuri), Sdr. epileptiform 19% (4 cazuri), Sdr. paranoid 9% (2 cazuri), Sdr. anxios-depresiv 9% (2 cazuri), Sdr. hiperdinamic 5% (1 caz), Sdr. catatonic 5% (1 caz).

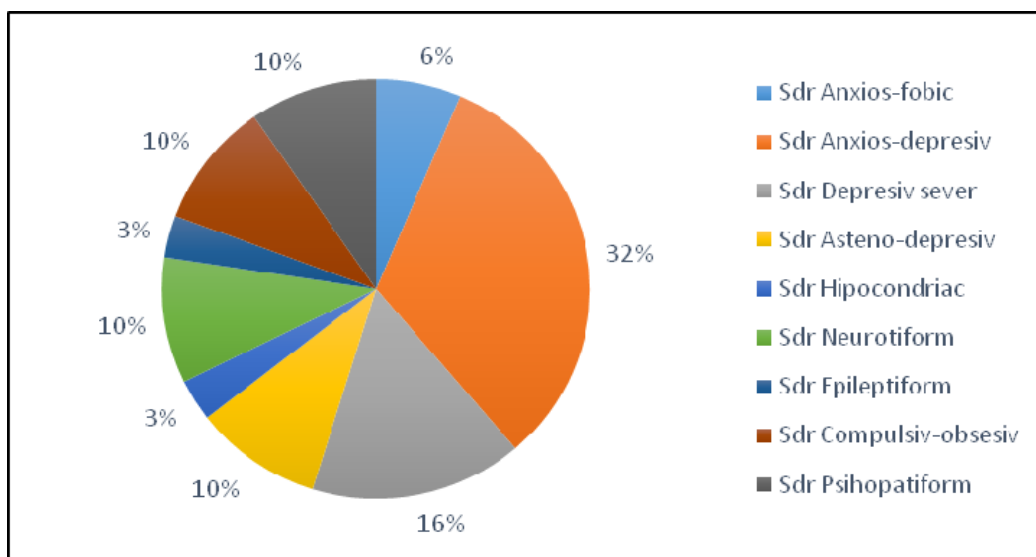


Fig.5. Simptomatologia dezvoltată la copii în urma abuzului sexual.

În ce privește tabloul clinic al pacienților care au dezvoltat patologii psihiatrice primar depistată, în urma abuzului sexual s-au manifestat sindroame clinice de tip nevrotic. Cel mai frecvent a fost întâlnit sindromul anxios-depresiv (32%), urmat de sindromul depresiv-sever (16%), sindromul asteno-depresiv (10%), sindromul neurotiform (10%), sindromul compulsiv-obsesiv (10%), sindromul psihoapatiform (10%), sindromul anxios-fobic (6%), sindromul epileptiform (3%) și sindromul hipocondriac (3%).

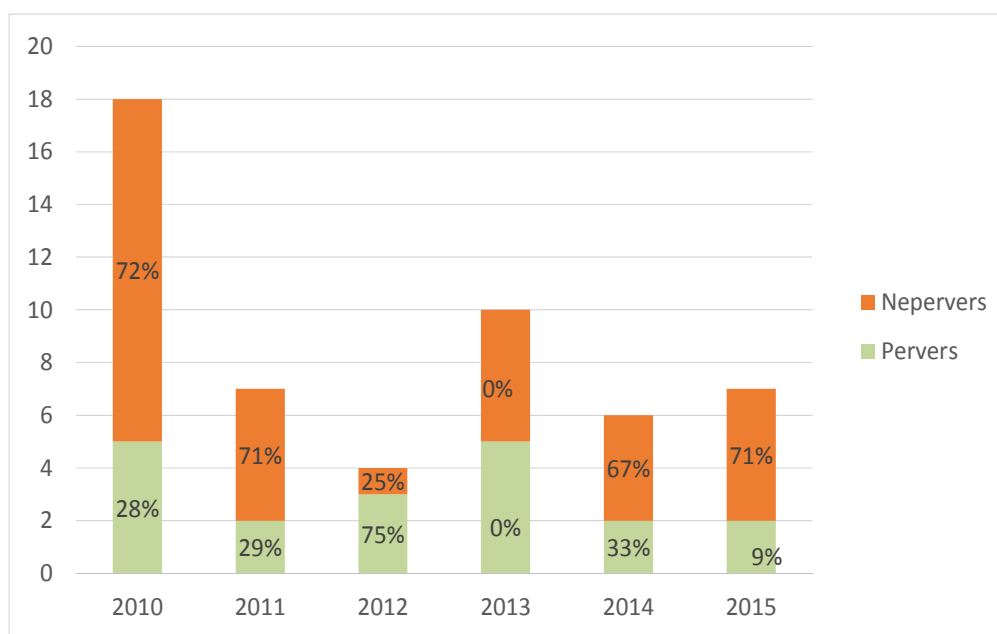


Fig.6. Tipologia infracțiunilor sexuale după formă (perversă/neperversă) săvârșite pe parcursul anilor 2010–2015.

În cazul abuzului sexual al minorilor cele mai multe infracțiuni au fost săvârșite în formă simplă (neperversă), pe când în 2013 numărul infracțiunilor sexuale perverse și neperverse se egalează.

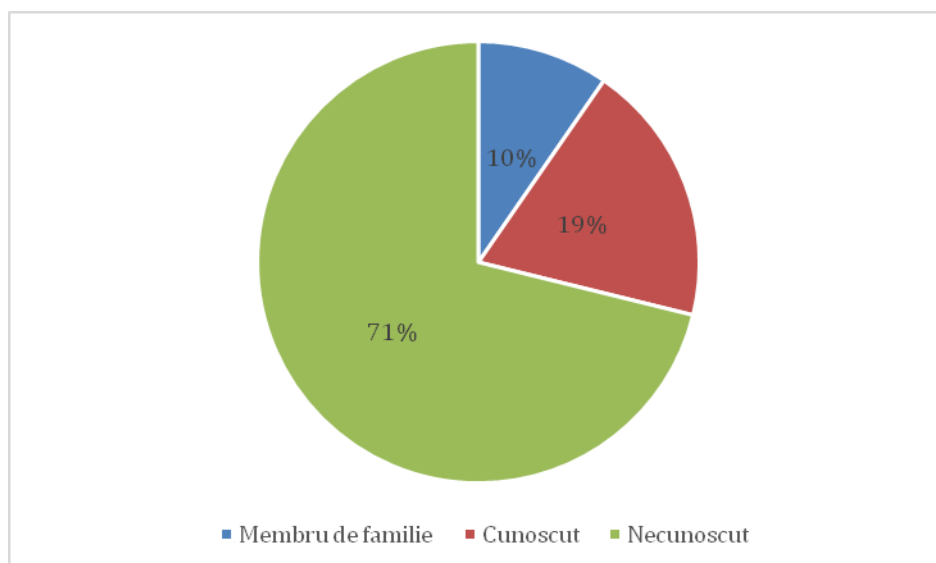


Fig.7. Tipologia infracțiunilor sexuale în funcție de relația victimei cu agresorul.

Analizând Figura 7, constatăm un număr maxim de cazuri în care victima nu se cunoștea cu agresorul, înregistrându-se 37 de cazuri (71%), urmând 10 cazuri când victima se cunoștea cu agresorul (19%) și 5 cazuri când infracțiunea a fost săvârșită de către un membru al familiei victimei (10%).

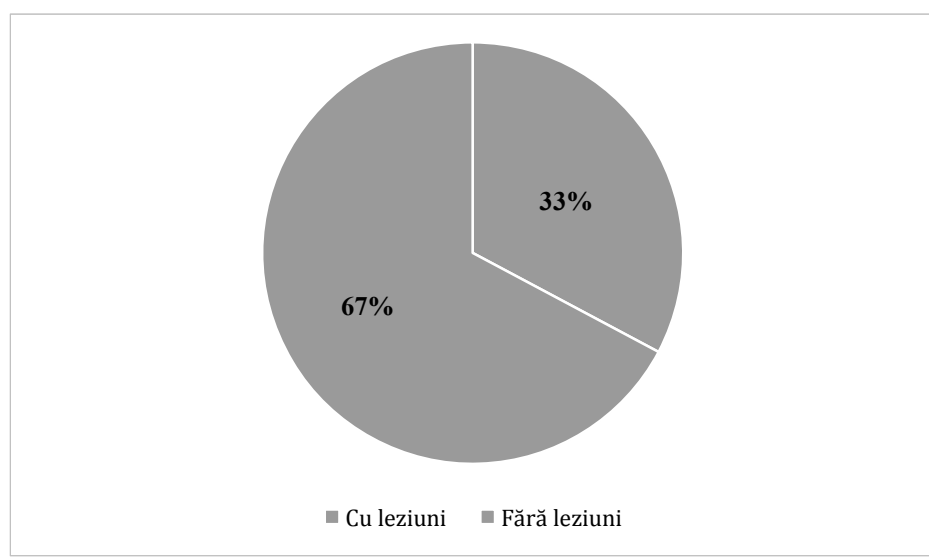


Fig.8. Tipologia infracțiunilor sexuale după prezența leziunilor caracteristice raportului sexual.

În majoritatea cazurilor, infracțiunile au fost săvârșite fără leziuni caracteristice raportului sexual – 67% (35 de cazuri).

Concluzii

1. S-a stabilit că la majoritatea pacienților care au fost supuși infracțiunii sexuale urmările psihice evidente au debutat primar după abuzul sexual îndreptat împotriva lor.

2. S-a constatat că în majoritatea cazurilor abuzului sexual au fost supuși minorii de sex feminin: atât la pacienții cu debutul tulburărilor psihice după abuz sexual, cât și la cei care aveau maladii psihice înainte și în timpul abuzului sexual.

3. S-a stabilit că în mare parte a anilor minorii au fost abuzați sexual în formă neperversă, doar în 2013 formele perverse se egalează cu cele neperverse (5 cazuri).

4. Datele obținute relevă că cele mai frecvente sindroame manifestate la minorii la care tulburările au debutat după abuzul sexual au fost sindroame de tip nevrotic, pe primul loc fiind înregistrat sindromul anxios-depresiv (32%), urmat de sindromul depresiv sever (16%).

5. S-a stabilit că cel mai frecvent (71%) copiii au fost abuzați sexual de către persoane necunoscute, urmând persoanele cunoscute (19%), membrii de familie (10%), ceea ce explică stresul permanent care agravează starea psihică a minorului.

6. În majoritatea cazurilor (60%), minorii nu au suferit leziuni caracteristice raportului sexual, dat fiind că printre ei au fost minori la care tulburările psihice erau deja prezente, din care cauză ei nu au opus rezistență agresorului.

Referințe:

1. GRĂDINARU, C., STĂNCULEANU, D. *Abuzul și neglijarea copiilor: studiu sociologic la nivel național*. Organizația Salvați Copiii, 2013, p.9.
2. MUNTEANU, A. *Prevenirea maltratării și mediul de viață al copilului*. Timișoara: Mirton, 2001, p.83.

Prezentat la 30.11.2016

CZU: 616.891: 612.85

TULBURĂRILE PSIHICE LA BOLNAVII DE EPILEPSIE ÎN PERIOADA DE REMISIUNE

Alexandru POPOV

*Universitatea de Stat din Moldova
IMSP Spitalul Clinic de Psihiatrie*

S-a dovedit foarte elocvent că tulburările psihice sunt prezente nu doar în perioada de evoluție a epilepsiilor cu manifestări paroxismale, dar și în perioadele când accesesele sunt luate sub control medicamentos. Tulburările psihice în această perioadă de remisiune sunt mai mult din categoria tulburărilor non-psihotice: afective, neurotice, de deteriorare a factorilor intelectuali mnezici și caracteriologici. Nu sunt absente și tulburările psihice psihotice, preponderent diforiile.

Cuvinte-cheie: *tulburări psihice non-psihotice: depresie, anxietate, obsesie, patomorfoză clinică, tulburări caracteriologice ale epilepticului, stigmatizarea bolnavilor de epilepsie, remisiune în epilepsie.*

PSYCHIATRIC DISORDERS IN PATIENTS WITH EPILEPSY IN REMISSION

It turned out very eloquently that mental disorders are present not only during development of epilepsy with paroxysmal manifestpri but in periods when seizures are taken under medical control. Psychiatric disorders in remission period set up this category are more non-psychotic disorders: affective, neurotic, intellectual deterioration retrieval of invoices and characterioloy. Not missing, however, psychotic mental disorders.

Keywords: *mental nonpsychotic disorders: depression, anxiety, obsession, atypical epilepsy manifestation, characterological disorders of epileptic, stigmatization of people with epilepsy, epilepsy remission.*

Introducere

Există dovezi că atât la adulți, cât și la copii epilepsia are o prevalență mai mare a tulburărilor psihiatrice. Natură ei nu poate fi legată direct de apariția crizelor, față de prevalența din populația generală. Rutter și colaboratorii (1970) au supravegheat un lot de copii cu vârste cuprinse între 5 și 14 ani și au demonstrat că, cel puțin în cazul copiilor, tulburările psihice nu sunt consecința doar unei reacții la stresul de a suporta o boală cronică. Rutter și colaboratorii au găsit o frecvență a tulburărilor psihiatrice la copiii cu epilepsie de trei ori mai mare decât la copiii cu alte boli cronice ce afectează mai degrabă sistemul nervos periferic decât cel central. Evidența în ceea ce privește adulții cu epilepsie este mult mai echivocă.

Abordări teoretice și observații clinice

O. Devinsky afirmă că atunci când apar modificări intelectuale factorii etiologici semnificativi sunt, probabil, leziunile cerebrale, tulburările de concentrare și de memorie în timpul perioadelor cu activitate electrică anormală și efectele adverse ale medicamentelor antiepileptice date în doze mari sau chiar în doze optime pentru controlul crizelor [1].

Primele încercări de a sistematiza tulburările psihice la bolnavii de epilepsie au fost întreprinse în secolul XIX. Mult timp se considera indiscutabilă caracteristica specifică a tulburărilor psihice la bolnavii de epilepsie. În toate manualele și recomandările metodice tulburările psihice erau explicate fără a se lua în considerare patomorfoza clinică care a devenit tot mai evidentă în ultimele decenii. De aceea, până în prezent rămân dificultăți în aprecierea tabloului clinic al tulburărilor psihice la bolnavii de epilepsie [2]. Cele mai frecvente și mai specifice tulburări psihice la bolnavii de epilepsie se consideră a fi: *torpoarea, inertitatea, rigiditatea, lenoarea și viscozitatea activității psihice*, care se manifestă în facultățile *intelectual-mnezice, emoțional-volitve, afective și verbale* ale pacienților. R.E. Seligsohn și A.И. Болдырев menționează că *torpoarea și inertitatea proceselor asociative sunt numite bradifrenie*. Se depistează *hipoprosexie și hipomnezie, diminuarea abilității intelectuale, insuficiență de instruire și de însușire a noilor cunoștințe, sărăcirea bagajului verbal (oligogazia)* [3-7].

Cele mai frecvente tulburări psihice întâlnite la bolnavii de epilepsie sunt *tulburările afective*, care foarte frecvent se transformă din *tulburări tranzitorii* în *tulburări permanente* și *tulburări constante*. Astfel, deși încetează accesesele epileptice, care sunt ca o mare povară pentru a atinge o remisiune și însănătoșire completă, observăm la acești bolnavi tulburări afective [4-8].

La bolnavii epileptici se observă o viscozitate afectivă, pletorică și inertitate afectivă. Bolnavii manifestă la fel o reactivitate sporită afectivă, brutalitate și totodată rigiditate, inertitate afectivă care deseori provoacă agresivitate, brutalitate și violență socială.

Anume această viscozitate afectivă cu alternarea bruscă (situațională) de adezivitate și săcăială cu mânie și violență sunt stările de ambivalență (polaritate afectivă), deosebit de caracteristice pentru bolnavii de epilepsie.

Б.А. Казаковцев și В.А. Карлов menționează că toată această alură de tulburări afective diametral opuse sunt foarte specifice pentru epilepsie și se consideră drept tulburări cronice psihice, formând așa-zisele „tulburări caracterologice ale epilepticului”. Aceste tulburări psihice se manifestă în *perioadele precritice* sub formă de predecesori, în *perioadele critice* – sub formă de echivalenți ai crizelor epileptice, însă în *perioadele postcritice* și *intercritice* se prezintă sub formă de schimbări caracterologice și de personalitate, stări psihotice acute și cronice. De aceea, la bolnavii epileptici frecvent sunt depistate tulburări și schimbări comportamentale [9-11].

Conform multiplelor studii, apariția tulburărilor psihice la bolnavii de epilepsie are loc din cauza schimbărilor structurale ale *focarului epileptogen*, care provoacă modificări de caracter organic în creierul uman. Unii autori constată că tulburările psihice mai frecvent se întâlnesc la bolnavii de epilepsie ce provin din familii cu statut social vulnerabil. Este insuficient studiată predispoziția ereditară la acești bolnavi. Este cunoscut și demonstrat faptul că frecvența tulburărilor psihice este mai mare în familiile cu bolnavi de epilepsie, deoarece membrii acestor familii au un fundal afectiv diminuat cu trăsături de caracter hipotimice, emoțional labile, sunt emoțional impulsivi și exaltați, cu torpoare emoțională, cu trăsături de caracter psihastenice [4-7, 12].

Intesitatea formării tulburărilor psihice este dependentă de frecvența stărilor paroxismale la bolnavii de epilepsie. Ph.Bamberger și A.Matthes (1957) au constatat că 30% din copiii cu epilepsie simptomatică și 12,5% din copiii cu epilepsie ideopatică au făcut tulburări psihice de tip *debilitate mintală*. Acești savanți consideră că tulburările de personalitate mai frecvent depind de leziunea organică cerebrală decât de repetarea acceselor epileptice. Dimpotrivă, la bolnavii de epilepsie simptomatică reacțiile emoționale au un caracter exploziv (P.Davis, 1943; Ph.Bamberger, A.Matthes, 1957).

În unele studii se dovedește că copiii cu forme parțiale de epilepsii au tulburări comportamentale cu violență, iar la bolnavii cu epilepsii primare generalizate mai frecvente sunt tulburările psihice neurotice. Devinsky este convins că la epilepsiile mioclonice juvenile sunt caracteristice: irresponsabilitatea, iritabilitatea, dorința de a exagera, tendința de a duce un stil de viață „boem”.

K.Jasper [13] și W.G. Lennox [14, 15] afirmă că epilepsiile cu absențe foarte rar produc schimbări intelectuale mnezice evidente, însă acești bolnavi sunt foarte irascibili și violenți, mai ales bolnavii cu absențe de frecvență înaltă. D.A. Pond și B.H. Bidwell [16] constată că la bolnavii de epilepsie predomină fondalul depresiv de alură neurotică, mai ales la bolnavii de epilepsii non-convulsive. Sunt multe studii despre localizarea focarului epileptogen, vârsta de debut al crizelor, „*vechimea bolii*” și corelarea lor cu prezența și intensitatea tulburărilor psihice și caracterologice la bolnavii de epilepsie. S-a constatat că la leziunea emisferei stângi a creierului în evoluția epilepsiei se manifestă o malignitate marcată și o progrediență cu formarea unei *demențe epileptice*. La acești pacienți sunt prezente din debutul bolii tulburări asteno-depresive și ipocondriace. Fundalul afectiv este diminuat, acești bolnavi sunt senzitivi, plângăreți, suspicioși, sunt prezente perioade de distonie cu anxietate agitată, stări depresiv-ipocondriace. În cazul leziunilor epileptice ale emisferei din dreapta se întâlnesc mai frecvent irascibilitatea și comportamentul impulsiv, reacții histrionice și diminuarea discernământului critic despre boală. Este caracteristică de asemenea conflictualitatea. Sunt prezente stările de euforie și disforie cu comportament violent. Unii autori consideră că tulburările psihice și schimbările caracterologice la bolnavii de epilepsie mai mult depind de gravitatea leziunii organice cerebrale.

C.Harden consideră că tulburările psihice și de comportament sunt mai frecvente în familiile cu bolnavi de epilepsie. Factorul educativ sociofamiliar are o importanță mare pentru apariția schimbărilor de personalitate la bolnavii de epilepsie. Pronosticul de boală benefic pentru epilepsie este determinat de starea de spirit optimistă, speranța de vindecare, sociabilitatea mare, care pot contribui la adaptarea sociopsihologică [17].

În unele studii se demonstrează că tratamentul cu preparate antiepileptice, pe lângă factorul benefic de stopare a acceselor epileptice, poate provoca tulburări psihice la bolnavii de epilepsie. Cele mai evidente sunt tulburările psihice provocate de administrarea îndelungată a barbituratelor, care diminuează potențialul intelectual mnezic și produc schimbări de personalitate. Mai frecvent se observă așa schimbări, ca: *torpiditatea*, *rigiditatea* și *instabilitatea emoțională* – schimbări de personalitate, intelect și memorie, condiționate de începutul tardiv de tratamen inițiat.

Cercetări și analize

Asadar, niciun studiu n-a dat răspunsul categoric la întrebarea despre cauza apariției și evoluției tulburărilor psihice, de comportament și caracterologice la bolnavii de epilepsie. La determinarea factorului de apariție și evoluție a tulburărilor psihice este mai bine de utilizat *principiul polifactorologic* (a se vedea ICD-10 [18]). Tulburări cognitive prevalente au fost *tulburările mnezice și prosexice*. Conform datelor din literatura de specialitate, diminuarea memoriei este primordială printre tulburările psihice la pacienții cu epilepsie [9, 10, 19, 20]. Studiul structurii funcțiilor mnezice în perioada de remisiune de accese la pacienții cu epilepsie are o importanță semnificativă, fiind un indice primordial la determinarea calității vieții, a măsurilor de reabilitare și remediere în comunitate. Este important și mecanismul de deteriorare a memoriei pentru pacienții cu epilepsie în stare de remisiune de accese.

Analizând indicii și dinamica restabilirii memoriei de scurtă durată, am constatat, incontestabil, o revenire direct proporțională în dependență de durata de remisiune cu lipsă de accese la bolnavii de epilepsie. Astfel, memoria se fortifica mai bine la acei bolnavi la care mai mult timp nu se repetau accesesele.

Studiul clinico-catamnezic al pacienților cu epilepsie în remisiune a dovedit că memoria de scurtă durată la acești pacienți cu epilepsii este la un indice mediu sau, mai bine zis, intermediar între pacienții sănătoși și pacienții cu epilepsii, la care nu se depistează accese mai mult de un an de zile. Acest indice poate fi mai mic pentru pacienții la care durata remisiunii acceselor este mai mică decât un an de zile, fapt ce se datorează lipsei activității epileptiforme hipersincrone la ei. Cu cât mai îndelungată este perioada de lipsă de crize convulsive, cu atât mai larg este volumul memoriei și memorării. Astfel, se normalizează structura cerebrală respectivă. Mai rapid și mai bine se restabilește memoria vizuală. În perioada de remisiune cu lipsă de accese se restabilesc și toate celelalte tipuri de memorie (asociativă, auditivă).

Examinarea atenției prin diverse metodici (proba de corecție cu alternare de atenție) a demonstrat că, deși perioada remisiunii de accese este perioada fără accese convulsive, deficitul de atenție se păstrează, îndeosebi din contul hipoprosexiei și capacității de readaptare la altă temă [21]. Dacă mărirea perioadei de remisiune de accese nu conduce la ameliorări semnificative ale capacității prosexice, dar se depistează o micșorare a numărului de greșeli făcute în probele efectuate, acest fapt demonstrează o sporire ușoară a vigilenței [22].

Explorările clinico-psihologice au dovedit că la formele de epilepsii cu accese generalizate convulsive se deteriorează mai semnificativ memoria de scurtă durată și atenția, pe când în formele de epilepsii parțiale sau secundar-generalizate se deteriorează numai memoria de scurtă durată, atenția și vigilența fiind puțin afectate. Se depistează o deteriorare considerabilă a memoriei la formele de epilepsii simptomatice [23].

Așadar, deteriorarea funcțiilor mnezice la bolnavii de epilepsii este condiționată de intensitatea și pregnanța afecțiunilor organice cerebrale asociate la acești bolnavi. Pentru aprecierea calității remisiunilor la bolnavii de epilepsie s-a efectuat raportarea indicilor evolutivi de memorie, atenție și vigilență față de tabloul EEG în remisiune de accese și s-a constatat că, deși în lipsa de accese normalizarea traseului EEG era prezentă (dar la unii pacienți cu remisiune de accese mai de scurtă durată), la traseul EEG se depistează *unde ascuțite cu amplitudă înaltă, solitare*, uneori *unde ascuțite înalte de disaritmie*. Aceasta denotă că în lipsa acceselor focarul epileptogen continuă să influențeze asupra creierului intact din vecinătate [24, 25]. Reprezentativitatea tulburărilor mnezice la pacienții cu epilepsie este prezentată în Figura 1.

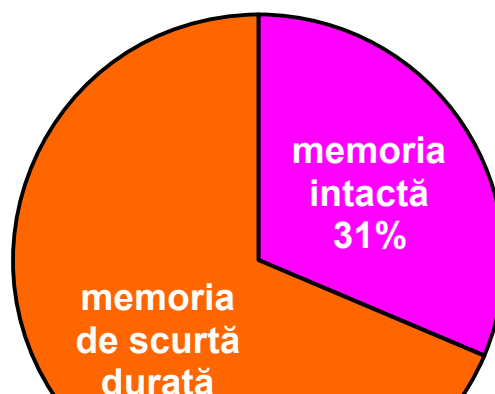


Fig.1. Reprezentativitatea tulburărilor mnezice la pacienții cu epilepsie.

Studiul clinic comparativ al pacienților care au sîstat administrarea antiepilepticelor și al celor cu dozele de susținere nu a evidențiat o careva diferență calitativă și cantitativă între funcțiile mnezice și vigilență. Astfel, pacienții cu dozele de susținere terapeutice – *valproat* de 900 mg/zi; *carbamazepină* de 600-800 mg/zi, *lamotrigină* de 300 mg/zi – nu se deosebeau de cei care nu urmau tratamentul medicamentos ce asigură performanțele memoriei și atenției [26, 27, 28].

În baza datelor examinării clinice și paraclinice cu metode de testare psihologică am depistat un lot de 67 de pacienți din 102 cu tulburări afective depresive (65,68%). Astfel, am reușit să delimităm din acești pacienți 3 grupe diferite cu *tablou clinic depresiv distinct*.

În *prima grupă* s-au clasat acei pacienți epileptici la care sindromul depresiv brusc a debutat și a fost de o scurtă durată. Traseele EEG efectuate la acești pacienți au făcut o mică și neînsemnată diferență între tulburările bioelectrice ale creierului de tip epileptiform, cu prevalență pe stînga. Astfel, se poate concluziona că atât apariția bruscă a stării depresive, cât și brusca ei dispariție reprezintă un ansamblu al procesului epileptogen și mărturisește despre activizarea descărcărilor bioelectrice în focarul epileptogen. Acestea sunt nu altceva decît manifestări ale procesului epileptogen, dar fără manifestări sub formă de accese propriu-zise, care reprezintă cauzele controlului terapeutic al acceselor cu antiepileptice încă administrate de bolnavi.

La 31 de pacienți (30,39% din cazurile cercetate) din cei numiți cu *stări depresive (a doua grupă)* starea depresivă a variat, dar a fost ca durată mai îndelungată – de la 10 la 16 zile. La acești pacienți în structura depresiei s-au depistat stările de astenie, anxietate, îmbinarea depresiei cu astenia și starea de anxietate și cu incluziuni ipocondriale. Astfel de tulburări se manifestau la pacienții atât cu forme criptogene, cât și cu forme simptomatice și ideopatice de epilepsii. În majoritate (20 de pacienți din cazurile cercetate), aceste *tulburări depresive mozaice* se depistau în perioada lipsei de activitate paroxismală la traseele EEG și numai 4 pacienți erau *prevestitori de stări paroxismale pe traseul EEG*, deoarece făceau schimbări la acest traseu. Însă, aceste schimbări nu erau specifice epileptice sau epileptiforme, dar mai mult convenționale sub formă de unde solitare sau de câteva grupe de unde ascuțite. Celelalte tulburări depresive se referă la pacienții cu o structură depresivă somato-cerebrastenică cu divese tulburări vegetative și sunt mai frecvente pentru epilepsiile simptomatice, unde factorul etiologic este mai la suprafață (posttraumatic, organic, vascular, tumoros etc.). Astfel, potrivit scalei Hamilton, au fost determinate aceste grupe de pacienți conform acuzelor și factorilor secundari cu metoda de rotație. La pacienții cu *epilepsie simptomatică* (ES) și la cei cu *epilepsie criptogenă* factorul în structura depresiei a constituit 14 pacienți cu simptome de astenie. În grupa a doua s-au prezentat mai pregnant *ipohondria* conform scalei Hamilton (33 de pacienți) cu trăsături *caracterologice depresiv-anxioase*.

În *grupa a treia* s-au prezentat pacienții cu *trăsături depresive psihice somatice și vegeto-vasculare* (12 pacienți) și cu *tulburări de somn* numai (10 pacienți din cazurile cercetate).

În grupa de bolnavi cu forme *ideopatice generalizate de epilepsii* (IGE) primordial era factorul depresiv asociat cu disomnii sau insomnii (13,7%) și numai 12,6% au constituit cele secundare. *Anxietatea* era urmată de *somatogeniile anxioase* (tulburări vegeto-vasculare) și *fobii*. Ultimii dintre factorii de tulburări psihice aici sunt *astenia* (10,3% din cazurile cercetate), urmată de *simptomatice ipohondrică* (9,6%).

Conform indicilor scalei factoriale HDRS, în structura tulburărilor psihice la bolnavii de epilepsie cu (ES), (EC) și (EGI) rolul primordial îl constituie astenia, fapt ce vorbește despre substratul organic prezent în aceste forme de epilepsii [29]. Astfel, putem vedea mai bine aceste tulburări psihice frecvent întâlnite în cadrul populației generale (a vedea Fig.2).

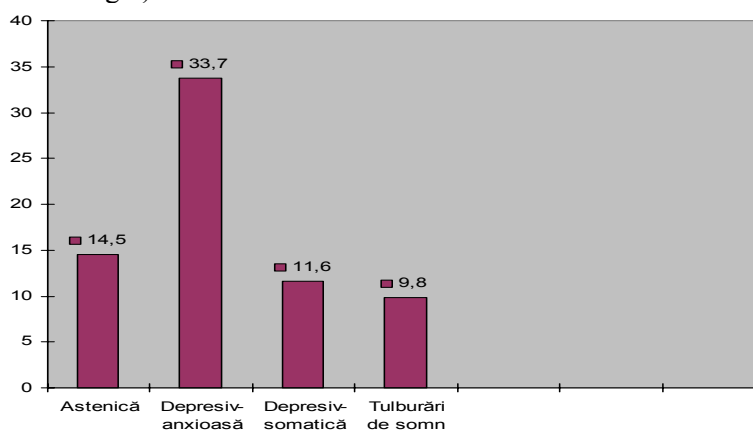


Fig.2. Tulburările psihice non-psihotice la epileptici.

Toate formele depresive analizate pot fi atribuite la categoriile de depresii minore (subdepresii), deoarece, conform scalei Hamilton, întrunesc numai 9-14 puncte pe scala HDRS. De remarcat că stările depresive la acest lot de bolnavi erau fără idei autolitice (suicidare), nu s-a depistat manifestarea oscilatorie și paroxismală a stărilor depresive, intensitatea depresiilor diminuează și avansează foarte încet. La traseele EEG se depistau nu indici de unde de o amplitudă joasă cu disaritmie, ci în trasee prevalau unde lente de tip *teta* și *delta*. De asemenea, s-a depistat și hiperreactivitatea la stimularea emoțională, fapt ce este în favoarea *disfuncției complexului limbico-reticular* [30]. Pe fundalul factorului organic, apariția depresiei la bolnavii în remisiune de accese vorbește despre prevalarea proceselor inhibitoare cerebrale, conform observațiilor lui P.Wolf. În aceasta ne conving indicii bioelectricității cerebrale.

La pacienții din grupa a treia experimentală (50% din cazuri) tulburările depresive s-au manifestat sub formă de reacții depresive și au fost într-o corelație directă cu factorii psihogenici care le provocau, dar și depindeau (deosebit de important de remarcat) de favorizarea lor din partea societății, fiind direct dependenți de dezonorarea de către societate a acestor pacienți. S-au observat și factori legați de stresuri condiționate de boala rudelor, decesul rudelor etc. La acești pacienți durata tulburării depresive variază de la 10 la 14 zile și este de 10-12 puncte, conform scalei HDRS.

În majoritatea cazurilor, la pacienții cu tulburări psihice în cadrul epilepsiei depresia, sub diversele ei forme, a căpătat o evoluție trenantă. Favorizează astfel de evoluții: diverse stări de stres, disarmonii familiale, factori stigmatizanti din comunitate, diverse maladii intercurrente, trăsături caracterologice ale personalității epilepticului cu labilitate emoțională, egocentrismul, pedantismul, ranchinitatea, tendința de a cunoaște adevărul, moralitatea exagerată etc. Din punct de vedere statistic, importante sunt psihogeniile intercurrente și diferențele de sex. Cu cât mai variate sunt cauzele psihotraumatizante în apariția și evoluția stărilor depresive la bolnavii de epilepsie (temerile de a face accese, sentimentele de dezonorare din partea societății „că sunt pacienți de boală neagră”, temerile de a se traumatiza în urma accesului, de a pierde serviciul etc.), cu atât mai polimorfă și mai gravă se dovedeau a fi manifestările clinice ale depresiei. Analiza retrospectivă a traseelor EEG a arătat la acești pacienți prezența tipurilor de: traseu EEG organic-rezidual, hipersincron și desincronizant. Astfel, la traseele EEG în tipul manifestărilor depresive s-a depistat mărirea segmentelor cu activitate paroxismală, îndeosebi caracteristică pentru porțiunile diencefalice cerebrale cointeresate. Despre importanța mecanismelor psihoreactive și sociale în evoluția tulburărilor depresive la bolnavii de epilepsie în perioadele de remisiune de accese a epilepsiei s-au referit mai mulți autori [4-7, 9, 10]. *Însă, despre importanța acestor factori în apariția și evoluția manifestărilor depresive în perioadele de remisiune de accese la pacienții cu epilepsie sunt prea puține studii și referințe.* Printre tulburările afective studiate la pacienții cu epilepsie se manifestă neapărat și stările disforice. Cel mai frecvent aceste stări se depistează la pacienții cu *epilepsie criptogenă* și cu *epilepsii simptomatice* (parțiale, temporale). Printre disforiile întâlnite în 9 cazuri stările disforice se manifestau și în perioadele de *proces activ epileptiform*. Disforiile în stuctura lor s-au manifestat ca disforii cu aspect asteno-ipohondric și cu aspect depresiv răutăcios cu anxietate [31].

Pe lângă stările afective și disforii (26,6%) s-au manifestat și stările anxioase. Cele mai frecvente sunt stările anxios-fobice (67,5%), atacurile de panică (27,5%) și anxietatea generalizată (5%). De remarcat și prezența stărilor obsesive (17,3%), care servesc drept premise pentru formarea mecanismelor de compensare și protecție la dezonorarea din partea societății a pacienților cu epilepsie. Astfel, noi distingem *fenomenul de stigmatizare*, format ca un mecanism de compensare și protejare la acești pacienți – mecanism care foarte des este întâlnit în societatea contemporană [28, 18, 2, 32].

S-a demonstrat că cu cât mai îndelungată este perioada de remisiune a acceselor la bolnavii de epilepsie, cu atât mai rar se întâlnesc *tulburările anxios-fobice*, apoi tot mai rar (dar totuși mult mai târziu) regresează *tulburările obsesive*. Însă, mult mai durabile, stabile și independente de durata remisunii epilepsiei sunt *stările de panică* sau *atacurile de panică*. Astfel, aceste 3 tulburări neurotice (non-psihotice) mai frecvent sunt întâlnite în practica medicilor psihoneurologi (a se vedea Fig.3).

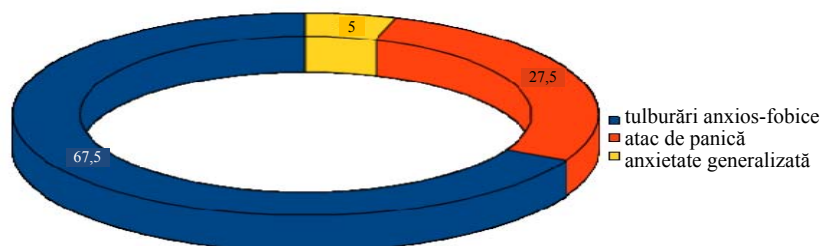


Fig.3. Tulburările neurotice specifice pentru epileptici.

Rezultatele studiilor complexe realizate de mai mulți autori au demonstrat cu certitudine că numai la 78% din cazurile cu remisiunile de acces dobândite s-au depistat schimbări caracterologice 32% cu *trăsături epileptoide*, 28% cu *trăsături ciloide* și 20% cu *trăsături psihastenice de caracter în premorbid*. Trăsăturile de caracter deosebite la bolnavii de epilepsie sunt prezentate în Figura 4.

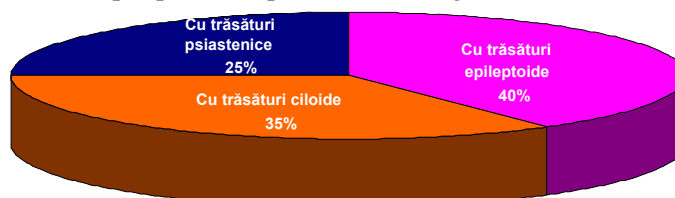


Fig.4. Tăsăturile de caracter la epileptici.

Schimbări specifice caracterologice în perioada de remisiune s-au constatat în 30,7% din cazurile cercetate. De menționat că tocmai în 91% din cazuri cu remisuni de acces la bolnavii de epilepsie schimbările caracterologice erau foarte neînsemnate, ușoare și numai la 9% din cazuri cu remisuni de acces schimbările caracterologice erau mai pronunțate și fără regresivitate. Acestea sunt cazurile cu debut precoce al epilepsiei, cu modificări timpurii ale personalității în vârsta de până la 5 ani și cu formarea deficitului intelectual.

Ponderea tulburărilor psihice este reprezentată astfel: cele mai răspândite sunt tulburările psihice cognitive – 76 de cazuri dintre cele puse în studiu, după care urmează tulburările caracterologice – 66 la număr, succedate de tulburările afective depresive – 55, altele sunt în ordinea descrescătoare: 14 – tulburări anxioase, 7 – tulburări obsesive și 6 disforii (a vedea Fig.5).

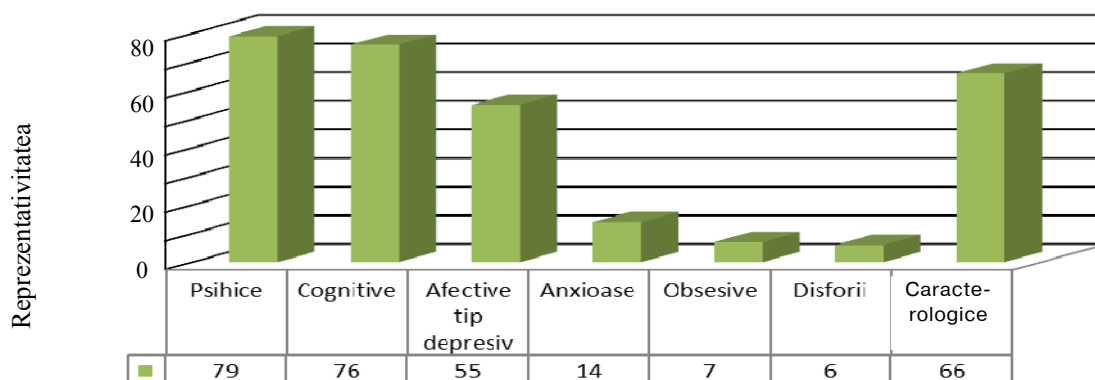


Fig.5. Ponderea tulburărilor psihice în epilepsie.

Concluzii

Cercetările noastre au demonstrat:

1. Cu cât mai îndelungată este perioada de remisiune a acceselor la bolnavii de epilepsie, cu atât mai rar întâlnite se fac *tulburările psihice*.
 2. Cele mai frecvente tulburări psihice întâlnite la bolnavii de epilepsie sunt tulburările afective, care foarte frecvent se transformă din *tulburări tranzitorii* în *tulburări permanente și constante*.
 3. Dintre *tulburările cognitive* prevalente au fost *tulburările mnezice* și *tulburările prosexice*.
 4. În fiecare al doilea caz la pacienții cu remisuni de acces epileptice s-au depistat semne de *inertitate a funcțiilor cognitive*.
 5. Dozele de întreținere cu medicamente: *valproat* de 900 mg/zi; *carbamazepină* de 600-800 mg/zi, *lamotrigină* de 300 mg/zi nu influențează performanțele memoriei și atenției la pacienți.
- Toate formele depresive analizate de noi pot fi atribuite la categoriile de depresii minore.

Referințe:

1. DEVINSKY, O. Interictal Behavioral Changes in Epilepsy. In: *Epilepsy and Behavior*. Eds. O.Devinsky et al. NY: Wiley-Liss, 1991, p.1-21.
2. DSM-IV. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Source Information*, <https://www.nlm.nih.gov/>(Accesat: 01.05.2016)

3. SELIGSOHN, R.E. The personal and emotional aspects of epilepsy. In: *Int. Soc. Work*, 1998, vol.131, p.165-172.
4. БОЛДЫРЕВ, А.И. *Психические особенности больных эпилепсией*. Москва: Медицина, 2000. 384 с.
5. БОЛДЫРЕВ, А.И. *Социальный аспект больных эпилепсией*. Издание второе, переработанное и дополненное. Москва: Медицина, 1997. 204 с.
6. БОЛДЫРЕВ, А.И. *Эпилепсия у взрослых*. Издание второе, переработанное и дополненное. Москва: Медицина, 1984. 288 с.
7. БОЛДЫРЕВ, А.И. Психические изменения в развернутой стадии эпилепсии. В: *Российский Психиатрический журнал*, 2001, № 1, с.10-13.
8. VRABII, L., GROPPA, St. Optimizarea reabilitării bolnavilor de vârstă matură cu epilepsie. În: *Conferința a VI-a Națională de Epileptologie și a II-a Conferință Națională de Boli Vasculare Cerebrale*, consacrată aniversării a 60 de ani de Învățământ Medical Superior în Republica Moldova (11-13 mai). Chișinău, 2005, p.154-155.
9. КАЗАКОВЦЕВ, Б.А. *Психические расстройства при эпилепсии*. Москва, 1999. 396 с.
10. КАЗАКОВЦЕВ, Б.А. *Психические расстройства при эпилепсии*. Москва, 2015. 570 с. ISBN:978-5-9906134-7-8. <http://www.litres.ru/b-a-kazakovcev/psihicheskie-rasstroystva-pri-epilepsii/>.
11. КАРЛОВ, В.А. *Эпилепсия*. Москва: Медицина, 1990. 336 с.
12. ENGEL, J., WILSON, C., LOPEZ-RODRIGUEZ, F. Limbic connectivity: anatomical substrates of behavioural disturbances in epilepsy. In: Trimble M, Schmitz B, editors. *The neuropsychiatry of epilepsy*. Cambridge: Cambridge University Press, 2002, p.18-37.
13. JASPERS, K. ALLGEMEINE. *Psychopathologie: fuer Studierende, Aerzte und Psychologen*: 3. verm. u. verb. Aufl. Berlin: Springer, 1923. 458 p.
14. LENNOX, W.G. Phenomena and Correlations of Psychomotor Triad. In: *Neurology*, 1951, no 1, p.357-383.
15. LENNOX, W.G. *Epilepsy and Related Disorders*: Vol.1-2. Boston-Toronto: Little, Brown and Co., 1960.
16. POND, D.A., BIDWELL, B.H. A survey of epilepsy in fourteen general practices. Social and psychological aspects. In: *Epilepsia*, 1960, vol.1, p.285-299.
17. HARDEN, C. The co-morbidity of depression and epilepsy: epidemiology, etiology, and treatment. In: *Neurology*, 2002, vol.59(6), p.48-55.
18. ICD-10. Clasificatorul tulburărilor mentale și de comportament. Simptomologie și diagnostic clinic. Ediția 2015 (*a se vedea*: The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders Clinical descriptions and diagnostic guidelines. - World Health Organization, 2015), <http://www.who.int/classifications/icd/en/bluebook.pdf> (Accesat: 01.05.2016)
19. ГРОМОВ, С.А. *Реабилитация больных эпилепсией*. Ленинград: Медицина, 1987. 172 с.
20. ГРОМОВ, С.А., КАРТАШОВА, Е.В., АКИМЕНКО, М.А. Клинико-психолого-томографическое обоснование систематизации и диагностики изменений личности при эпилепсии. В: *Психологические и психиатрические проблемы клинической медицины*: Сборник научных трудов, посвященных 100-летию кафедры психиатрии и наркологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. СПб.: Изд-во НИИХ СПбГУ, 2000, с.84-86.
21. ВАНЧАКОВА, И.П. *Эпилепсия начинающаяся с психических припадков*: Дисс. канд. мед. наук. Ленинград, 1981. 193 с.
22. KREINDLER, A. *Probleme actuale în neurologie*. București, 1984. 56 p.
23. PIROZYNSKI, T., CHIRIȚĂ, V., BOIȘTEANU, P. *Manual de psihiatrie*. Iași, 1991. 255 p.
24. РОПОВ, А. Concept despre tulburările psihice și de comportament la bolnavii cu epilepsie. Definiții, delimitări, clasificare. În: *Anale Științifice*. Vol.3. Probleme actuale în medicina internă, 2013, p.638-646. ISSN 1857-1719
25. РОПОВ, А. Studiul clinic-catamnestic al recăderilor remisiunilor la bolnavii de epilepsie cu tulburări psihice. În: *Studia Universitatis Moldaviae*. Seria „Științe reale și ale naturii”, 2014, nr.1(71), p.46-51. ISSN 1814-3237
26. ВОРОНКОВА, К.В., ПЕТРУХИН, А.С., ПЫЛАЕВА, О.А., ХОЛИН, А.А. *Рациональная антиэпилептическая фармакотерапия*. Руководство для врачей. Москва: «БИНОМ», 2008. 192 с.
27. ГНЕЗДИЦКИЙ, В.В. *Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография*. Москва: МЕДпресс-информ, 2004. 624 с.
28. ЗЕНКОВ, Л.Р. *Клиническая эпилептология (с элементами нейрофизиологии)*: Руководство для врачей. Москва: ООО «МИА», 2010. 408 с.
29. КИССИН, М.Я. Структура и динамика психических расстройств при эпилепсии. В: *Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова*, 2000, № 3, с.121-125.
30. МАЛИНИНА, Е.В., ЗАБОЗЛАЕВА, И.В., САБЛИНА, Т.Н., КОЧКИНА, А.А. *Эпилепсия в таблицах и схемах (клинические, терапевтические и социальные аспекты)*. Челябинск, 2014. 56 с. <http://www.chelsma.ru/files/misc/a5posobieepilepsija29.10.13.pdf> (Accesat: 04.03.2015)
31. ГОЛОДЕЦ, Р.Г. *Эпилептические психозы: становление, течение, терапия: Современные методы диагностики и лечения эпилепсии*. Смоленск, 1997, с.33-38.
32. OPREA, N., NACU, A., OPREA, V. *Psihiatrie*. Chișinău, 2007. 462 p.

Notă: Articolul a fost realizat în cadrul Proiectului „Dezvoltarea sistemelor informatice inteligente orientate pe familii de probleme decizionale cu aplicare în educație și cercetare”, cu cifra 15.817.02.38A.

Prezentat la 14.06.2016

CZU: 574.5: 597(478)

**INVAZIA GHIDRINULUI – *GASTEROSTEUS ACULEATUS* LINNAEUS, 1758 ÎN
FLUVIUL NISTRU (LIMITELE REPUBLICII MOLDOVA)
ȘI FACTORII DETERMINANȚI**

**Dumitru BULAT, Denis BULAT,
Ion TODERAȘ, Nina FULGA**

Institutul de Zoologie al AȘM

În condițiile intensificării presingului antropoc în ecosistemele acvatice din Republica Moldova majoritatea speciilor stenobionte au devenit amenințate cu dispariția, însă unele, cu potențial adaptiv înalt, dimpotrivă, pe fonul eliberării nișelor spațiale, pot prolifera în exces și chiar provoca efect invaziv. Pentru fluviul Nistru (limitele Republicii Moldova) un exemplu elocvent este ghidrinul *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 care, după construcția hidrocentralei de la Novodnestrovsk (1981) a devenit o specie multidominantă, formând până la or. Soroca o populație locală deosebit de numeroasă.

În lucrare sunt analizate particularitățile bioecologice ale *ghidrinului* și sunt evidențiați factorii de mediu ce au contribuit la invazia taxonului în fl. Nistru (limitele Republicii Moldova).

Cuvinte-cheie: bioinvazie, specie dominantă, ihtiocenoză, factor antropogen.

**THE INVASION OF THREE-SPINED STICKLEBACK – *GASTEROSTEUS ACULEATUS* LINNAEUS, 1758
IN DNIESTER RIVER (LIMITS OF REPUBLIC OF MOLDOVA) AND ITS DETERINANT FACTORS**

Under the intensification of anthropogenic pressure in aquatic ecosystems of Republic of Moldova, most of stenobionte species became threatened with extinction, but some species, potentially high adaptive, contrast, in present demonstrates an evident biological progression, in some hydrobiotops causing a stressed invasive effect. For Dniester River (limits of Republic of Moldova) three-spined stickleback – *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 is a good example, after the construction of Novodnestrovsk hydropower (1981) became a multidominate species forming to Soroca city a particularly large local population.

In this paper are analyzed bio- ecological peculiarities of three-spined stickleback and are highlighted environmental factors that contributed to taxon invasion in Dniester River (limits of Republic of Moldova).

Keywords: bioinvasion, dominate species, ihtiocenosis, anthropogenic factor.

Introducere

Familia *Gasterosteidae* include 5 genuri (*Gasterosteus*, *Pungitius*, *Spinachia*, *Apeltes*, *Eucalia*) și 8 specii, reprezentanții cărora sunt răspândiți doar în emisfera nordică. Habitează atât în apele marine, salmastre, cât și în cele dulci (majoritatea speciilor sunt eurihaline). Prezența numărului limitat de specii „este compensată” de diversitatea mare de forme ecologice intraspecifice (simpatrice și alopatrice). De aceea, în prezent taxonomia *Gasterosteus aculeatus complex* și *Pungitius platygaster complex* (Nelson, 2009) întâmpină încă numeroase neclarități, speciile fiind intens studiate la nivel citogenetic [1, p.431-435].

În ecosistemele acvatice naturale ale Republicii Moldova sunt identificate două specii din această familie: *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 – ghidrinul și *Pungitius platygaster* (Kessler, 1859) – osarul [2, p.42].

În funcție de gradul de dezvoltare a plăcilor laterale se deosebesc trei ecofene ale *ghidrinului*: „trahurus” – acoperă aproape în totalitate flancurile laterale și mai mult populează ecosistemele marine și salmastre, „leiurus” – plăci puține la număr și slab dezvoltate, răspândită mai mult în ecosistemele cu apă dulce și „semi-armatus” – foma intermediară care poate popula atât apele sărate, cât și cele dulci [3, p.71-72].

De asemenea, în aspect generativ sunt identificate trei forme ecologice ale *ghidrinului*. Una sedentară de apă dulce care nu efectuează migrații pe distanțe mari și se reproduce în același hidrobiotop unde își petrece tot timpul vieții și doar în perioada reproductivă această formă se apropie de maluri (la 6-8°C), adesea concentrându-se la gurile afluenților și în golfuri mici. A doua formă reproductivă este cea marină, care ierneză în pelagial, iar înainte de reproducere se deplasează în zona litorală a mărilor, unde masculii construiesc cuiburi printre desigururile de macrofite (atinge cele mai mari dimensiuni). A treia formă reproductivă este cea anadromă, care migrează din zona litorală a mării sau din limane în sectoarele inferioare ale fluviilor. Formele

ecologice anadromă și marină pot trece din una în alta și viceversa. După reproducerea formei anadrome sunt atestate adesea cazuri de pieire în masă a reproducătorilor, iar progeniturile în scurt timp se retrag înapoi în mare sau liman. Se consideră că prin pieirea în masă a reproducătorilor se urmărește aceeași strategie biologică ca și la salmonidele din genul *Oncorhynchus*, și anume: aportul substanțelor biogene în biotop în scopul asigurării dezvoltării bazei trofice pentru generațiile viitoare [4, p.70].

Toamna, migrațiile *gasteroidelor* sunt înfăptuite în direcție inversă: de la maluri spre adâncime (forma sedentară) sau din râuri – în estuare și mare (forma anadromă). Sensul funcțional al diversității mari de forme ecologice constă în exploatarea integrală a resurselor trofice din diferite tipuri de ecosisteme acvatice în condițiile unor efective populaționale ridicate (asemenea *clupeidelor* și *salmonodelor*). Existența doar a ecoformei sedentare ar cauza în scurt timp epuizarea resurselor furajere în ecosistemele izolate de mici dimensiuni, pe când în mări și estuare aceste resurse sunt întotdeauna mai bogate și mai variate. În plus, strategia reproducerii formelor anadrome în apele dulci asigură o protecție mai eficientă a viitoarelor progenituri de la numeroșii dușmani (prezenți în apele marine).

Din cauza potențialului adaptiv de excepție *ghidrinul* s-a răspândit pe toate continentele din emisfera nordică, pe continentul Americii de Nord ajungând la sud până în California, iar pe cel Euro-Asiatic până în Iran. În multe regiuni ale arealului său secundar este considerat o specie invazivă (cum ar fi cazul invaziei sale devastatoare în Marele Lacuri Americane) [5, p.3].

În pofida acestui fapt, *ghidrinul* este reprezentat discontinuu în areal, cu fluctuații mari de efectiv atât în timp, cât și în spațiu. Potrivit datelor prezentate de Maximova și Dolgova, 1983 (citați de Ziuganov, 1991), pe partea coastei vestice a peninsulei Kamceatka în prezent se constată o micșorare semnificativă a populațiilor de *salmonide* și *clupeide* pacifice anadrome și o explozie numerică a *ghidrinului*, care, după estimările autorilor, numai în r. Kamceatca, în timpul migrațiilor reproductive, atinge o biomasă de aproximativ 15.000 tone. Aceeași situație se constată și în Marea Baltică. După afirmațiile lui Prokopenko (1983), explozia numerică a *ghidrinului* în golful Fin este determinată, inclusiv, de poluările antropogene frecvente, cauzându-se depresia numerică a *ghiborului* toxicosensibil (ca concurent puternic) și progresia biologică evidentă a *ghidrinului* toxicorezistent (nu excludem că pentru fl. Nistru este valabilă și această cauză) [6, p.188-189].

În zona litorală a Mării Negre, în prezent, specia a intrat în faza de declin numeric. Oțel susține că *ghidrinul* a dispărut din zona litorală a Mării Negre din cauza reducerii suprafețelor macrofitelor marine care serveau ca refugiu împotriva dușmanilor și ca material de construcție a cuiburilor în perioada reproductivă [7, p.276-279], însă alți autori (Ziuganov, 1991; Smirnov, 1951) menționează că *ghidrinul* și *osarul* pot construi cuiburi fără a se folosi de vegetația acvatică submersă (din nisip, pietricele mici ș.a.), iar prezența macrofitelor nu este factorul determinant în răspândirea speciei [8, p.82].

Material și metode

Materialul ihtiologic a fost colectat pe parcursul anilor 2014-2016 în fl. Nistru cu ajutorul năvodului pentru puiet (l = 6 m). Pentru studiul de laborator o parte neînsemnată a fost fixată în soluție de formol de 4%. Analiza materialului ihtiologic s-a efectuat prin metode clasice ecologice și ihtiologice [9, p.14-21; 10, p.46-61; 11, p.22-333].

Datele obținute au fost prelucrate statistic utilizând programele STATISTICA 6,0 și Excel – 2007.

Rezultate și discuții

În prezent, în limitele Republicii Moldova se constată o progresie biologică evidentă a *ghidrinului* și *osarului*, iar în unele hidrobiotopuri ponderea lor în cadrul ihtiocenozelor atinge valori de-a dreptul alarmante (a se vedea Tab.1).

În Nistru specia migrează activ în sectorul său inferior din limanul nistrean și zona litorală a Mării Negre, iar în sectorul medial a format o populație locală superdominantă [12, p.335-336].

În pofida rudeniei filogenetice între *ghidrin* și *osar*, predilecțiile lor ecologice și cauzele expansiei rapide pe teritoriul țării sunt diferite. *Ghidrinul* se consideră o specie de origine nordică marină și, respectiv, demonstrează o afinitate mai mare față de ecosistemele cu apă mai rece (specie crioofilă), devenind extrem de numeros în sectorul medial al Nistrului după construcția hidrocentralei de la Novodnestrovsk (1981), iar *osarul* termofil de origine ponto-caspică (la care icrele fecundate se pot dezvolta cu succes și la $T_{apei} = 28^{\circ}\text{C}$) a profitat în rezultatul tendințelor încălzirii globale, înmălirii active a albiilor râurilor și împânzirii lor cu vegetație acvatică, fiind mai numeros în bazinul râurilor mici din țară.

Tabelul 1

Valorile indicilor ecologici pentru gasterosteide capturate în fl. Nistru
(limetele Republicii Moldova) în anii 2015 și 2016

| SPECIA | s. Naslavcea | | | or. Soroca | | | Lacul de acumulare Dubăsari | | | or. Criuleni r. Vadul lui Vodă | | | s. Olănești-s. Palanca | | | |
|--|---|-------|-------|------------|-------|-------|-----------------------------|-------|-------|--------------------------------|-------|-------|------------------------|-------|-------|------|
| | D (%) | C (%) | W (%) | D (%) | C (%) | W (%) | D (%) | C (%) | W (%) | D (%) | C (%) | W (%) | D (%) | C (%) | W (%) | |
| Ord. Gasterosteiformes, Fam. Gasterosteidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Anul 2015 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | <i>Gasterosteus aculeatus</i> Linnaeus, 1758 | 74,69 | 60,00 | 44,82 | 14,37 | 30,00 | 4,31 | - | - | - | 0,66 | 10,00 | 0,07 | 1,70 | 40,00 | 0,68 |
| 2 | <i>Pungitius platygaster</i> (Kessler, 1859) | - | - | - | - | - | - | 0,51 | 10,00 | 0,05 | - | - | - | 0,36 | 10,00 | 0,04 |
| Anul 2016 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | <i>Gasterosteus aculeatus</i> Linnaeus, 1758 | 94,29 | 80,00 | 75,74 | 4,03 | 60,0 | 2,42 | - | - | - | 1,37 | 20,0 | 0,27 | 5,53 | 20,00 | 1,11 |
| 2 | <i>Pungitius platygaster</i> (Kessler, 1859) | - | - | - | 5,57 | 50,00 | 2,78 | 0,43 | 10,00 | 0,042 | - | - | - | 1,19 | 20,00 | 0,24 |

Factorii ecologici stimulatori în expansia și proliferarea *ghidrinului* și *osarului* în limetele Republicii Moldova. După construcția barajului de la Novodnistrovsk (Ucraina), apa deversată din lac de la adâncimi mari a modificat substanțial regimul termic în fluviu. În perioada de primăvară-vară temperatura medie multi-anuală a apei, până la or. Dubăsari, a scăzut cu 5-8°C, iar în timpul verii lângă s. Naslavcea, de regulă, nu se ridică mai mult de 14°C. Dacă pentru majoritatea peștilor din zonă acest factor a devenit unul limitativ, atunci pentru *ghidrinul criofil* a devenit unul favorabil și oportun; de la s. Naslavcea și până la or. Soroca el a devenit practic unicul reprezentant multidominant (Fig.1).



Fig.1. În aval de barajul Novodnistrovsk până la or. Soroca *ghidrinul* a devenit un taxon superdominant în ihtiocenoza fl. Nistru.

Având în vedere că reproducerea *ghidrinului* începe la o temperatură a apei de 9-10°C și durează și după 20°C, putem constata că acest hidrobiotop oferă condiții termice optime pentru reproducere pe o perioadă foarte lungă de timp (aproape tot sezonul vernal și estival).

S-a constatat că în capturile de lângă s. Naslavcea grupările numeroase de *ghidrin* formează asociații stabile doar cu *boișteanul* puțin numeros – *Phoxinus phoxinus*. Una dintre ipotezele care ar explica toleranța sa față de *boiștean* (fiind o specie foarte agresivă cu alți taxoni) este exteriorul lor foarte asemănător, *ghidrinul*, pur și simplu, confundându-l cu un seamăn de-al său (Fig.2).



Fig.2. *Ghidrinul* formează asociații durabile doar cu *boișteanul*.

Pe lângă factorul termic care l-a avantajat pe *ghidrin* în fața altor specii este important a menționa și lipsa sau deficitul consumatorilor naturali și a concurenților puternici în ecosistem. Din cauza pescuitului ilicit cu efect selectiv accentuat, din ecosistem sunt extrași cei mai importanți reglatori ai nivelurilor trofice inferioare (specii ihtiofage, specii pacifiste înalt competitive de talie medie și mare), iar când nu sunt dușmani și potențialul adaptiv al prăzii este mare, se produc adevărate „explozii de efectiv”.

Majorarea rapidă a efectivelor populaționale în fl. Nistru este facilitată și de alte însușiri biologice de succes (idioadaptări), ca: manifestarea grijii față de urmași (prin construcția cuiburilor și protejarea puietului), mimicismul pronunțat, prezența formațiunilor eficiente de apărare (tepi, ghimpți), modul de viață gregar (cu multiplele sale avantaje), spectrul nutritiv larg și competitivitatea trofică înaltă și, desigur, trebuie evidențiate particularitățile reproductive ale speciei. *Osarul* și *ghidrinul* sunt specii cu reproducere porționată, de aceea prolificitatea absolută este determinată de numărul pontelor depuse și de numărul de ovocite în cadrul unei porții. Fiind o specie caracteristică latitudinilor nordice, dinamica gametogenetică este influențată de trei factori de bază: temperatura, durata zilelor cu lumină și asigurarea trofică.

O femelă în sezonul reproductiv poate depune până la 10 ponte din aprilie și până în august, iar în California s-a constatat că se poate reproduce anul întreg (Vasilieva, 2007) [13, p.70]. După datele lui Wootton (1973), *ghidrinul* în Anglia, dacă dispune de o bază trofică favorabilă, poate depune până la 20 porții de icre (citad de Ziuganov, 1991). În bazinul Pontic prolificitatea totală maximă a *ghidrinului* constituie 1400 icre, depuse în 6 porții (Smirnov, 1951). În condițiile Nistrului medial s-a constatat că specia depune 3 porții de icre (Fulga, 2016). Greutatea ovarelor *ghidrinului* în perioada reproductivă atinge până la 30% din masa corporală. Există o corelație pozitivă evidentă între masa corporală a indivizilor și numărul de porții și icre depuse. O femelă care cântărește în medie 0,4 g, în perioada reproductivă poate depune între 20 și 30 icre/porție, iar una care cântărește în medie 3,0 g depune într-o repriză 300-400 icre [14, p.69]. În sectorul Nistrul prolificitatea absolută a *ghidrinului* variază de la 230 icre (la vârsta de 2 ani) până la 826 icre la vârsta de 5 ani.

Potapova și al. (1961) au demonstrat existența în populațiile de *ghidrin* a femelelor cu ritm de creștere diferențiat și cu divergențe în biologia reproducerii. Femelele caracterizate de o creștere rapidă aveau o prolificitate absolută mult mai mare, atât din contul volumului visceral mai mare, cât și din cauza dimensiunilor ovocitare mai mici, cu un conținut mai mic de lipide și grăsimi. Pe când ecofenele cu ritm lent de creștere conțineau ovocite de dimensiuni mai mari și mai bine asigurate trofic [15, p.25-40]. Acest fenomen a fost constatat de noi la ecofenele plăticii din Republica Moldova [16, p.369].

Icelele *ghidrinului* și ale *osarului* sunt depuse în cuiburi, construite eventual de masculi. Însă, poziția acestor cuiburi și forma lor diferă în funcție de specie. La *ghidrin* cuibul este construit nemijlocit pe substrat, iar la *osar* deasupra lui, la o anumită înălțime în desigururile de vegetație acvatică, fiind ținute grămadă și strâns lipite de substrat. Femela, condusă de mascul, intră în cuib, iar după depunerea icrelor masculul le protejează, le curăță de impurități și le aerează periodic. După eclozare, larvele se țin în apropiere de mascul, iar în caz de pericol el își poate ascunde progeniturile în gură [17, p.73].

În perioada nupțială specia demonstrează un dimorfism sexual pronunțat, masculul fiind mai viu colorat, cu nuanță roșietică în partea anterioară a corpului (Fig.3).



Fig.3. Dimorfismul sexual al *ghidrinului*.

Ghidrinul a suscitat interesul multor etologi referitor la confecționarea cuibului care denotă un talent de invidiat. Etologia reproductivă a masculului este foarte avansată evolutiv și conține trei faze: 1) de construire a cuibului 2) sexuală și 3) părintească [18, p.80].

În așa fel, grija accentuată față de urmași compensează eficient prolificitatea relativ joasă a speciei din contul ratei mari de supraviețuire a urmașilor.

O idioadaptare oportună a speciei în condiții ecologice actuale instabile este, desigur, și spectrul trofic larg și o intensitate nutritivă excepțională. Este știut faptul că majoritatea speciilor de origine marină și limanică, indiferent de mărimile taliei, duc un mod de viață preponderent răpitor. Ambele specii, având dimensiuni modeste, atacă fără ezitare de la organisme zooplanctonice mici (*Cladocera*, *Copepoda*, *Ostracopoda*) până la viermi, insecte, moluște, icre, larve și puiet de pește (inclusiv propriul puiet). Zona litorală a mărilor și oceanilor se consideră că este încă slab exploatată trofic, iar impactul *gasterosteidelor* este unul nesemnificativ [19, p.1043]. Pe când, nimeriți în apele dulci lipsite de dușmani și bogate în hrană variată, aceste specii sunt capabile să epuizeze rapid baza trofică din ecosistem.

Gasterosteidele sunt considerate specii cu ciclul vital scurt, având o structură populațională simplă. Femelele de obicei sunt mai mari ca masculii (dimorfism sexual). Vârsta acestor specii poate fi determinată prin analiza curbelor Peterson (repartizarea frecvențelor de lungimi cu corespunderea undelor de amplitudine maximă claselor de vârstă evidențiate) sau la analiza otoliților. Prima metodă este mai simplă și mai frecvent folosită în cazul populațiilor din regiunile temperate cu schimbări sezoniere mai proeminente.

Vârsta maximă de viață este de 4-5 ani, iar reproducerea primară are loc la 1-2 ani, atingând lungimea de 36-40 mm [20, p.114-115; 21, p.71-72; 22, p.188-189]. În condiții experimentale, cu crearea optimului ecologic, *ghidrinul* poate atinge maturitatea sexuală și la vârsta de 4 luni. Rezultatele obținute de diverși cercetători

susțin concepția lui Nikolski (1974) cu privire la dimensiunile minime critice necesare maturizării sexuale. Dacă aceste dimensiuni critice nu sunt atinse de *ghidrin* în primul an de viață, el ratează sezonul reproductiv pentru a se reproduce în anul viitor [23, p.108-113].

La analiza populației locale de *ghidrin* de lângă s. Naslavcea au fost evidențiate patru grupe de vârstă. Analiza matematică a ritmului de creștere a *ghidrinului* din fl. Nistru (colectat lângă s. Naslavcea) cu ajutorul funcției Bertalanffy demonstrează un potențial de creștere deosebit de semnificativ în faza ontogenetică timpurie; coeficientul k pentru lungime este 0,18, iar pentru greutate – 0,30 și indică un interval mic de timp necesar pentru atingerea dimensiunilor fiziologice maxime ($L_{\infty} = 8,79$ cm, $w_{\infty} = 8,60$ g). Valorile mari ale coeficienților de creștere k pentru *ghidrin* sunt propice tuturor speciilor cu ciclul vital scurt, al cărui scop vital este atingerea cât mai rapidă a dimensiunilor oportune pentru a-și asigura o reproducere reușită în condițiile mortalității naturale sporite (Tab.2).

Tabelul 2

Valorile gravi-dimensionale și parametrii de creștere a femelelor de *ghidrin* din Nistru medial (s. Naslavcea) capturat în primăvara anilor 2015-2016

| t (x) | l(t) | ln(L _∞ -l _t) (y) | w(t) | ln(w _∞ ^{1/3} -w _t ^{1/3}) (y) | lg w(t)=a+b lg l(t) | |
|--|------------------------------|---|--|--|--|--------------|
| | | | | | lg l(t), (x) | lg w(t), (y) |
| 1 | 3,8±0,028 | 1,608 | 0,85±0,041 | 0,10 | 1,34 | -0,16 |
| 2 | 4,6±0,014 | 1,434 | 1,76±0,049 | -0,17 | 1,53 | 0,56 |
| 3 | 5,4±0,023 | 1,227 | 3,26±0,076 | -0,57 | 1,68 | 1,18 |
| 4 | 5,8±0,028 | 1,093 | 4,15±0,106 | -0,82 | 1,76 | 1,42 |
| 5 | 6,38±0,039 | 0,883 | 5,10±0,257 | -1,12 | 1,85 | 1,62 |
| n=101 | a=1,45 b= 0,83 c= 1,79 | t ₀ = 2,15 k= -0,18 L _∞ =8,79 | a= 0,54 b= 0,74 c= 0,41 | t ₀ = 1,02 k= -0,30 w _∞ = 8,60 | a= 4,63 b= 3,55 r _{xy} = 0,85 | |
| l = 8,79(1-e^{-0,18(t-2,15)}) | | | W = 8,60(1-e^{-0,30(t-1,02)})³ | | lg W = (4,63±0,51) + (3,55±0,19)lg l | |

S-a constatat că în perioada nupțială de maximă intensitate (aprilie-mai), când se formează numeroase cârduri în zona de litoral, cei mai numeroși indivizi fac parte din grupele de vârstă de 2, 3 și 4 ani, ceea ce reprezintă ponderea majoritară a reproducătorilor. Efectivul ne semnificativ al primei grupe de vârstă se datorează faptului că nu toți indivizii se maturizează la vârsta de 1 an, de aceea o parte semnificativă din populație nu participă în procesul reproductiv. Indivizii din ultima grupă de vârstă (5 ani) sunt de asemenea puțin numeroși, cel mai mare exemplar capturat atingând $L_{\max} - 7,5$ cm, $l_{\max} - 6,7$ cm și $P_{\max} - 5,32$ g. Deja în iulie a fost posibil de identificat încă o grupă de vârstă 0 + care avea lungimea medie standard de 2,4 cm și greutatea de 0,18 g. În acest sens, putem afirma că specia este caracterizată de o creștere-start foarte accelerată, fiind, probabil, o strategie biologică moștenită de la formele anadrome care pier în masă după prima reproducere, asemenea salmonidelor din genul *Oncorhynchus*.

La analiza corelației lungime-greutate, constatăm valoarea lui $b = 3,55$, ceea ce indică la o alometrie pozitivă pronunțată, favorizându-se creșterea în greutate față de cea liniară. Această valoare este condiționată în primul rând de perioada efectuării colectărilor, când greutatea produselor sexuale la femele contribuie la majorarea semnificativă a greutății totale, și, posibil, de condițiile nutritive favorabile din ecosistem grație oportunității trofic pronunțat și deficitului de concurenți mai competitivi din ecosistem.

În structura de sex a populației *ghidrinului* în fl. Nistru predomină femelele (63,6%) față de masculii (36,4%), ceea ce, pe de o parte, reprezintă strategia de compensare a mortalității naturale înalte (caracteristică tuturor speciilor cu ciclul vital scurt), iar, pe de altă parte, este un indicator de continuare a fazei III în procesul bioinvasiei (explozia numerică), grație condițiilor de optim ecologic în care se află în prezent specia.

În așa fel, se poate afirma că valența ecologică largă, structura populațională simplă și talia mică a indivizilor de *ghidrin* permit existența numeroaselor populații chiar și în ecosisteme sărace trofic și mici ca dimensiuni, iar în condiții ecologice favorabile specia poate ușor provoca efecte invazive asupra biocenozelor reci-piente și demonstra creșteri individuale record.

În condițiile când se constată un presing semnificativ din partea nivelurilor trofice superioare (a speciilor ihtiofage), mortalitatea naturală înaltă a *ghidrinului* și *osarului* este cu succes compensată de așa idioadaptări oportune ca: maturizarea precoce, grija față de urmași și prezența structurilor exterioare de apărare.

Relațiile gasterosteidelor în cadrul ihtiocenozelor. Din cauza dimensiunilor individuale mici, activității trofice înalte și impactului devastator asupra progeniturilor speciilor economice valoroase de pești, *ghidrinul* și *osarul* sunt considerați taxoni nedoriți în ecosistem. Doar în unele puncte ale arealului de răspândire, unde biomasa lor atinge valori semnificative, pescuitul lor se poate duce în proporții industriale, fiind fabricate furaje sub formă de paste, grăsimi tehnice folosite în industria săpunului, îngrășăminte organice în agricultură etc. [24, p.193]. Însă, mult mai mare este impactul lor ecologic negativ, decât avantajele economice. Este foarte important de atenționat asupra riscurilor mari la care sunt expuse gospodăriile piscicole în cazul pătrunderii în ele a acestor specii, care pot provoca daune economice majore (consumul de furaje, distrugerea icrelor și a progeniturilor speciilor de cultură, vectori parazitari etc.). S-a demonstrat în mod experimental că pentru a „coloniza” cu succes un obiectiv acvatic anterior nepopulat de aceste specii este de ajuns să pătrundă doar o pereche de reproducători, iar toxicorezistența înaltă face ineficientă orice metodă de extirpare chimică a invadatorilor [26, p.186]. Unii autori menționează că *ghidrinul* și *osarul* reprezintă riscuri majore și ca vectori de răspândire a diferitelor parazitoze – 97 specii endo- și ectoparazite [25, p.68].

Metodele de reglare a efectivelor. După părerea noastră, în ecosistemele afectate de aceste specii cele mai eficiente metode de reglare și diminuare a efectivelor este popularea activă a biotopurilor cu specii ihtiofage de pești (ca *șalăul*, *bibanul*, *știuca*, *mihalțul* și al.) și menținerea pe viitor a unei stări sănătoase a nivelului ihtiofagilor în ecosistem. Pentru speciile înalt adaptive unicul factor natural limitativ poate servi doar prezența competitorilor mai buni sau a consumatorilor naturali din nivelurile trofice mai superioare [27, p.352-353].

De asemenea, considerăm că ar fi o metodă foarte eficientă și pescuitul meliorativ al acestor specii (mai ales al celor cu instincte migraționale bine dezvoltate). Ca exemplu, efectuarea pescuiturilor meliorative în martie-aprilie în sectorul Nistrului medial (or. Soroca - s. Naslavecea) în zona de litoral (mai ales la gurile afluenților sau în interiorul golfulețelor), pe timp de noapte cu ajutorul năvodului pentru puiet (sau cu fatca), folosind ca stimul de ademenire sursele de iluminare, poate da un rezultat selectiv foarte bun, fără a afecta puietul altor specii de pești. În acest scop, am elaborat un dispozitiv de iluminare autonom, care poate fi ușor alimentat cu ajutorul panourilor fotovoltaice mobile și instalat pe timp de noapte în zona de pescuit meliorativ.

În concluzie este de menționat că comunitatea științifică anticipă riscurile și amenințările posibile, dar responsabilitatea de a lua măsuri în vederea prevenirii sau diminuării acestora revine atât autorităților, ca factor de decizie, cât și fiecăruia dintre noi prin propria cultură interioară.

Concluzii

1. În prezent, în limitele Republicii Moldova se constată o progresie biologică evidentă a speciilor de *ghidrin* și *osar*. *Ghidrinul*, de origine nordică marină, demonstrează o afinitate mai mare față de ecosistemele cu apă mai rece, devenind o specie multidominantă în aval de hidrocentrala de la Novodnestrovsk (1981) până la orașul Soroca, iar *osarul* termofil, de origine ponto-caspică, a devenit comun în bazinul râurilor mici din țară.
2. Analiza matematică a ritmului de creștere a *ghidrinului* din fl. Nistru (colectat lângă s. Naslavcea) cu ajutorul funcției Bertalanffy demonstrează un potențial de creștere deosebit de semnificativ în faza ontogenetică timpurie; coeficientul k pentru lungime este 0,18, iar pentru greutate – 0,30 și indică la un interval mic de timp necesar pentru atingerea dimensiunilor fiziologice maxime ($l_{\infty} = 8,79$ cm, $w_{\infty} = 8,60$ g). Valorile mari ale coeficienților de creștere k pentru *ghidrin* sunt propice tuturor speciilor cu ciclul vital scurt, al căror scop vital este atingerea cât mai rapidă a dimensiunilor oportune pentru a-și asigura o reproducere reușită în condițiile unei mortalități naturale sporite.
3. Majorarea rapidă a efectivelor populaționale ale *ghidrinului* în fl. Nistru este facilitată de următoarele idioadaptări: maturizarea sexuală timpurie, reproducerea porționată, manifestarea grijii față de urmași, mimicismul pronunțat, prezența formațiunilor eficiente de apărare (țepi, ghimpi), modul de viață gregar, spectrul nutritiv larg, competitivitatea trofică înaltă, toxicorezistență la poluări de origine antropică.

Referințe:

1. НЕЛЬСОН, Д.С. *Рыбы мировой фауны*. Москва: Либликом, 2009, с.880.
2. BULAT, D.M., BULAT, D.N., TODERAȘ, I., USATÎI, M., ZUBCOV, E., UNGUREANU, L. *Biodiversitatea, Bioinvazia și Bioidicația (în studiul faunei piscicole din Republica Moldova)*. Chișinău: Foxtrod, 2014. 430 p.
3. ВАСИЛЬЕВА, Е.Д. *Рыбы Черного Моря*. Москва: ВНИРО, 2007. 237 с.
4. ЗЮГАНОВ, В.В. *Фауна СССР. Рыбы. Том 5. Семейство колюшковых (Gasterosteidae) мировой фауны*. Ленинград: Наука, 1991, с.261.
5. FULLER, P., DETTLOFF, K. and STURTEVANT, R. Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*)– FactSheet. Disponibil: <http://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.aspx?speciesID=702>
6. ЗЮГАНОВ, В.В. *Фауна СССР. Рыбы. Том 5. Семейство колюшковых (Gasterosteidae) мировой фауны*. Ленинград: Наука, 1991, с.261.
7. ОҢЕЛ, V. *Atlasul peștilor din Rezervația Biosferei Delta Dunării*. Tulcea, Centrul de informare tehnologică Delta Dunării, 2007. 481 p.
8. ЗЮГАНОВ, В.В. *Фауна СССР. Рыбы. Том 5. Семейство колюшковых (Gasterosteidae) мировой фауны*. Ленинград: Наука, 1991, с.261.
9. KOTTELAT, M., FREYHOF, J. *Handbook of European Freshwater Fishes*. Switzerland: Delemont, 2007. 646 p.
10. NĂVODARU, I. și al. *Estimarea stocurilor de pești și pescăriilor. Metode de evaluare și prognoză a resurselor pescărești*. Dobrogea, 2008, p.46-61.
11. ПРАВДИН, И.Ф. *Руководство по изучению рыб*. Москва, 1966. 400 с.
12. BULAT, D.M., BULAT, D.N., TODERAȘ, I., USATÎI, M., ZUBCOV, E., UNGUREANU, L. *Biodiversitatea, Bioinvazia și Bioidicația (în studiul faunei piscicole din Republica Moldova)*. Chișinău: Foxtrod, 2014. 430 p.
13. ВАСИЛЬЕВА, Е.Д. *Рыбы Черного Моря*. Москва: ВНИРО, 2007. 237 с.
14. WOOTTON, R.J. *The Biology of the Sticklebacks*. New York: Academic Press, 1976. 261 p.
15. ПОТАПОВА, Т.Л. Внутривидовая изменчивость трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. В: *Вопросы ихтиологии*, 1972, т.12, вып.1(72), с.25-40.
16. BULAT, D.M., BULAT, D.N., TODERAȘ, I., USATÎI, M., ZUBCOV, E., UNGUREANU, L. *Biodiversitatea, Bioinvazia și Bioidicația (în studiul faunei piscicole din Republica Moldova)*. Chișinău: Foxtrod, 2014. 430 p.
17. COZARI, T., USATÎI, M., VLADIMIROV, M. Seria: *Lumea animală a Moldovei. Pești. Amfibieni. Reptile*. Vol.II. Chișinău: Știința, 2003. 150 p.
18. ЗЮГАНОВ, В.В. *Фауна СССР. Рыбы. Том 5. Семейство колюшковых (Gasterosteidae) мировой фауны*. Ленинград: Наука, 1991, с.261.
19. ГОМЕЛЮК, В.Е. Влияние факторов среды на поведение самцов трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. Белого моря в период заботы о потомстве. В: *Вопросы ихтиологии*, 1976, т.16, вып.6(101), с.1043-1053.
20. ГАНЯ, И.М. (ред.) *Рыбы, земноводные, пресмыкающиеся*. В: *Животный мир Молдавии*, 1981, с.223.
21. ВАСИЛЬЕВА, Е.Д. *Рыбы Черного Моря*. Москва: ВНИРО, 2007. 237 с.
22. ДОЛГИЙ, В.Н. *Ихтиофауна Днестра и Прута (современное состояние, генезис, экология и биологические основы рыбохозяйственного использования)*. Кишинев: Штиинца, 1993. 323 с.
23. НИКОЛЬСКИЙ, Г.В. *Теория динамики стада рыб как биологическая основа эксплуатации и воспроизводства рыбных ресурсов*. Москва: Пищевая промышленность, 1974. 447 с.
24. ЗЮГАНОВ, В.В. *Фауна СССР. Рыбы. Том 5. Семейство колюшковых (Gasterosteidae) мировой фауны*. Ленинград: Наука, 1991, с.261.
25. Ibidem.
26. Ibidem.
27. BULAT, D.M., BULAT, D.N., TODERAȘ, I., USATÎI, M., ZUBCOV, E., UNGUREANU, L. *Biodiversitatea, Bioinvazia și Bioidicația (în studiul faunei piscicole din Republica Moldova)*. Chișinău: Foxtrod, 2014. 430 p.

Prezentat la 19.05.2016

CZU: 597:574.5(478)

IHTIOFAUNA FLUVIULUI NISTRU ȘI RÂULUI PRUT ÎN ANUL 2016

Dumitru BULAT, Denis BULAT*Institutul de Zoologie al AȘM*

În lucrarea de față sunt abordate rezultatele investigației ihtiofaunei fl. Nistru și r. Prut (limitele teritoriale ale Republicii Moldova) în anul 2016 cu ajutorul volocului pentru puiet. Ceea mai bogată ihtiofaună se constată în stațiunile terminale de sud – Palanca (fl. Nistru) și Giurgiulești (r. Prut), care reprezintă adevărate zone de ecoton, însumând particularitățile de albie, luncă inundabilă și estuar. Cu cât ne deplasăm în amonte, se constată majorarea ponderii speciilor reofile, însă scade valoarea diversității specifice și a producției piscicole.

În ce privește diversitatea și ponderea în capturi a speciilor de pești cu divers statut de raritate, r. Prut întrece semnificativ fl. Nistru, ceea ce denotă un presing antropic mai accentuat asupra ecosistemului fluvial.

Cuvinte-cheie: ihtiofaună, factor antropic, bioinvație, indici ecologici.

THE ICTHYOFAUNA OF DNIESTER AND PRUT RIVERS IN 2016 YEAR

In this paper are addressed to results of the investigation about Dniester and Prut Rivers ichthyofauna (territorial limits of Republic of Moldova) in 2016 year using trammel for juveniles. The richest ichthyofauna are found in southern terminals stations – Palanca (Dniester River) and Ghirgiulesti (Prut River), which are real ecotone areas, totaling riverbed, floodplain and estuary peculiarities. As we move upstream, it increases the share of rheophyls species, but decreases the amount of specific diversity and fish production.

In the aspect of diversity and share in the fish species catches with different rarity state, Prut River significantly surpasses Dniester River, which shows a more pronounced anthropogenic pressure on river ecosystem.

Keywords: ichthyofauna, anthropogenic factor, bioinvasion, ecological indexes.

Introducere

Dacă apelăm la diverse izvoare științifice cu privire la ihtiofauna ecosistemelor acvatice naturale de pe teritoriul actual al Republicii Moldova, putem constata în aspect succesional o degradare substanțială a diversității specifice autohtone, ce se exprimă prin substituția continuă a taxonilor indigeni cu cei de origine alogenă sau intervenientă de talie mică [1-8].

Până la intensificarea presingului antropic în fl. Nistru (începutul sec. al XIX-lea) ihtiofauna era reprezentată în proporție mai mare de 70% din specii litofile de pești, ce reflecta în mare parte structura substratului albiei, preponderent pietros, și numai în sectorul inferior trecea în nisipos și alocuri mâlos [9], iar r. Prut, grație abundenței de gropi adânci, meandrări, copaci înecați, purta faima de râul *somnului*, fiind un habitat perfect pentru această specie [2].

Astăzi, cu regret, în fluviul Nistru din capturile industriale și amatoresți au decăzut complete numeroase specii, printre care amintim sturionii, denumiți și „peștii regali” – *cega*, *păstruga*, *nisetru*, *morunul*, *viza*, iar din ciprinide amintim *sabița*, *văduvița*, *morunașul*, *ocheana*, *cleanul*, *mreana*, *vărezubul* ș.a. [1,3,5,6,10,11].

În 1835 un francez angajat de guvernatorul Novorosiei și Basarabiei, M.S. Voronțov, menționa că *morunul* a devenit mult mai rar și se găsește acum mai mult în Dunăre, iar *caviarul* este exportat în Italia și Franța, unde este foarte apreciat. Pe când abundă încă foarte mult sturionul (osetri), posibil se are în vedere *nisetru* *rusec* și rudele sale mai mici (*păstruga* și *cega*) [12].

Dintr-un document turcesc care se referea la „pescuitul hăt, hăt, din Marea Neagră și de Azov” aflăm detalii foarte interesante privind obiceiurile care ar fi fost aceleași și la Dunăre, Nistru, Prut. Astfel, după cronologia osmană, sezonul de pescuit al sturionilor începea de la debutul anotimpului friguros, sfârșit de noiembrie – început de decembrie, și se termina la sfârșitul lunii aprilie, deoarece din acel timp peștele și caviarul nu mai primesc nicicum sarea, ei sunt „acoperiți”. Tot în acel document se amintește că „înainte se foloseau taliane și în fiecare an se tăiau 10 000–12 000 de nisetri, dar de câțiva ani încoace nu se mai prind și nu se mai taie în fiecare an decât 3 sau 4 mii de nisetri, iar în acest an cu imense strădanii au fost prinși și tăiați 3 mii” [12].

Material și metode

Prelevările de material ihtiologic au fost efectuate în anul 2016 în ecosistemele acvatice ale fluviului Nistru și râului Prut cu ajutorul volocului pentru puiet (l = 5 m și dimensiunile laturii ochiului Ø 5 mm). Majoritatea indivizilor capturați au fost reînțorși în apă în stare vie. Pentru studiul de laborator o parte neînsemnată a fost fixată în soluție de formol de 4%. Analiza materialului ihtiologic s-a efectuat prin utilizarea metodelor clasice ecologice și ihtiologice [13-17].

Valorile indicilor ecologici din tabele sunt obținute în baza capturilor cu volocul pentru puiet. Numărul trierilor pentru fiecare punct de colectare este 10, distanța de triere ≈ 10 m, probele au fost colectate în 10 puncte pe fl. Nistru și în 7 puncte pe r. Prut.

Datele obținute au fost prelucrate statistic, utilizând programele STATISTICA 6,0 și Excel – 2007. Valorile indicilor ecologici analitici și sintetici exprimă următoarele semnificații:

| | | |
|---------------------------------|-----------------------------------|--|
| D1 Subrecedente: <1,1% | C1 Accidentale: < 25% | W1 Accidentale: <0,1% |
| D2 Recedente: 1,1%-2% | C2 Accesorii: 25,1%-50% | W2-W3 Accesorii: 0,1%-5% |
| D3 Subdominante: 2,1%-5% | C3 Consante: 50,1%-75% | W4-W5 Caracteristice: 5,1%-100% |
| D4 Dominante: 5,1%-10% | C4 Euconstante: 75,1%-100% | |
| D5 Eudominante: >10% | | |

Rezultate și discuții

Ihtiofauna bazinului fluviului Nistru, grație interferenței biogeografice, conține specii relictice și endemice ale Dunării, Nistrului și Niprului, autoexpansiști pontici și mediteranieni, precum și taxoni alogeni de origine asiatică și nord-americană.

Investigațiile efectuate în fl. Nistru pe parcursul anilor 2006-2016 de către Institutul de Zoologie al AȘM au pus în evidență 71 taxoni aparținând la 11 ordine și 17 familii: *Petromyzontidae* (1 sp.), *Acipenseridae* (2 sp.), *Clupeidae* (3 sp.), *Esocidae* (1 sp.), *Cyprinidae* (33 sp.), *Nemacheilidae* (1 sp.), *Cobitidae* (7 sp.), *Siluridae* (1 sp.), *Lotidae* (1 sp.), *Gasterosteidae* (2 sp.), *Sygnathidae* (1 sp.), *Atherinidae* (1 sp.), *Percidae* (5 sp.), *Gobiidae* (9 sp.), *Centrarchidae* (1 sp.), *Odontobutidae* (1 sp.), *Cottidae* (1 sp.) [7] (Fig.1).

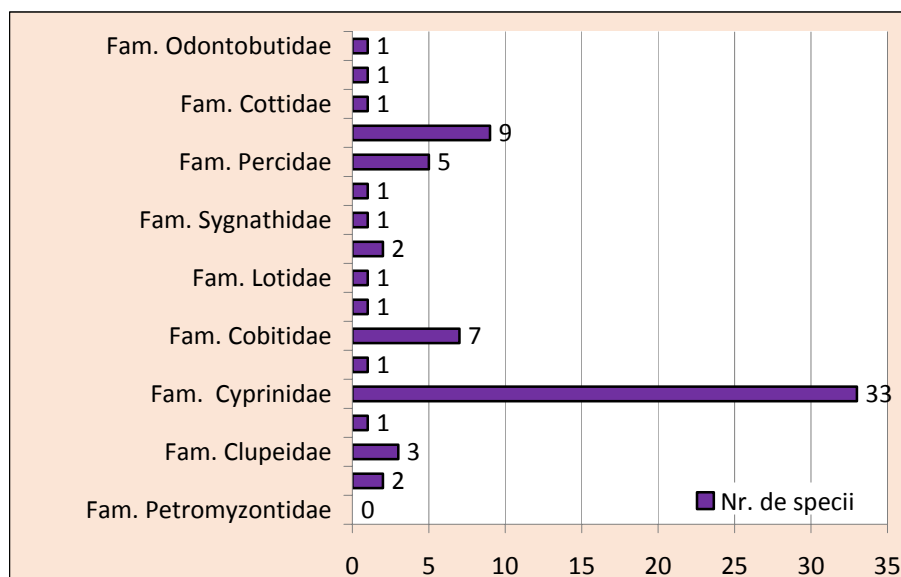
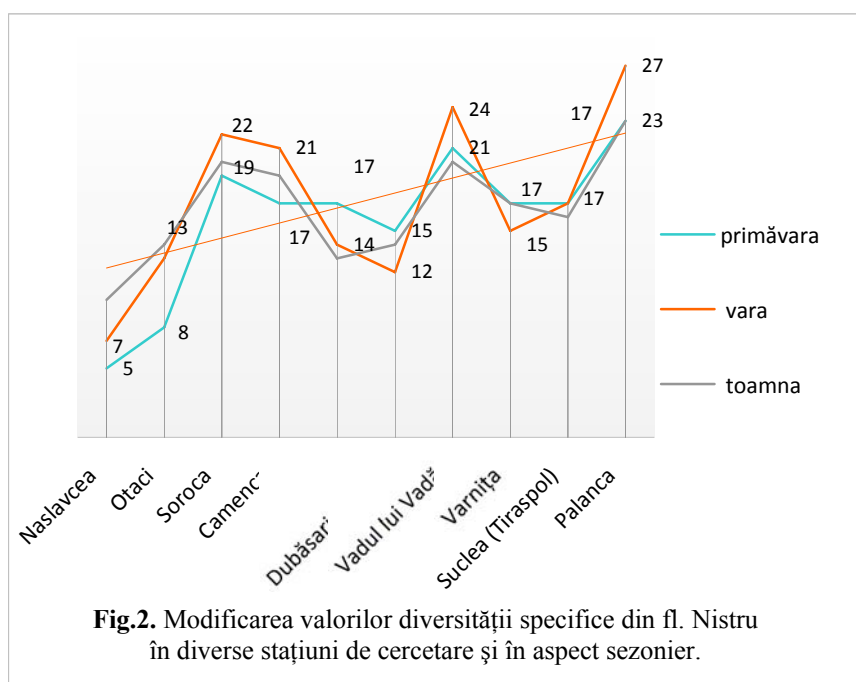


Fig.1. Componența ihtiofaunei fl. Nistru în anii de investigație 2006-2016.

Fiecare sector al fluviului Nistru este deosebit prin particularitățile sale ihtiifaunistice. În sectorul de jos ihtiofauna este mai bogată grație prezenței zonei de ecoton, formându-se suprafețe comune de contact între albie, lunca inundabilă, liman și mare. În lacul Dubăsari domină speciile euribionte limno-reofile de pești, iar cu cât ne deplasăm în amonte se constată majorarea ponderii speciilor reofile de pești, însă scade valoarea diversității specifice (Fig.2).



În locurile unde diversitatea specifică este joasă se constată de obicei o corelație negativă cu efectivele speciilor oportuniste de talie mică și medie (de exemplu; *ghidrinul* – stațiunea Naslavcea).

În stațiunea golfului Goieni valorile cantitative înalte sunt determinate de următorii factori: boiști vaste, loc de refugiu favorabil pentru puiet și, desigur, baza trofică mai bogată în comparație cu hidrobiotopurile ecosistemelor lotice.

Investigațiile efectuate în anul 2016 în fl. Nistru (limitele teritoriale ale Republicii Moldova) au pus în evidență următoarele particularități ihtiiofaunistice:

1. În regiunea s. Naslavcea diversitatea specifică este cea mai săracă (primăvara – 5 specii, vara – 6 specii și toamna – 9 specii de pești). Factorul determinant este construcția barajului de la Novodnestrovsk ce a modificat în aval regimurile hidrologic, termic și hidrobiologic. Unica specie oportunistă a devenit *ghidrinul*, fiind în toate perioadele anului una *multidominantă* (D_5) – $D_{pv.} = 94,29\%$, $D_{vara} = 96,75\%$; $D_{toamna} = 95,14\%$, *euconstată* (C_4) – $C_{pv.} = 80,0\%$, $C_{vara} = 60,0\%$, $C_{toamna} = 80,0\%$ și *caracteristică* (W_5) – $W_{pv.} = 75,44\%$, $W_{vara} = 58,05\%$, $W_{toamna} = 76,11\%$, având în acest hidrobiotop cel mai semnificativ aport ihtiocenotic structural și productiv. Este de menționat că primăvara populația *ghidrinului* este reprezentată exclusiv prin indivizi din grupele de vârstă apte spre a se reproduce (1-4 ani), iar vara crește semnificativ ponderea puietului de vârstă 0+, care deja către primăvara anului viitor atinge dimensiunile critice necesare pentru inițierea procesului reproductiv [18]. Dintre speciile cu divers statut de rarietate în acest punct de prelevare a probelor pot fi menționate: boișteanul – *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus, 1758) și zglăvoaca comună – *Cottus gobio* (Linnaeus, 1758). *Boișteanul* este unica specie care în acest hidrobiotop formează asociații durabile cu *ghidrinul*, însă demonstrează un efectiv relativ scăzut, pe când *zglăvoaca*, dimpotrivă, posedă o constanță de semnalare joasă, însă o abundență înaltă în habitatele insulelor subacvatice și la gurile afluenților cu apă rece.

Din speciile alogene și intervenite de pești care cu succes s-au adaptat la condițiile ecologice specifice formate în aval de rezervorul Novodnestrovsk trebuie de menționat *mugoiul bălțat* și *moaca de brădiș*. Ambele specii au ocupat cu succes nișa spațială de litoral bogată în diverse refugii subacvatice, cum sunt pietrele mari și rădăcinile de copaci.

2. În stațiunea s. Otaci putem constata o creștere a diversității specifice (primăvara – 8 specii, vara – 12 specii și toamna – 13 specii de pești) ca rezultat al majorării valorilor gradientului termic și apariției numeroaselor pâlcuri de vegetație acvatică, unde din abundență se concentrează peștii de talie mică. Majoritatea taxonilor fac parte din grupa ecologică a speciilor oportuniste cu ciclul vital scurt, ca: *ghidrinul*, *cleanul mic*, *oblețul*, *boarța*, *osarul*. Din speciile de talie medie sistematic se capturează: *babușca*, *bibanul* și *cleanul*. De

asemenea, începând din acest punct de colectare sunt sistematic capturați taxonii *zvârlugilor* și speciile de guvizi ca *ciobănașul*, *gavidul de baltă* și *moaca de brădiș*. Toamna, cu răcirea apei crește semnificativ abundența *boarței* ($D_{\text{toamna}} = 29,75\%$, $C_{\text{toamna}} = 60,0\%$, $W_{\text{toamna}} = 17,85\%$) și a *cleanului* ($D_{\text{toamna}} = 5,7\%$, $C_{\text{toamna}} = 40,0\%$, $W_{\text{toamna}} = 2,28\%$), iar *boișteanul* coboară în aval pe albie, având o semnalare constantă în acest hidrobiotop ($D_{\text{toamna}} = 3,80\%$, $C_{\text{toamna}} = 20,0\%$, $W_{\text{toamna}} = 0,76\%$).

3. Pescuiturile de control din stațiunea Soroca au demonstrat un tablou ihtiografic destul de surprinzător pentru noi, majorându-se semnificativ atât diversitatea taxonomică (primăvara – 19 specii, vara – 22, toamna – 20 specii de pești), cât și abundența speciilor în capturi. Conform indicelui de similitudine ecologică (Sørensen), această comunitate piscicolă se aseamănă cel mai mult cu cea de lângă or. Criuleni (primăvara – 80%, vara – 73%, toamna – 75%), fiind caracterizată prin abundența deosebit de mare a speciilor interveniente de pești, cum sunt speciile de guvizi. În unele habitate cu substrat nisipos-pietros și apă transparentă densitatea *ciobănașului* în zona de litoral poate atinge și chiar 3-4 indivizi/m². De asemenea, din această grupă ecologică în capturi devin constanți *ghidrinul*, *osarul* și *undreaua*, ceea ce reprezintă un tablou trist și alarmant, fiind un indicator de avansare și invazie rapidă a speciilor interveniente de pești.

De menționat că în această regiune crește semnificativ și ponderea unor specii euritope limno-reofile de pești, mai puțin tipice zonei piscicole a cleanului, mreiei și scobarului (din care anterior făcea parte acest sector), ca: *babușca*, *știuca*, *carasul argintiu*, *boarța*, *murgoiul bălțat*, *zvârlugile*, *bibanul*, *oblețul* ș.a., ce reprezintă un indicator biologic ferm al procesului activ de eutrofizare și poluare a acestui hidrobiotop (unde apele menajere din or. Soroca și deșeurile de la fabrica de conserve sunt deversate direct în fl. Nistru).

De menționat că în acest punct de colectare se constată încă o poziție fermă a speciilor reofile indigene de pești în structura ihtiocenotică, ca: *mreana comună* ($D_{\text{vara}} = 4,57\%$, $C_{\text{vara}} = 60,0\%$, $W_{\text{vara}} = 2,74\%$), *cleanul* ($D_{\text{vara}} = 6,71\%$, $C_{\text{vara}} = 60,0\%$, $W_{\text{vara}} = 4,02\%$; $D_{\text{toamna}} = 11,83\%$, $C_{\text{toamna}} = 40,0\%$, $W_{\text{toamna}} = 4,73\%$), *cleanul mic* ($D_{\text{vara}} = 9,76\%$, $C_{\text{vara}} = 70,0\%$, $W_{\text{vara}} = 6,83\%$) și *scobarul* ($D_{\text{toamna}} = 3,05\%$, $C_{\text{toamna}} = 20,0\%$, $W_{\text{toamna}} = 0,61\%$), care în prezent se confruntă activ cu procesele negative de alterare hidrobiotopică și avansare a speciilor euritope de pești. În pofida acestui fapt, speciile menționate fac parte din gilda reproductivă litofilă, în prezent fiind mai puțin afectată de alternările bruște de nivel în perioada reproductivă (spre deosebire de grupa speciilor fitofile).

În așa fel, putem constata că diversitatea ihtiografică mare din acest punct de colectare și abundența semnificativă a acestor taxoni poartă mai mult un caracter artificial și se datorează în mare parte conviețuirii la limita toleranței a speciilor reofile indigene de pești pe fonul progresiei biologice a taxonilor euritopi de origine intervenientă și alogenă ce au profitat în ultima perioadă de procesele distructive active de poluare, colmatare și eutrofizare.

4. Pentru tronsonul or. Camenca – s. Erjovo este caracteristică păstrarea valorilor înalte ale dominanței și constanței pentru *speciile de guvizi* și *boarță* și creșterea semnificativă a valorilor indicilor ecologici pentru complexul *zvârlugilor* (*Cobitis taenia s. lato*) ($D_{\text{vara}} = 17,67\%$, $W_{\text{vara}} = 10,21\%$) și pentru *undrea* ($D_{\text{prv.}} = 10,79\%$, $C_{\text{prv.}} = 70,0\%$, $W_{\text{prv.}} = 7,34\%$, $D_{\text{vara}} = 16,25\%$, $C_{\text{vara}} = 70,0\%$, $W_{\text{vara}} = 11,38\%$, $D_{\text{toamna}} = 12,88\%$, $C_{\text{toamna}} = 60,0\%$, $W_{\text{toamna}} = 7,73\%$). Este de menționat că în fl. Nistru domină două specii de zvârlugi: zvârluga de Don – *Cobitis tanaitica*, zvârluga de Dunăre – *Cobitis elangotoides*, inclusiv hibridii lor interspecifici, care în ultimii ani demonstrează o progresie biologică semnificativă în limitele Republicii Moldova și o expansie continuă în arealul secundar de răspândire. Toamna, cu răcirea apei, abundența și frecvența acestor taxoni scade în capturi.

Este de remarcat că în anul 2016 s-a constatat o pondere satisfăcătoare în capturi a puietului de *avat*, care începând din acest punct de colectare demonstrează valori cantitative relativ înalte în ambele sectoare ale fl. Nistru (inclusiv pentru r. Prut) și indică la un an reproductiv favorabil pentru această specie.

5. Pescuiturile științifice efectuate în golful Goieni, în pofida diversității specifice relativ sărace (primăvara – 17 specii, vara – 14 specii și toamna – 13 specii de pești), demonstrează cele mai mari valori cantitative din fl. Nistru. Aportul productiv maxim în structura ihtiocenozei este adus de speciile euritope de talie mică și medie, ca: *babușca* eudominată, euconstată și caracteristică ($D_{\text{pv.}} = 49,79\%$, $D_{\text{vara}} = 66,92\%$, $D_{\text{toamna}} = 21,03\%$; $C_{\text{pv.}} = 70,0\%$, $C_{\text{vara}} = 60,0\%$, $C_{\text{toamna}} = 30,0\%$; $W_{\text{pv.}} = 34,85\%$, $W_{\text{vara}} = 34,15\%$, $W_{\text{toamna}} = 6,31\%$); *bibanul* ($D_{\text{pv.}} = 8,56\%$, $D_{\text{vara}} = 5,65\%$, $D_{\text{toamna}} = 4,21\%$; $C_{\text{pv.}} = 80,0\%$, $C_{\text{vara}} = 50,0\%$, $C_{\text{toamna}} = 40,0\%$; $W_{\text{pv.}} = 6,84\%$, $W_{\text{vara}} = 2,53\%$, $W_{\text{toamna}} = 1,68\%$); *oblețul* ($D_{\text{pv.}} = 9,84\%$, $D_{\text{vara}} = 6,43\%$, $D_{\text{toamna}} = 17,29\%$; $C_{\text{pv.}} = 60,0\%$, $C_{\text{vara}} = 60,0\%$, $C_{\text{toamna}} = 20,0\%$; $W_{\text{pv.}} = 5,90\%$, $W_{\text{vara}} = 3,85\%$, $W_{\text{toamna}} = 3,46\%$) și *boarța* ($D_{\text{pv.}} = 8,8\%$, $D_{\text{vara}} = 6,24\%$, $D_{\text{toamna}} = 34,11\%$; $C_{\text{pv.}} = 60,0\%$, $C_{\text{vara}} = 60,0\%$, $C_{\text{toamna}} = 40,0\%$; $W_{\text{pv.}} = 5,30\%$, $W_{\text{vara}} = 3,74\%$, $W_{\text{toamna}} = 13,64\%$).

6. Pescuiturile științifice efectuate lângă barajul lacului de acumulare Dubăsari au scos în evidență o diversitate ihtiofaunistică relativ săracă (primăvara – 15 specii, vara – 12 specii și toamna – 14 specii de pești) cu dominarea în capturi a următoarelor specii euritope caracteristice acestui hidrobiotop lenic: *oblețul* ($D_{pv.} = 17,71\%$, $D_{vara} = 38,92\%$, $D_{toamna} = 8,25\%$; $C_{pv.} = 40,0\%$, $C_{vara} = 50,0\%$, $C_{toamna} = 40,0\%$; $W_{pv.} = 7,09\%$, $W_{vara} = 19,46\%$, $W_{toamna} = 3,30\%$); *babușca* ($D_{pv.} = 10,86\%$, $D_{vara} = 11,33\%$, $D_{toamna} = 1,41\%$; $C_{pv.} = 50,0\%$, $C_{vara} = 50,0\%$, $C_{toamna} = 30,0\%$; $W_{pv.} = 5,43\%$, $W_{vara} = 5,67\%$, $W_{toamna} = 0,42\%$); *undreaua* ($D_{pv.} = 9,14\%$, $D_{vara} = 17,73\%$, $D_{toamna} = 4,43\%$; $C_{pv.} = 40,0\%$, $C_{vara} = 70,0\%$, $C_{toamna} = 40,0\%$; $W_{pv.} = 3,66\%$, $W_{vara} = 12,41\%$, $W_{toamna} = 1,77\%$); *bibanul* ($D_{pv.} = 8,57\%$, $D_{vara} = 5,42\%$, $D_{toamna} = 5,23\%$; $C_{pv.} = 40,0\%$, $C_{vara} = 30,0\%$, $C_{toamna} = 60,0\%$; $W_{pv.} = 3,43\%$, $W_{vara} = 1,63\%$, $W_{toamna} = 3,14\%$) și *ciobănașul* ($D_{pv.} = 8,0\%$, $D_{vara} = 4,43\%$; $C_{pv.} = 40,0\%$, $C_{vara} = 40,0\%$; $W_{pv.} = 3,20\%$, $W_{vara} = 1,77\%$). Apariția și extinderea pâlcurilor de macrofite subacvatice în perioada estivală a condus la majorarea semnificativă a ponderii *carasului argintiu* ($D_{pv.} = 1,71\%$, $D_{vara} = 7,88\%$, $D_{toamna} = 1,01\%$; $C_{pv.} = 20,0\%$, $C_{vara} = 50,0\%$, $C_{toamna} = 20,0\%$; $W_{pv.} = 0,34\%$, $W_{vara} = 3,94\%$, $W_{toamna} = 0,20\%$). Printre speciile indigene economic valoroase putem menționa în capturi: *puietul de șalău* ($D_{pv.} = 13,14\%$, $D_{vara} = 1,48\%$; $C_{pv.} = 20,0\%$, $C_{vara} = 10,0\%$; $W_{pv.} = 2,63\%$, $W_{vara} = 0,15\%$) și *puietul de plătică*, care în toamna anului 2016 a demonstrat valori cantitative foarte ridicate ($D_{toamna} = 72,03\%$, $C_{toamna} = 30,00\%$, $W_{toamna} = 21,61\%$) și un spor reproductiv anual semnificativ. S-a constatat că în zona de litoral a lacului de acumulare Dubăsari grupările *puietului de plătică* formează o asociație strânsă cu cârdurile de *obleț*.

La analiza sezonieră comparativă a capturilor din zona barajului lacului de acumulare Dubăsari se observă cele mai mari diferențe ca rezultat al dimensiunilor hidrobiotopului ce oferă mai multe oportunități speciilor de pești în aspect spațial și temporal.

7. Pescuiturile științifice efectuate pe tronsonul Criuleni – Vadul lui Vodă denotă o majorare semnificativă a diversității specifice în comparație cu lacul de acumulare Dubăsari pe seama apariției în capturi a speciilor reofile de pești, ca: *mreana comună*, *porcușorul de nisip*, *porcușorul de râu*, *cleanul mic*, *cleanul european* (primăvara – 21 specii, vara – 24 specii, toamna – 20 specii de pești). Majorarea diversității taxonomice se datorează în mare parte particularităților hidrobiotopice, aici fiind semnalate numeroase habitate cu substrat nisipos și pietros, alternări de adâncimi și un grad înalt de împădurire a liniei de litoral. De asemenea, în această zonă apare o specie intervenientă neidentificată în amonte – *gingirica*, iar din grupa speciilor alogene în capturi apare *soretele*, crescând, în așa fel, riscul de pătrundere a acestor taxoni periculoși în l.a. Dubăsari.

Tipice pentru acest hidrobiotop devin *guvizii*, *boarța*, *oblețul*, *complexul zvârlugilor*, *undreaua* și *carasul argintiu*, care își păstrează în continuare statutul de specii reprezentative pe tot sectorul Nistrului inferior. Acest fapt demonstrează procesul activ de degradare a ihtiofaunei fl. Nistru, exprimat prin expansia speciilor euritope cu ciclul vital scurt și declinul celor indigene de talie medie și mare.

8. Cea mai mare diversitate ihtiofaunistică în fl. Nistru, limitele Republicii Moldova, se constată în punctul terminal de sud – s. Palanca (primăvara – 23 specii, vara – 27 specii și toamna – 23 specii de pești), ce reprezintă o adevărată zonă de ecoton și cuprinde reprezentanți piscicoli ai diverselor grupe ecologice (conform criteriului reproductiv – specii migratoare, semimigratoare, potamodrome și sedentare, după gradientul salin – specii mixohaline, eurihaline și dulcicole, după origine – specii alogene, interveniente și indigene). Din grupa speciilor interveniente de pești, pe lângă speciile reprezentative ca *guvizii* și *undreaua*, în perioada de primăvară menționăm majorarea bruscă a valorilor indicilor ecologici pentru *gingirică* ($D_{pv.} = 11,46\%$, $C_{pv.} = 20,0\%$, $W_{pv.} = 2,29\%$), *aterina mică pontică* ($D_{pv.} = 11,62\%$, $C_{pv.} = 40,0\%$, $W_{pv.} = 5,55\%$) și *ghidrin* ($D_{pv.} = 5,5\%$, $C_{pv.} = 20,0\%$, $W_{pv.} = 1,1\%$), iar toamna se păstrează valorile cantitative înalte pentru *aterina mică pontică* ($D_{toamna} = 40,43\%$, $C_{toamna} = 80,0\%$, $W_{toamna} = 32,34\%$), *undreaua* ($D_{toamna} = 5,26\%$, $C_{toamna} = 80,0\%$, $W_{toamna} = 4,21\%$), *moaca de brădiș* ($D_{toamna} = 3,59\%$, $C_{toamna} = 40,0\%$, $W_{toamna} = 1,44\%$) și *mocănaș* ($D_{toamna} = 2,39\%$, $C_{toamna} = 40,0\%$). Din grupa speciilor alogene de pești devin destul de abundente și frecvente în capturi *carasul argintiu* ($D_{vara} = 13,85\%$, $C_{vara} = 70,0\%$, $W_{vara} = 9,70\%$; $D_{toamna} = 6,67\%$, $C_{toamna} = 50,00\%$, $W_{toamna} = 3,33\%$), *soretele* ($D_{vara} = 2,03\%$, $C_{vara} = 30,0\%$, $W_{vara} = 0,61\%$) și *murgoiul bălțat* ($D_{vara} = 1,69\%$, $C_{vara} = 30,0\%$, $W_{vara} = 0,51\%$), iar din grupa speciilor indigene de pești: *oblețul*, *boarța*, *complexul zvârlugilor*, *babușca*, *bibanul* și *batca*. Este îmbucurător faptul că în vara anului 2016 se constată majorarea semnificativă a ponderii în capturi a puietului speciilor indigene ihtiiofage, ca *știuca* ($D_{vara} = 7,09\%$, $C_{vara} = 50,0\%$, $W_{vara} = 3,55\%$), *avatul* ($D_{vara} = 6,42\%$, $C_{vara} = 40,0\%$, $W_{vara} = 2,57\%$) și *plătica* ($D_{toamna} = 3,81\%$, $C_{toamna} = 40,00\%$, $W_{toamna} = 1,52\%$).

Analizând indicele de similitudine ecologică (Sörens) a capturilor piscicole din fl. Nistru în primăvara anului 2016 cu ajutorul năvodului pentru puiet, putem constata că cel mai mare grad de asemnare a comunităților piscicole se atestă între stațiunile: Soroca-Camenca – 83% (15 specii comune), Goieni-Dubăsari – 81% (13 specii comune) și Soroca-Criuleni – 80% (16 specii comune). Cea mai mică valoare a similitudinii – 10,0% se constată între stațiunea hipotermoficată Naslavcea și cea intens limnificată a barajului Dubăsari (1 specie comună) (Tab.1).

Tabelul 1

Valorile indicelui de similitudine ecologică (Sörens) și dendrograma afinității comunităților piscicole din fluviul Nistru, primăvara 2016 (limitele Republicii Moldova)

| | Naslavcea | Otaci | Soroca | Camenca | Goieni | Dubăsari (baraj) | Criuleni-Vadul lui Vodă | Varnița | Sucleia | Palanca |
|-------------------------|-----------|-------|--------|---------|--------|------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| Naslavcea | | 0,46 | 0,25 | 0,27 | 0,18 | 0,10 | 0,23 | 0,27 | 0,09 | 0,14 |
| Otaci | | | 0,59 | 0,64 | 0,48 | 0,43 | 0,48 | 0,40 | 0,40 | 0,40 |
| Soroca | | | | 0,83 | 0,77 | 0,70 | 0,80 | 0,77 | 0,77 | 0,73 |
| Camenca | | | | | 0,76 | 0,68 | 0,73 | 0,70 | 0,63 | 0,76 |
| Goieni | | | | | | 0,81 | 0,73 | 0,76 | 0,76 | 0,77 |
| Dubăsari | | | | | | | 0,72 | 0,75 | 0,72 | 0,75 |
| Criuleni-Vadul lui Vodă | | | | | | | | 0,84 | 0,73 | 0,69 |
| Varnița | | | | | | | | | 0,82 | 0,66 |
| Sucleia | | | | | | | | | | 0,82 |
| Palanca | | | | | | | | | | |

Analizând indicele de similitudine ecologică (Sörens) a capturilor piscicole din fl. Nistru în vara anului 2016 cu ajutorul volocului pentru puiet, putem constata un tablou asemănător, cu unele diferențe nesemnificative. Cea mai mare valoare se constată între stațiunile Soroca-Camenca (88%), iar cea mai mică între stațiunile Naslavcea-Sucleia (17,0%) și Naslavcea-Palanca (18,0%) (Tab.2).

Tabelul 2

Valorile indicelui de similitudine ecologică (Sörens) și dendrograma afinității comunităților piscicole din fluviul Nistru, vara 2016 (limitele Republicii Moldova)

| | Naslavcea | Otaci | Soroca | Camenca | Goieni | Dubăsari (baraj) | Criuleni-Vadul lui Vodă | Varnița | Sucleia | Palanca |
|-------------------------|-----------|-------|--------|---------|--------|------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| Naslavcea | | 0,55 | 0,35 | 0,37 | 0,20 | 0,22 | 0,20 | 0,28 | 0,17 | 0,18 |
| Otaci | | | 0,64 | 0,60 | 0,53 | 0,50 | 0,50 | 0,59 | 0,48 | 0,41 |
| Soroca | | | | 0,88 | 0,70 | 0,64 | 0,73 | 0,75 | 0,66 | 0,69 |
| Camenca | | | | | 0,74 | 0,60 | 0,75 | 0,77 | 0,68 | 0,79 |
| Goieni | | | | | | 0,69 | 0,63 | 0,82 | 0,77 | 0,68 |
| Dubăsari | | | | | | | 0,61 | 0,66 | 0,68 | 0,61 |
| Criuleni-Vadul lui Vodă | | | | | | | | 0,71 | 0,73 | 0,66 |
| Varnița | | | | | | | | | 0,81 | 0,61 |
| Sucleia | | | | | | | | | | 0,72 |
| Palanca | | | | | | | | | | |

Investigațiile din toamna anului 2016 în fl. Nistru au pus în evidență cel mai mare grad de asemnare a comunităților piscicole între stațiunile Vadul lui Vodă și Sucleia (88%, 16 specii comune), urmată de stațiunile Soroca-Camenca (87%, 17 specii comune), și Vadul lui Vodă-Varnița (86%, 16 specii comune), iar cel mai mic grad de asemnare între stațiunile Naslavcea-Dubăsari (34,0%, 4 specii comune), Naslavcea-Palanca (36,0%, 6 specii comune) și Naslavcea-Goieni (36,0%, 4 specii comune) (Tab.3).

Tabelul 3

Valorile indicelui de similitudine ecologică (Sörens) și dendrograma afinității comunităților piscicole din fluviul Nistru, toamna 2016 (limitele Republicii Moldova)

| | Naslavcea | Otaci | Soroca | Camenca | Goieni | Dubăsari (bara) | Criuleni-Vadul lui Vodă | Varnița | Sucleia | Palanca |
|-------------------------|-----------|-------|--------|---------|--------|-----------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| Naslavcea | | 0,72 | 0,48 | 0,50 | 0,36 | 0,34 | 0,48 | 0,53 | 0,48 | 0,36 |
| Otaci | | | 0,72 | 0,68 | 0,53 | 0,59 | 0,60 | 0,60 | 0,62 | 0,55 |
| Soroca | | | | 0,87 | 0,60 | 0,64 | 0,75 | 0,81 | 0,66 | 0,74 |
| Camenca | | | | | 0,68 | 0,78 | 0,82 | 0,77 | 0,80 | 0,80 |
| Goieni | | | | | | 0,81 | 0,72 | 0,80 | 0,75 | 0,72 |
| Dubăsari | | | | | | | 0,76 | 0,70 | 0,80 | 0,70 |
| Criuleni-Vadul lui Vodă | | | | | | | | 0,86 | 0,88 | 0,74 |
| Varnița | | | | | | | | | 0,78 | 0,70 |
| Sucleia | | | | | | | | | | 0,71 |
| Palanca | | | | | | | | | | |

Investigațiile efectuate în bazinul râului Prut pe parcursul anilor 2010-2016 au scos în evidență o diversitate ihtiifaunistică de 56 specii de pești atribuite la 8 ordine și 11 familii: *Ord. Petromyzontiformes, fam. Petromyzontidae (1 specie)*; *Ord. Acipenseriformes, fam. Acipenseridae (1 specie)*; *Ord. Clupeiformes, fam. Clupeidae (1 specie)*; *Ord. Esociformes, fam. Esocidae (1 specie)*; *Ord. Cypriniformes, fam. Cyprinidae (27 specii), fam. Nemacheilidae (1 specie), fam. Cobitidae (5 specii)*; *Ord. Siluriformes, fam. Siluridae (1 specie)*; *Ord. Gadiformes, fam. Lotidae (1 specie)*; *Ord. Gasterosteiformes, fam. Gasterosteidae (2 specii)*; *Ord. Sygnathiformes, fam. Sygnathidae (1 specie)*; *Ord. Perciformes, fam. Percidae (6 specii), fam. Gobiidae (5 specii), fam. Centrarchidae (1 specie), fam. Odontobutidae (1 specie)* [7] (Fig.3).

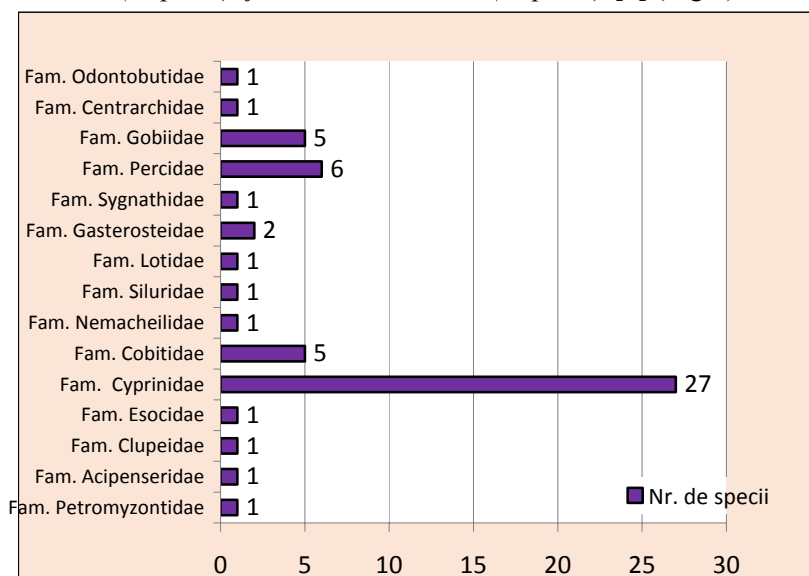


Fig.3. Componența ihtiifaunei r. Prut (limitele teritoriale ale Republicii Moldova) în anii 2010-2016.

Investigațiile ihtiifaunistice efectuate cu ajutorul volocului pentru puiet în anul 2016 au scos în evidență următoarele particularități ihtiifaunistice:

1. În regiunea de confluență cu fl. Dunărea ihtiifauna este cea mai bogată grație zonei de ecoton (primăvara – 25 specii, vara – 27 specii, toamna – 31 specii), formându-se suprafețe comune de contact între albie, lunca inundabilă și fl. Dunărea (Fig.4).

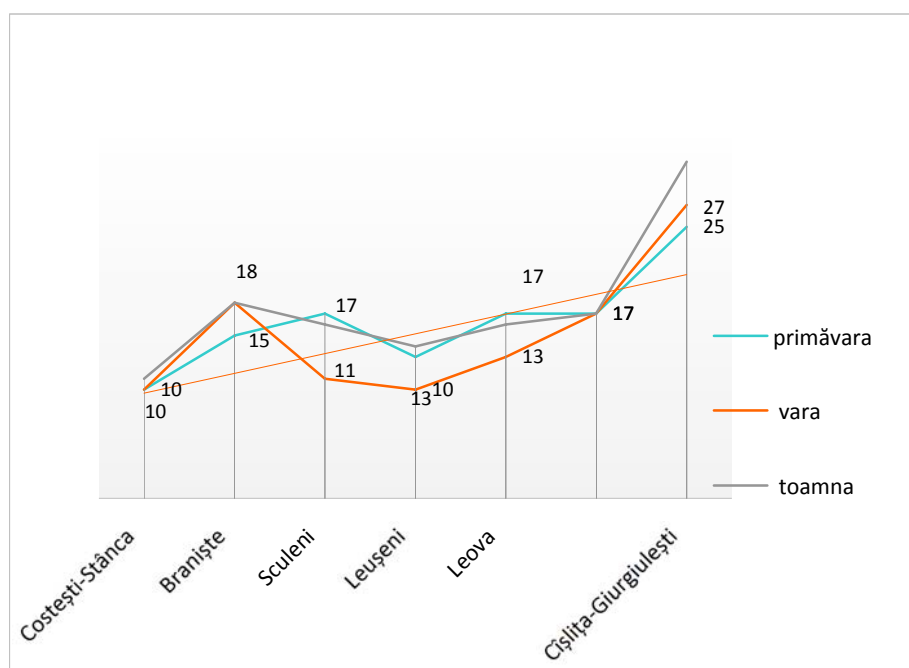


Fig.4. Modificarea valorilor diversității specifice din r. Prut în diverse stațiuni de cercetare și în aspect sezonier.

De menționat că în această zonă se constată și cea mai mare diversitate, cu o pondere semnificativă în capturi a speciilor invazive și interveniente de pești, ca: *carasul argintiu*, *soretele*, *murgoiul bălțat*, *ciobănașul*, *mocănașul*, *moaca de brădiș*, *guvidul de baltă*, *umflătura golașă pontică* și *undreaua*.

Acest tablou ihtiofaunistic în mare parte este determinat de influența majoră a fl. Dunărea asupra ecosistemului Prutului inferior, ca sursă de import și de expansie al noilor taxoni alogeni, precum și de prezența în această zonă a numeroaselor crescătorii piscicole, canale, bălți și lacuri naturale, care în perioada viiturilor mari fac schimb reciproc activ de reprezentanți piscicoli (*crap*, *sorete*, *caras argintiu*, *murgoi bălțat*, *osar*, *știucă* ș.a.).

Pintre speciile indigene de pești, taxoni comuni devin: *oblețul*, *puietul de avat*, *batca*, *boarța*, *babușca*, *plătica*. În perioada de primăvară, în sezonul reproductiv, crește elocvent abundența *ghiborțului comun* și a *celui de Dunăre*. Dintre speciile cu divers statut de raritate în această zonă se capturează *văduvița* și *sabița*, care practic au dispărut în alte ecosisteme acvatice ale Republicii Moldova.

În vara anului 2016 în zona de confluență cu fl. Dunărea *bibanul* a demonstrat o pondere semnificativă în capturi ($D_{\text{vara}} = 7,64\%$; $C_{\text{vara}} = 50,0\%$; $W_{\text{vara}} = 3,81\%$,). Acest fapt contribuie la descifrarea fenomenului de pătrundere spontană a acestui taxon necaracteristic albiei Prutului inferior în zonele inundate din timpul viiturilor mari, care în scurt timp devin foarte abundente în această specie (spre exemplu: crescătoriile piscicole de lângă or. Cahul, zonele inundate de lângă s. Gotești și s. Stoianovca afectate de inundații majore din vara anilor 2008, 2010) [7].

La sfârșitul lunii iulie 2016 au fost capturate 2 exemplare de *puiet de sânger* cu greutatea medie de 0,3 g, ceea ce nu exclude proveniența acestor progenituri din fl. Dunărea, unde specia deja s-a naturalizat cu succes, iar toamna, la sfârșit de octombrie, au fost deja capturate 5 exemplare de puiet de sânger cu greutatea ce varia între 3,53 și 5,70 g.

Dintre speciile cu divers statut de raritate în această zonă sistematic se capturează *văduvița* și *sabița* (în plase), care practic au dispărut în alte ecosisteme acvatice ale Republicii Moldova. Începând cu luna august în capturi sistematic apare puietul de *umflătură golașă pontică*, care în primăvara anului viitor deja atinge dimensiunile necesare pentru înmulțire, iar după sezonul reproductiv pierie în masă (ciclul vital durează 1 an) [19].

2. În stațiunea s. Braniște, situată nemijlocit în aval de lacul Costești-Stânca diversitatea specifică (primăvara – 15 specii, vara – 18 specii, toamna – 18 specii) este de asemenea determinată de prezența din

abundență a speciilor euritope de pești, ca: carasul argintiu – *Carassius auratus s. lato*, murgoiul bălțat – *Pseudorasbora parva* (Temminck et Schlegel, 1842), bibanul – *Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758), babușca – *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758), știuca – *Esox lucius* (Linnaeus, 1758), roșioara – *Scardinius erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), provenite din lacul de acumulare, rezervoarele de apă situate nemijlocit sub baraj și crescătoriile piscicole adiacente. În același timp, trebuie de menționat că acest hidrobiotop tipic reofil, cu apă curată și transparentă, substrat nisipos și maluri intens umbrite de copaci, formează habitate favorabile pentru speciile reofile de pești ca *cleanul*, *mreana comună*, *scobarul*, *porcușorul de nisip*, *avatul* ș.a.

Cu răcirea apei se constată majorarea semnificativă a valorilor cantitative pentru speciile reofile de pești ca *clean*, *scobar*, *mreană*, *morunaș* ș.a. în majoritatea stațiilor de colectare din r. Prut. Din speciile native euritope domină *boarța*, iar din cele interveniente crește accentuat ponderea la moca de brădiș (*Proterorhinus semilunaris*).

3. În stațiunea Cahul se constată un tablou asemănător cu stațiunea Braniște, unde ihtiofauna tipic reofilă este activ completată de specii ubicviste de pești, ca: *murgoiul bălțat*, *carasul argintiu*, *babușca*, *bibanul* și cele de cultură (*rasele de crap*) provenite din numeroasele ecosisteme limitrofe de apă stagnantă din apropiere (heleșteiele abandonate de lângă or. Cahul, bălțile Manta, crescătoriile piscicole de partea română, canale de drenaj inundate ș.a.).

4. Din grupa guvizilor care populează r. Prut cel mai numeros și frecvent în majoritatea punctelor de colectare din albia r. Prut este ciobănașul – *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814), devenind specie eudominantă (D5) și caracteristică (W4-W5). Sunt alarmante valorile în continuă creștere ale indicilor ecologici pentru specia intervenientă moaca de brădiș – *Proterorhinus semilunaris* (Heckel, 1837) în aval de barajul Costești-Stânca (s. Braniște), devenind în perioada de primăvară un taxon reprezentativ în capturi – D4 ($D_{prv.} = 8,48\%$, $W_{prv.} = 3,39\%$; $D_{toamna} = 5,91\%$, $W_{toamna} = 2,95\%$). De asemenea, trebuie menționată apariția și expansia activă în sectorul Prutului inferior a umflăturii golașe pontice – *Bentophilus nudus* (Berg, 1898) (stația Giurgiulești: $D_{toamna} = 5,15\%$, $W_{toamna} = 2,06\%$), identificată pentru prima dată în primăvara anului 2015 [19], și majorarea semnificativă de efectiv a speciei preponderent ihtiofage *Neogobius kessleri* (Gunther, 1861) în stațiunea terminală Chișlița-Giurgiulești.

5. Printre speciile alogene de pești semnalate în r. Prut în anul 2016 cele mai abundente în capturi sunt: *Carassius auratus s. lato* și *Pseudorasbora parva* (Temminck et Schlegel, 1842), iar în sectorul terminal de Sud – *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758). Gradul de afinitate crește semnificativ în zonele cu apă liniștită bogată în vegetație acvatică, maluri cu numeroase golfulețe și canale aferente albiei.

6. Din speciile indigene de pești capturate în ecosistemul Prutului inferior în anul 2016 cele mai reprezentative sunt *oblețul* și *boarța* (eudominante în majoritatea habitatelor), iar din cele de talie medie putem menționa *platica*, *puietul de clean*, *avatul*, *babușca*, *batca*, *scobarul* și *ocheana*. Dintre taxonii cu divers statut de raritate capturate în ecosistemul r. Prut în anul 2016 sunt de menționat: *râmbița*, *pietrarul*, *văduvița*, *mreana comună*, *morunașul*, *scobarul*, *ghiborțul de Dunăre* ș.a., fiind prezente habitatele caracteristice speciei și în anumite perioade ale ciclului vital.

7. În regiunea barajului lacului de acumulare Costești-Stânca pescuiturile de control în anul 2016 au pus în evidență o diversitate ihtiofaunistică constituită din 11 specii de pești, dintre care speciile eudominante (D5) și caracteristice (W4-W5) sunt: *bibanul* ($D_{anual} = 23,70\%$; $W_{anual} = 14,84\%$), *oblețul* ($D_{anual} = 22,33\%$; $W_{anual} = 9,43\%$), *babușca* ($D_{anual} = 17,85\%$; $W_{anual} = 10,07\%$) și *ghiborțul comun* ($D_{anual} = 12,82\%$; $W_{anual} = 6,15\%$). Printre speciile indigene de pești de importanță economică și ecologică majoră, care au demonstrat efective satisfăcătoare în capturile din vara anului 2016, putem menționa: puietul de *avat* ($D_{anual} = 3,48\%$; $W_{anual} = 1,03\%$), *platică* ($D_{anual} = 1,17\%$; $W_{anual} = 0,77\%$) și *șalău* ($D_{anual} = 3,34\%$; $W_{anual} = 1,15\%$). Din speciile interveniente de pești cel mai abundent și frecvent reprezentant devine *ciobănașul* ($D_{anual} = 7,45\%$; $W_{anual} = 2,66\%$), iar din cele alogene *carasul argintiu* ($D_{anual} = 3,23\%$; $W_{anual} = 1,46\%$).

Investigațiile din primăvara anului 2016 indică că, conform indicelui de similitudine ecologică (Sørensen), cel mai mare grad de asemănare se constată între comunitățile piscicole Sculeni și Leușeni (86%), fiind în mare parte datorat caracteristicilor hidrobiotopice asemănătoare, iar cea mai mică valoare se constată între stațiunile s. Braniște și s. Giurgiulești (50%) (Tab.4).

Tabelul 4

Valorile indicelui de similitudine ecologică (Sörensen) a comunităților piscicole din râul Prut, primăvara 2016 (limitele Republicii Moldova)

| | Costești (baraj) | Braniște | Sculeni | Leușeni | Leova | Cahul | Câșlița-Giurgiulești |
|----------------------|------------------|----------|---------|---------|-------|-------|----------------------|
| Costești | | 0,56 | 0,51 | 0,60 | 0,51 | 0,74 | 0,72 |
| Braniște | | | 0,62 | 0,64 | 0,56 | 0,62 | 0,50 |
| Sculeni | | | | 0,86 | 0,82 | 0,70 | 0,57 |
| Leușeni | | | | | 0,80 | 0,66 | 0,52 |
| Leova | | | | | | 0,64 | 0,57 |
| Cahul | | | | | | | 0,76 |
| Câșlița-Giurgiulești | | | | | | | |

Analizând indicele de similitudine ecologică (Sörensen) a capturilor piscicole din r. Prut în vara anului 2016 cu ajutorul volocului pentru puiet, putem constata că cel mai mare grad de asemnănare a comunităților piscicole se atestă între stațiunile: Sculeni-Leova (83%), Leușeni-Leova (78,0%) și Cahul-Giurgiulești (77%), iar cea mai mică valoare a similitudinii se constată între stațiunile Leușeni și Giurgiulești (43%) și Costești-Giurgiulești (54%) (Tab.5).

Tabelul 5

Valorile indicelui de similitudine ecologică (Sörensen) a comunităților piscicole din râul Prut, vara 2016 (limitele Republicii Moldova)

| | Costești (baraj) | Braniște | Sculeni | Leușeni | Leova | Cahul | Câșlița-Giurgiulești |
|----------------------|------------------|----------|---------|---------|-------|-------|----------------------|
| Costești | | 0,57 | 0,57 | 0,60 | 0,60 | 0,74 | 0,54 |
| Braniște | | | 0,68 | 0,64 | 0,77 | 0,68 | 0,62 |
| Sculeni | | | | 0,76 | 0,83 | 0,71 | 0,52 |
| Leușeni | | | | | 0,78 | 0,59 | 0,43 |
| Leova | | | | | | 0,66 | 0,50 |
| Cahul | | | | | | | 0,77 |
| Câșlița-Giurgiulești | | | | | | | |

Investigațiile din toamna anului 2016 în r. Prut au pus în evidență cel mai mare grad de asemnănare a comunităților piscicole între stațiunile: Sculeni-Leova (93%, 15 sp. comune) și Sculeni-Leușeni (86,0%, 15 sp. comune), iar cea mai mică valoare a similitudinii se constată între stațiunile Costești și Giurgiulești (42%, 9 sp. comune) (Tab.6).

Tabelul 6

Valorile indicelui de similitudine ecologică (Sörensen) a comunităților piscicole din râul Prut, toamna 2016 (limitele Republicii Moldova)

| | Costești (baraj) | Braniște | Sculeni | Leușeni | Leova | Cahul | Câșlița-Giurgiulești |
|----------------------|------------------|----------|---------|---------|-------|-------|----------------------|
| Costești | | 0,55 | 0,59 | 0,56 | 0,59 | 0,57 | 0,42 |
| Braniște | | | 0,76 | 0,75 | 0,70 | 0,71 | 0,73 |
| Sculeni | | | | 0,86 | 0,93 | 0,78 | 0,68 |
| Leușeni | | | | | 0,86 | 0,83 | 0,62 |
| Leova | | | | | | 0,84 | 0,68 |
| Cahul | | | | | | | 0,70 |
| Câșlița-Giurgiulești | | | | | | | |

În concluzie se poate de menționat că diversitatea ihtiiofaunei Prutului inferior în aspect calitativ și cantitativ demonstrează o dependență vădită față de particularitățile hidrobiotopice și, implicit, față de gradul de conservare a habitatelor speciilor indigene reofile de pești.

La analiza valorilor indicilor ecologici sintetici din fl. Nistru constatăm (Fig. 5):

1. Valoarea indicelui de diversitate Shannon (H_s) crește din direcția amonte → aval pe albie.
2. Dinamica valorii echitabilității (e) se comportă asemănător indicelui diversității H_s , cea mai inechitabilă distribuție a speciilor în capturi fiind constatată în stațiunile Naslavcea, Goieni, Dubăsari (baraj).
3. Valorile mari ale indicelui Simpson (I_s) confirmă starea de dominare maximă a unor specii cu efect invaziv în comunitățile piscicole de lângă stațiunile Naslavcea, Otaci.

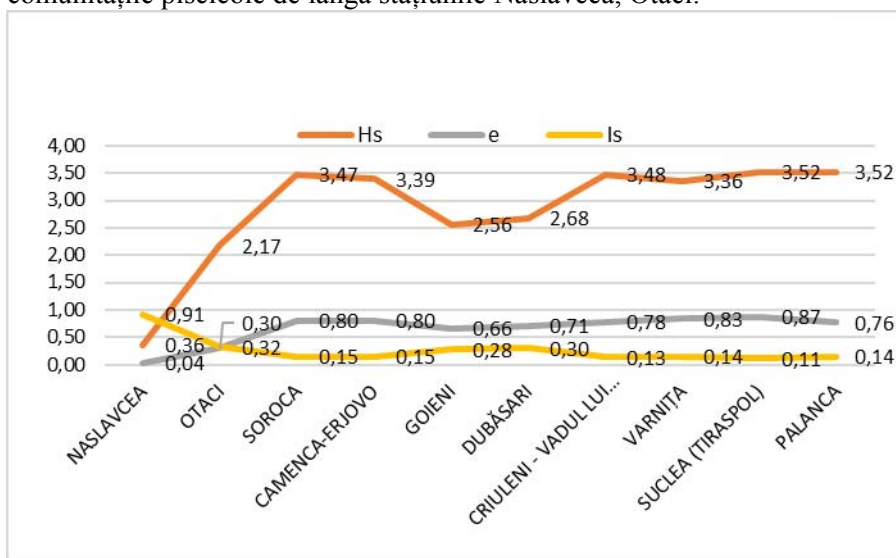


Fig.5. Valorile indicilor ecologici sintetici în capturile cu volocul (fl. Nistru, anul 2016).

Cea mai mică valoare a indicelui de diversitate Shannon (H_s) în toate anotimpurile se atestă în stațiunea de lângă s. Naslavcea, unde diversitatea ihtiiofaunistică este reprezentată de unica specie superdominantă, cum este *ghidrinul*. În aceste condiții, nu putem vorbi despre o distribuție echitabilă a speciilor de pești în capturi (valoarea lui e fiind foarte joasă); în schimb, constatăm un grad înalt de dominare a taxonilor cu potențial invaziv major (indicele de dominare Simpson (I_s) fiind foarte mare). Valori mari se constată și în lacul de acumulare Dubăsari (stațiunile Goieni și lângă baraj), însă, în acest caz, micșorarea diversității și echitabilității de distribuție (H_s , e) este condiționată de particularitățile hidrobiotopice ale ecosistemului, ce crează conjuncturi avantajoase, în special pentru unii taxoni oportuniști euritopi, eurioxibionți și înalt competitivi ca; *babușca*, *bibanul*, *oblețul*, *undreaua*, *boarța* ș.a., atingând efective deosebit de înalte pe fonul bazei trofice bogate (caracteristice lacurilor) și degradării nivelului trofic al ihtiiofagului (ca rezultat a supraexploatării piscicole).

La analiza valorilor indicilor ecologici sintetici în stațiunile Braniște, Cahul, Chișlița-Giurgiulești observăm o diversitate ihtiiofaunistică relativ mare (indicele H_s crește), dar care este menținută în mod „artificial” și constant din conținutul speciilor de pești din diverse gilde ecologice și de diverse origini, provenite din crescătoriile piscicole din apropiere, canale și brațe adiacente (*știuca*, *carasul argintiu*, *crapul*, *soretele*, *bibanul*, *murgoiul bălțat*, *osarul* ș.a.) și, nu în ultimul rând, din fluviul Dunărea (*umflătura golașă pontică*, *moșul de Amur*, *soretele*, *zvârluga de Dunăre* ș.a.), ce reprezintă izvor primordial de „îmbogățire” a ihtiiofaunei r. Prut (Fig.6).

La analiza valorilor cantitative ale comunităților piscicole s-a folosit metoda suprafețelor de probă. O triere a volocului pentru puiet cuprinde aproximativ 50 m², numărul trierilor într-un punct de colectare este de 10, coeficientul de capturabilitate a uneltei de pescuit s-a luat ca $K=0,3$. Pentru amortizarea selecției spațiale prin pescuit a zonei de litoral puternic accidentate, unde posibilitatea trierilor randomizate și acoperirea suprafeței recomandate de pescuit este puternic limitată, s-a introdus suplimentar coeficientul de amortizare a selecției spațiale prin pescuit $K=0,1$.

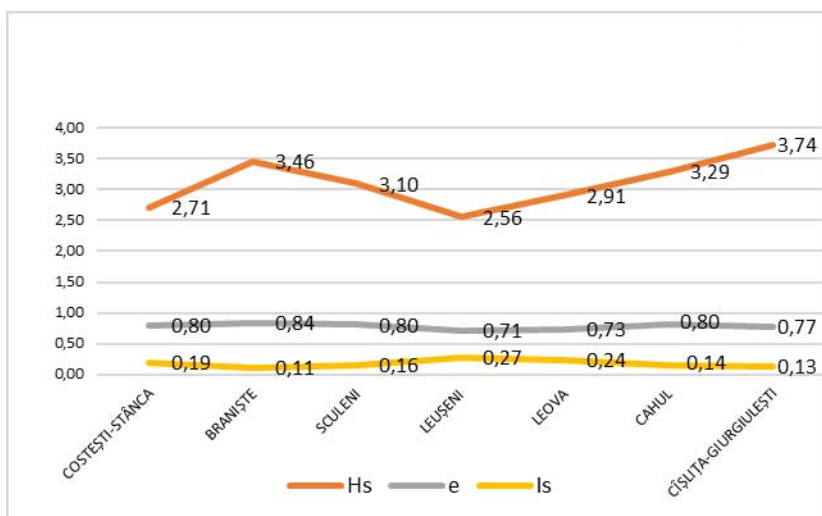


Fig.6. Valorile indicilor ecologici sintetici în capturile cu volocul pentru puiet (r. Prut, anul 2016).

De menționat că valorile cantitative obținute asupra comunităților piscicole din fl. Nistru și r. Prut sunt puternic influențate de următorii factori: relieful hidrobiotopului supus investigării (albia r. Prut fiind, în acest sens, mult mai dificil de investigat), transparența apei la momentul studiului (apa înal transparentă este nedorită în pescuiturile cu volocul), poziția diferită a stațiunilor față de direcția vântului (ce are impact direct asupra turbidității apei în zona de litoral), prezența sau absența vegetației acvatice submerse (reprezintă un stimul important de concentrare a puietului), perioada sezonieră și nictimerală în care s-a efectuat pescuitul, presiunea atmosferică, precipitațiile, stabilitatea timpului ș.a.

Accentuăm că valorile pescuiturilor efectuate în zona de litoral nu pot fi extrapolate la suprafața întregului ecosistem și nici nu se pretind a fi folosite ca date de intrare pentru evaluarea producției piscicole în ecosistemele de dimensiuni medii și mari, însă rezultatele capturilor cu ajutorul volocului pot servi ca indicatori importanți și utili la evaluarea potențialului reproductiv al speciei, populației și ihtiocoenozei în întregime, la identificarea structurii specifice complete (incluzând și speciile de talie mică selective pentru alte metode de pescuit autorizate), a gradului de invazie în cadrul comunităților piscicole și a altor indicatori funcționali importanți pentru caracteristica ihtiocoenozei. De aceea, este unanim recunoscut că și erorile relativ înalte, în cazul studiilor de evidență a stocurilor piscicole, pot fi acceptate la interpretarea rezultatelor [16-18].

În aspect comparativ observăm că valorile densității numerice și ale biomasei piscicole în perioada vegetativă sunt mai mari în fl. Nistru decât în r. Prut, iar factorul determinant devine caracteristica zonei de litoral (Fig.7).

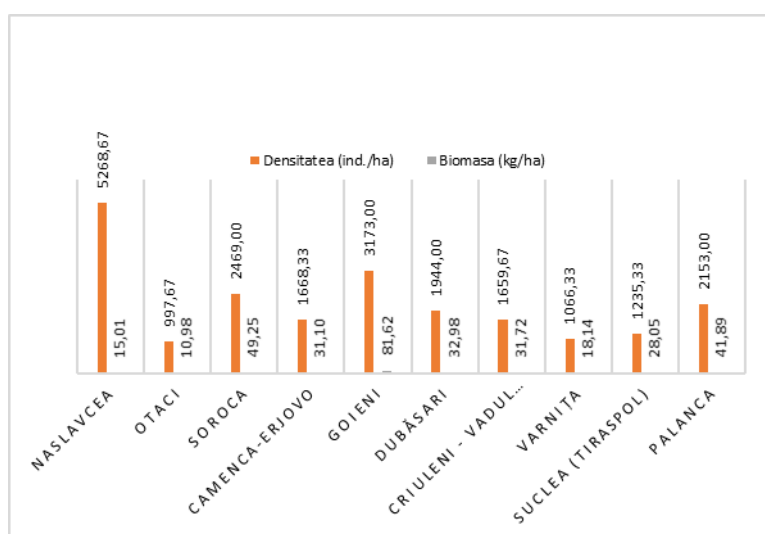


Fig.7. Modificarea valorilor cantitative a capturilor cu volocul pentru puiet (fl. Nistru, 2016).

În fluviul Nistru zona litorală este mult mai largă și mai bogată în vegetație acvatică și, respectiv, este mai favorabilă pentru nutriția, îngrășarea și refugiul puietului diverselor specii de pești, mai ales al taxonilor alogeni, intervenienți și nativi cu ciclul vital scurt (CVS) ce preferă hidrobiotopurile asemănătoare celor estuarice: cu regim termic favorabil, bază trofică bogată, intens colmatate și împânzite de vegetație acvatică submersă.

În unele stațiuni cu valoare joasă a diversității specifice se observă o corelație negativă cu valorile cantitative ale capturilor (spre exemplu, pe tronsonul Naslavcea-Otaci), iar în aceste hidrobiotopuri devin superdominante 1-2 specii oportuniste cu potențial invaziv major. Ca exemplu: *ghidrinul* în stațiunea Naslavcea în anul 2016 atinge o densitate numerică de 5268 ex/ha și o biomasă relativ mică de 15,01 kg/ha (din cauza dimensiunilor fiziologice individuale modeste).

Zonele de confluență din apropierea limanului Nistrean (s. Palanca, fl. Nistru) și fl. Dunărea (s. Giurgiulești, r. Prut), sunt atât bogate în aspect calitativ, cât și cantitativ, găzduind specii din diverse ghilde ecologice și caracteristice diferitor tipuri de ecosisteme acvatice. În anul 2016, în stațiunea Palanca densitatea numerică estimată este de 2153 ex/ha și biomasă de 41,89 kg/ha, iar în stațiunea Chișlița-Prut-Ghiurgiulești s-a constatat o densitate numerică medie de 1813 ex/ha și o biomasă de 42,96 kg/ha (Fig.8).

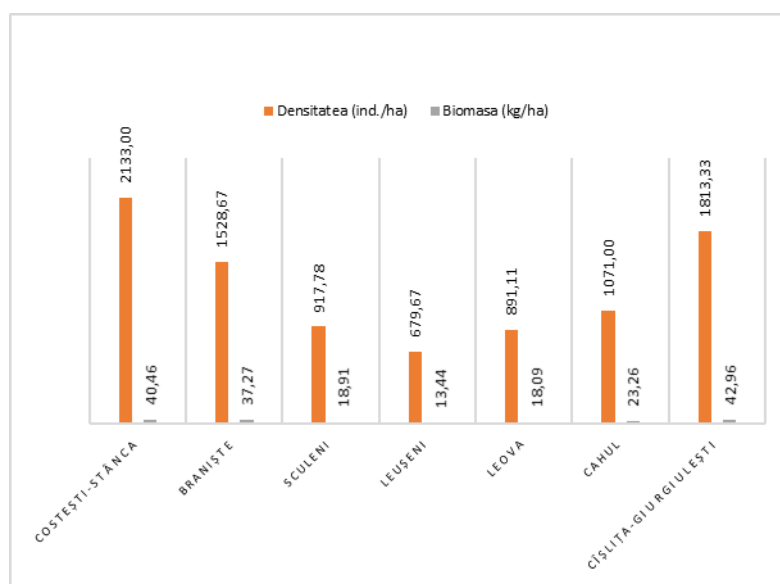


Fig.8. Modificarea valorilor cantitative a capturilor cu volocul pentru puiet (r. Prut, 2016).

Zonele de litoral a lacului de acumulare Dubăsari (stațiunea Goieni și lângă baraj), inclusiv Costești-Stânca de pe r. Prut sunt caracterizate de o diversitate specifică relativ modestă, însă, cu creșterea substanțială a biomasei și efectivelor speciilor euritope limno-reofile de pești (*babușca*, *bibanul*, *oblețul*, *carasul argintiu*, *undreaua* ș.a.) ca reacție de răspuns la baza trofică favorabilă și deficitul speciilor ihtiofage de talie mare din aceste ecosisteme lentiche.

În anul 2016, în stațiunea Goieni se constată o densitate numerică medie de 3173 ex/ha și o biomasă de 81,62 kg/ha, iar în zona barajului Dubăsari densitatea medie anuală este de 1944 ex/ha și biomasă de 32,98 kg/ha (deficitul vegetației acvatice lângă baraj este un factor important de diminuare a valorilor cantitative). În zona barajului Costești-Stânca densitatea medie este de 2133 ex/ha și biomasă de 40,46 kg/ha.

În urma studiilor multianuale efectuate asupra ihtiofaunei fl. Nistru și r. Prut (limitele teritoriale ale Republicii Moldova) a devenit posibilă elucidarea aspectelor comparative între aceste două mari macroecosisteme acvatice [7].

Deși bazinul Dunării (din care face parte râul Prut) și cel al Nistrului sunt separate prin bariera geografică, ihtiofauna lor are foarte multe puncte de tangență. Similitudinea mare a ihtiofaunei acestor două bazine hidrografice se datorează platformei continentale de mică adâncime între gurile Dunării și limanul Nistrului, care arată că în perioadele glaciare Nistrul a fost un afluent al Paleo-Dunării inferioare (Șerban, Bănărescu, 1985).

În pofida acestui fapt, caracteristicile hidrobiotopice deosebite între fl. Nistru și r. Prut și caracterul diferit al influenței antropice au scos în evidență unele particularități ihtiofaunistice comparative (limitele teritoriale ale Republicii Moldova):

1. După diversitatea și ponderea speciilor de pești cu divers statut de raritate (*morunașul, ocheana, sabița, văduvița, pietrarul, fusarul, beldița, mreana vânătă, mihalțul, râmbița* ș.a.) r. Prut întrece semnificativ fl. Nistru (și indică la un presing antropoc mai mare asupra ecosistemului fluvial).

2. Din speciile indigene de pești *complexul zvârlugilor* este mai bine reprezentat în ihtiofauna fl. Nistru decât în r. Prut (cu excepția *râmbiței – Sabajenewia balcanica*), iar *complexul ghiborților* (*ghiborțul comun, ghiborțul de Dunăre și hibrizii lor interspecifici*) este mai bine reprezentat în r. Prut (cu excepția *zborișului – Gymnocephalus acerina*).

3. Abundența mai mare a *ghiborțului comun* din lacul de acumulare Costești-Stânca și, inclusiv, a unor specii reofile de pești, ca: *mreana comună, morunașul, cleanul, scobarul, ocheana, porcușorii* ș.a., presupune o stare ecologică mai favorabilă în comparație cu acumularea Dubăsari (lacul Costești-Stânca fiind ecosistem antropizat de vârstă încă relativ „tânără”) [7]. De asemenea, producția piscicolă și valorile creșterilor individuale ale speciilor de pești din lacul de acumulare Costești-Stânca sunt mai favorabile față de lacul Dubăsari și indică la o bază trofică furajeră mai bogată și accesibilă [20].

4. Fragmentările multiple de albie ale fl. Nistru cu efect de limnificare, colmatare și eutrofizare activă au condus la extinderea substanțială a zonei de litoral, care, fiind asemănătoare celei deltaice, a facilitat și mai mult procesul de pontizare a ihtiofaunei. Valorile cantitative ale speciilor interveniente de pești (*sp. de guvizi, undreaua, ghidrinul, osarul, gingirica, aterina mică pontică* ș.a.) fiind mult mai mari decât în r. Prut.

Drept factor stimulator de pontizare activă a ihtiofaunei fl. Nistru servește și fenomenul supraexploatării piscicole cu efect selectiv. În condițiile stabilite are loc subminarea nivelului trofic al ihtiofagilor și al competitorilor indigeni mai buni de talie mare, ce servesc ca factori reflectori importanți în starea structural-funcțională a unei ihtiocenoze „sănătoase”.

5. Râul Prut se caracterizează în mare parte prin maluri abrupte sărace în vegetație acvatică, curgere mai rapidă a apei și transparență mai joasă, ceea ce devine un factor determinant de micșorare a producției primare [21], având un impact direct și asupra celei secundare. Din această cauză, producția piscicolă și ritmurile individuale de creștere la majoritatea speciilor de pești din albia râului Prut sunt mai mici ca în fl. Nistru [7].

Care sunt factorii ecologici negativi ce au provocat perturbări structurale și funcționale majore în ihtiocenozele fl. Nistru și r. Prut?

- **Fragmentarea hidrobiotopică și diverse obstacole în deplasarea peștilor** (baraje, garduri, dopuri de mâl ș.a.)

Efectele construcției lacurilor de acumulare Dubăsari (1953) și Novodnestrovsk (1980) pe fl. Nistru, a lacului Costești-Stânca (1979) pe r. Prut au provocat ruperea conectivității longitudinale și compromiterea migrațiilor piscicole, iar perturbarea regurilor hidrologice, termice, hidrochimice și hidrobiologice exercitat un impact negativ major asupra diversității taxonomice și asupra productivității piscicole din râuri.

Numai construcția barajului de la Novodnestrovsk pe fl. Nistru a provocat oscilații zilnice ale nivelului apei de până la 1,5 m, iar temperatura medie multianuală până la or. Dubăsari a scăzut cu 5-8°C (la mijlocul lunii iulie lângă s. Naslavcea temperatura apei rar întrece valoarea de 14°C) [4]. Ce va fi după construcția încă a 6 lacuri de acumulare (care se peconizează de partea ucraineană în amonte de barajul Novodnestrovsk) este greu de imaginat, dacă deja în prezent debitul apei scade adesea în jumătate față de valoarea recomandată.

- **Fenomenul braconajului, evidența eronată a capturilor industriale, importul și comercializarea liberă a plaselor din monofilament de origine chineză**

Având în vedere că valoarea mortalității naturale (M) se află în dependență indirectă de perioada de maturizare și durata ciclului vital, putem constata o stare deplorabilă la majoritatea populațiilor speciilor de talie mare în pofida potențialului trofic înalt al unor ecosisteme (cum ar fi, de exemplu, lacul Costești-Stânca) [7]. Din cauza pescuitului selectiv acerb are loc degradarea genetică continuă a speciilor de talie mare, iar indivizii rămași sunt lipsiți de șansa de a se reproduce măcar o dată. În lipsa competitorilor mai buni și în prezența deficitului ihtiofagilor se constată explozia de efectiv a speciilor de pești cu ciclul vital scurt de talie mică.

Tot mai des se practică pescuitul ilicit cu plasele cu dimensiunile mici ale laturii ochiului (20 mm–35 mm), iar unde este imposibil de instalat plase este frecvent folosit pescuitul electric și prin înțepare la gropi (mai ales în Prutul inferior).

Din anii '50 și până în prezent ponderea capturilor industriale s-a micșorat de zeci de ori, iar concurența pentru cotele industriale a crescut în sens invers proporțional [1,11]. Însă, este îmbucurător faptul că din anul 2016 pescuitul industrial în limitele Republicii Moldova a fost suspendat în fl. Nistru și în r. Prut (inclusiv în lacurile de baraj), dar această decizie salutară ar trebui luată de toate părțile limitrofe.

- **Poluarea antropogenă**

Principalele surse de pătrundere a ecotoxicanților în fl. Nistru și în r. Prut provin din activitățile menajere (detergenți, dezinfectanți ș.a.), din sectorul agroalimentar (pesticide, îngrășăminte minerale ș.a.), de producție (aplicarea ineficientă a metodelor de reciclare a deșeurilor), transport (scurgeri de carburanți, uleiuri uzate), sfera farmaceutică (antibiotice, preparate hormonale ș.a.). Dacă în a. 1990 în Republica Moldova funcționau 304 stații de epurare, atunci în prezent funcționează mai puțin de 50 de stații, iar activitatea multora dintre ele nu corespunde standardelor de calitate [9].

Efectul stresului chimic se exprimă la diferite niveluri de integrare și organizare a viului: molecular (mutații de ADN), celular (resorbția totală a ovocitelor în faza creșterii trofoplasmatică, acumularea de toxici în celule), tisular (depozitarea țesutului adipos, substituția altor țesuturi cu cel conjunctiv), organic (hipertrofia hepatică), organismic (aparitia în masă a efofenelor pitice), populațional și cenotic (degradarea structurii de vârstă și sex, creșterea ponderii hibridilor în populații, diverse epizootii, reducerea diversității specifice ș.a.) [22].

În structura ihtiocenotică stresul chimic se exprimă de obicei prin înlocuirea speciilor „mai competitive, dar mai sensibile” cu cele mai tolerante. O poluare acută cu efect letal conduce la dispariția totală a speciilor, indiferent de stadiul succesional al ecosistemului, iar ulterior are loc o instaurare „a speciilor de pionierat toxicorezistente” [7].

- **Poluarea biologică**

De la începutul sec. XX și până în prezent în ecosistemele acvatice naturale ale Republicii Moldova s-au semnalat peste 40 de specii alogene și interveniente de pești, dintre care 4 taxoni sunt considerați specii alogene naturalizate cu efect invaziv, 21 de specii – introducente și 12 specii interveniente (unele dintre ele având un potențial invaziv major) [7].

Din grupa celor mai periculoși intruși pătrunși pe diferite căi în apele noastre naturale (antropohor sau prin autoexpansie) pot fi menționați: *mugoiul bălțat*, *soretele*, *moșul de amur*, *carasul argintiu* și unele specii marine de litoral și limanice: *undreaua*, *ghidrinul*, *osarul*, *speciile de guvizi* ș.a., care pe fonul modificărilor rapide ale condițiilor ecologice în fl. Nistru (colmatare, mineralizare, termoficare, împânzire cu vegetație acvatică ș.a.) au avansat activ în amonte, provocând un proces activ de pontizare ihtiofaunistică.

Printre cele mai semnificative consecințe negative provocate de speciile invazive de pești asupra stării structural-funcționale a ihtiocenozelor autohtone se enumeră: sărăcirea bazei trofice naturale, prădătorismul activ (larve, puiet și icre), vectori parazitari, poluarea genetică prin hibridare, compromiterea accesului la boiști al speciilor native de pești ș.a.

- **Distrușterea zonelor umede (asanarea și colmatarea)**

Zonele inundabile și apele curgătoare sunt două sisteme interdependente, cu efecte benefice pentru ambele părți. Zonele inundabile asigură hrana, refugiul, locul de reproducere, creștere și dezvoltare a multor viețuitoare, iar apele curgătoare constituie pentru zonele inundabile sursă de elemente minerale și biogene, ceea ce duce la renașterea vegetală și animală.

Politica agrară direcționată în anii 50-70 ai secolului trecut spre majorarea terenurilor agricole a provocat secarea a peste 40 mii ha de bălți din lunca inundabilă a Nistrului și circa a 33 mii ha din lunca Prutului, ceea ce a condus la reducerea productivității biologice a bazinelor acvatice în întregime și la decimarea biodiversității.

- **Alte amenințări majore asupra ihtiofaunei fl. Nistru și r. Prut**

1. Tendința de încălzire globală și intensificarea hazardurilor naturale (ca secetele hidrologice prelungite și inundațiile catastrofale).

2. Distrușterea fâșiilor forestiere de protecție și degradarea habitatelor speciilor reofile (*pietrar*, *fusar*, *sp. de mreană*, *sturionii*, *porcușorii* ș.a.)

3. Distrușterea locurilor de reproducere a speciilor litofile și psamofile de pești prin extragerea de nisip și prundiș din albia fl. Nistru și r. Prut. Se consideră că în albia r. Prut pe segmentul s. Călinești - s. Giurgiulești se extrăgea anual $\approx 360-380$ mii m³ de nisip și prundiș, iar după unele estimări din anul 1950 și până în 1988 în albia Nistrului inferior au fost extrase 73,6 mil. m³ de nisip și pietriș, reducându-se cu 787,6 ha boiștile speciilor litofile și psamofile de pești [4].

4. Pomparea apei în exces. În perioada anilor 1980-1990 în fl. Nistru funcționau peste 122 de stații de pompare a apei, iar multe din ele funcționează și astăzi, având capacitatea totală de 159 m³/s. În r. Prut existau peste 35 de stațiuni fixe de pompare a apei cu o capacitate totală de pompare de 45,7 m³/s. Majoritatea din aceste stații de pompare se exploatează fără instalații speciale de protecție a peștelui [4].

Ca reacție de răspuns, ihtiiofauna fl. Nistru în prezent demonstrează modificări majore nu la nivelul numărului de specii (avem o diversitate relativ mare, ridicată în mod artificial), dar la nivel calitativ, funcțional și succesional (istoric).

În acest context, sunt înaintate o serie de recomandări de redresare și ameliorare a stării ihtiiofaunei din bazinul fl. Nistru și r. Prut, printre care amintim:

- a) Reconstrucția habitatelor speciilor de interes comunitar și extinderea ariilor protejate (amenajarea malurilor, stabilizarea fundului râului, extinderea zonelor umede ș.a.).
- b) Reducerea poluărilor și interzicerea totală a oricăror imixțiuni asupra integrității hidrobiotopice (fragmentarea albiilor, extragerea de nisip sau prundiș, construcția stațiilor de pompare a apei și a micilor hidrocentrale electrice, secarea terenurilor inundabile, extinderea terenurilor arabile în apropiere de linia malului ș.a.).
- c) Asigurarea condițiilor favorabile de reproducere în timpul perioadei de prohibiție (reglarea adecvată a nivelului apei, protecția antibraconaj, utilizarea cuiburilor artificiale în zonele cu deficit de boiști).
- d) Monitorizarea mai strictă a activității de pescuit și înăsprirea sancțiunilor contravenționale și penale. Interzicerea importului și comercializării libere a plaselor din monofilament.
- e) Reproducerea în captivitate și repopularea fl. Nistru și r. Prut cu specii indigene de pești de importanță istorică, comunitară, economică și meliorativ ecologică (*sturionii*, *mihalțul*, *somnul*, *vârezubul*, *linul*, *sabița*, *morunașul* ș.a.).
- f) Colaborarea mai eficientă la nivel interstatal și interinstituțional în domeniul științific și al protecției resurselor piscicole.

Concluzii

1. Cea mai bogată ihtiiofaună se constată în sectoarele de jos ale fl. Nistru și r. Prut, grație zonei de ecoton, însumând particularitățile de albie, luncă inundabilă, liman și mare. Cu cât ne deplasăm în amonte, constatăm majorarea ponderii speciilor reofile și criofile de pești, însă scade valoarea diversității specifice și a producției piscicole (gradientul termic devine factor limitativ).

2. În aspectul diversității și ponderii în capturi a speciilor de pești cu divers statut de raritate (*morunașul*, *ocheana*, *sabița*, *văduvița*, *pietrarul*, *fusarul*, *beldița*, *mreana vânăță*, *mihalțul*, *râmbița* ș.a.) r. Prut întrece semnificativ fl. Nistru, ceea ce denotă un presing antropic mai accentuat asupra ecosistemului fluvial.

3. În condițiile fragmentărilor hidrobiotopice multiple ale fl. Nistru și r. Prut (prin lucrări de barajare și regularizare a albiilor) și ale dezvoltării pescuitului ilicit cu efect selectiv major, au fost puternic afectate populațiile speciilor caracteristice zonelor umede, ale speciilor reofile lito-psamofile și ale celor migratoare, semimigratoare și potamodrome de talie medie și mare.

4. Extragerea activă prin pescuit a speciilor ihtiiofage și a competitorilor autohtoni puternici, în concurs cu alterarea ireversibilă a hidrobiotopurilor, a contribuit la progresia biologică a speciilor cu ciclul vital scurt de origine alogenă și intervenientă cu un potențial expansiv și invaziv major.

5. Ca rezultat, în condițiile tendințelor de încălzire globală, pescuitului selectiv exagerat, translocărilor incontrollabile de material piscicol, fragmentării, poluării și limnificării active a ecosistemelor fl. Nistru și r. Prut are loc procesul activ de pontizare a ihtiiofaunei și de avansare a speciilor alogene cu potențial invaziv major.

Referințe:

1. БЕРГ, Л. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. М.-Л. Изд-во АН СССР, 1948-1949. Ч.1.3. 1381 с.
2. ПОПА, Л. Рыбы бассейна р. Прут. Кишинев: Штиинца, 1976. 85 с.
3. ДОЛГИЙ, В. Ихтиофауна Днестра и Прута (современное состояние, генезис, экология и биологические основы рыбохозяйственного использования). Кишинев: Штиинца, 1993. 323 с.
4. USATÎI, A., USATÎI, M., ȘAPTEFRAȚI, N., DADU, A. *Resursele piscicole naturale ale Republicii Moldova*. Chișinău: Balacron, 2016. 124 p.

5. USATÎI, M. *Evoluția, conservarea și valorificarea durabilă a diversității ihtiiofaunei ecosistemelor acvatice ale Republicii Moldova*: Autoreferat al tezei de doctor habilitat în științe biologice, Chișinău, 2004. 48 p.
6. MOȘU, A., TROMBIȚKI, I. *Peștii Nistrului de Mijloc și de Jos. Ghid al păstrătorilor râului*. Chișinău, 2013. 138 p.
7. BULAT, D.M., BULAT, D.N., TODERAȘ, I., USATÎI, M., ZUBCOV, E., UNGUREANU, L. *Biodiversitatea, Bioinvazia și Bioindicația (în studiul faunei piscicole din Republica Moldova)*. Chișinău: Foxtrod, 2014. 430 p. ISBN: 978-9975-120-38-8
8. *Cartea Roșie a Republicii Moldova*. Ed. a III-a. Chișinău: Știința, 2015.
9. КОРОБОВ, Р., ТРОМБИЦКИЙ, И., СЫРОДОЕВ, Г., АНДРЕЕВ, А. *Уязвимость к изменению климата. Молдавская часть бассейна Днестра*. Кишинев: Elena Poligraf, 2014. 336 с.
10. ЗАЩУК, А. *Материалы для географии и статистики России, собранные офицерами Генерального штаба. Бессарабская область, часть первая*. СПб., 1862. 582 с. (Раздел «Рыбная ловля», с.314-321).
11. КИШЛЯРУК, В.М. Рыбный промысел как стратегия жизнеобеспечения древних поселений Нижнего Приднестровья. В: *Экология древних и традиционных обществ: сборник докладов конференции*, вып. 4. Тюмень, 2011, с.173- 176.
12. TUDOSE, T. *Tradiția, promoție a pescuitului gălățean*. Galați: Evrica Eurodips SRL, 2015. 573 p.
13. DAVIDEANU, Gr. *Ghid metodologic pentru monitorizarea structurii ihtiocenozelor*. Iași: Performantica, 2013. 57 p.
14. KOTTELAT, M., FREYHOFF, J. *Handbook of European Freshwater Fishes*. Switzerland: Delemont, 2007. 646 p.
15. NĂVODARU, I. *Estimarea stocurilor de pești și pescăriilor. Metode de evaluare și prognoză a resurselor pescărești*. București: Dobrogea, 2008, p.46-61.
16. ПРАВДИН, И. *Руководство по изучению рыб*. Москва, 1966. 400 с.
17. САЛЬНИКОВ, Л., САЛЬНИКОВ, А. *Теория динамики численности и проблема перелова*. Астрахань: Астраханский университет, 2012. 137 с.
18. НИКОЛЬСКИЙ, Г. *Теория динамики стада рыб как биологическая основа эксплуатации и воспроизводства рыбных ресурсов*. Москва: Пищевая промышленность, 1974. 447 с.
19. BULAT, Dm., BULAT, Dn., ZUBCOV, E., BILEȚCHI, L. First record of the species *Benthophilus nudus* (Berg, 1898) in the Prut River. In: *International Conference „Environmental Challenges in Lower Danube Euroregion”* 25-26 June, Galați, Romania, 2015, p.34.
20. BULAT, Dm., BULAT, Dn., DAVIDEANU, A., POPESCU, I.E., DAVIDEANU, Gr. *Romania – Republic of Moldova joint study concerning the fish fauna in Stânca-Costești reservoir // AACL Bioflux* 9(3), 2016, p.550-563.
21. UNGUREANU, L. *Diversitatea și particularitățile funcționării comunităților fitoplanctonice în ecosistemele acvatice ale Republicii Moldova*: Autoreferat al tezei de doctor habilitat în biologie. Chișinău, 2011. 64 p.
22. ФИЛЕНКО, О., МИХЕЕВА, И. *Основы водной токсикологии*. Москва: Колос, 2007, с.143.

Notă: Studiul a fost efectuat în cadrul Proiectului național de cercetări aplicative 15.817.02.27A: „Stabilirea structurii, funcționării, toleranței comunităților de hidrobionți și dezvoltarea principiilor științifice ale managementului bioproductivității ecosistemelor acvatice”.

Prezentat la 08.09.2016

CZU: 597(597) (28)

FAMILY TERAPONTIDAE IN GIANH ESTUARY AND GIANH DOWNSTREAM FROM VIETNAM

Ho Anh TUAN

Vinh University, Nghe An province, Vietnam

Analysis and identification of 42 specimens of family Terapontidae collected from Gianh estuary and Gianh downstream in Quang Binh province in north center region Vietnam. We have classified four species: *Terapon jarbua* (Forsskål, 1775); *Helotes sexlineatus* (Quoy & Gaimard, 1825); *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842); *Pelates quadrilineatus* (Bloch, 1790). Species *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842) was first discovered in Gianh estuary and Gianh downstream in Quang Binh province in north center region Vietnam.

Keywords: *Terapon jarbua*, *Helotes sexlineatus*, *Rhyncopelates oxyrhynchus*, *Pelates quadrilineatus*, *Terapontidae*, *Classification*, *Vietnam*, *Gianh river*, *Quang Binh*.

FAMILIA TERAPONTIDAE ÎN ESTUARUL GIANH ȘI ALBIA GIANH DIN VIETNAM

Au fost analizate și identificate 42 de exemplare ale familiei *Terapontidae* colectate din estuarul Gianh și din josul apei fluviului Gianh în provincia Quang Binh din regiunea centrală de nord a Vietnamului. Noi am clasificat 4 specii: *Terapon jarbua* (Forsskål, 1775); *Helotes sexlineatus* (Quoy & Gaimard, 1825); *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842) și *Pelates quadrilineatus* (Bloch, 1790). Speciile *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842) au fost descoperite pentru prima dată în estuarul Gianh și în josul apei fluviului Gianh în provincia Quang Binh din regiunea centrală de nord a Vietnamului.

Cuvinte-cheie: *Terapon jarbua*, *Helotes sexlineatus*, *Rhyncopelates oxyrhynchus*, *Pelates quadrilineatus*, *Terapontidae*, *clasificare*, *Vietnam*, *râul Gianh*, *Quang Binh*.

Introduction

Terapontidae is body of small to medium-sized perch-like fishes; body oblong to oblongovate, slightly to moderately compressed laterally. Mouth moderate, protractile, with gape often oblique, sometimes horizontal, jaws typically equal, sometimes upper jaw longer, the upper jaw not extending beyond centre of orbit, jaw teeth usually in villiform bands, with teeth of outer row distinctly larger than those in remainder of band, shape of jaw teeth conical, flattened, or tricuspidate; teeth also present on roof of mouth in juveniles of many species, lacking in adults of most species. Posterior and ventral margins of preopercle variably serrate, serrations more prominent in juveniles, usually more developed on vertical margin; first infraorbital with serrations along ventral margin, serrations less developed with age in some species: opercle with 2 spines posteriorly, the lower one larger and stronger, extending beyond margin of opercular lobe in some species. Posttemporal bone exposed and expanded posteriorly in some species with posterior margin serrate. Dorsal fin single, arched, with XI to XII spines and $8\frac{1}{2}$ to $9\frac{1}{2}$ soft rays, fourth to seventh dorsal-fin spines longest, those following decreasing in length to penultimate spine which is much shorter than ultimate spine in some species, this resulting in a notched spinous dorsal fin, anal fin with III variably strong spines and $7\frac{1}{2}$ to 9 soft rays, pelvic-fin base located behind vertical line through base of pectoral fins, caudal fin usually emarginate. Lateral line single and complete. Scales adherent, finely ctenoid. Colour: body tan or light grey, often silvery in life with various dark markings; most marine species with 3 or more dark, straight or downwardly curved longitudinal stripes on body, many marine species with dark transverse bands on lobes of caudal fin [7]. During the time to research on fish in the Gianh river basin in the North Central part of Vietnam. We have already collected 42 specimens of Terapontidae. This study we classify and analyse this specimens.

1. Methods

Fish specimens were collected mainly from fishing men from Gianh estuary and Gianh downstream in Quang Binh province in north center region Vietnam. Fishing tools are fishnets, rackets, casting – net, multi size fishing – rods and also professional tools of fish men such as: fishing basket, fishing traps, etc. Specimens were fixed either in 10% formaldehyde and later transferred into 4% formaldehyde for storage or fixed and stored in 90% ethanol. All measurements and counts follow Walter J. Rainboth (1996) see Figure 1 [4].

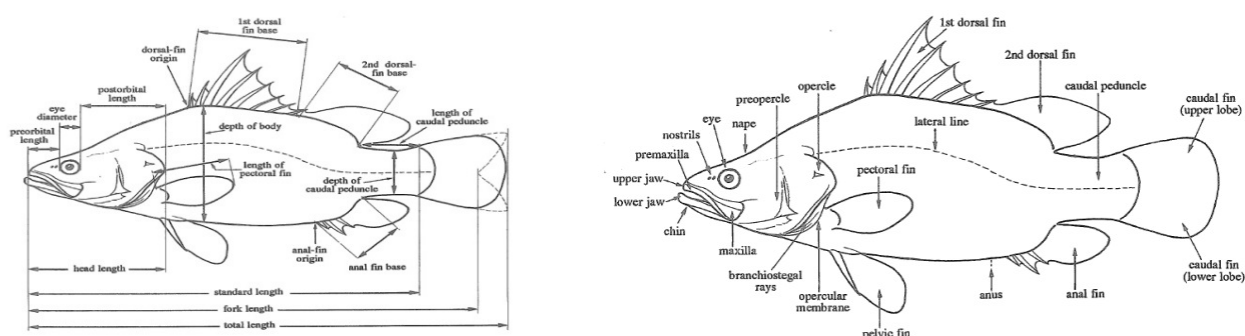


Fig.1. Measurements taken on Terapontidae by Walter J. Rainboth.

We use the following materials to Identification species: Rainboth J. Walter (1996); Vari R. P (2001); Tetsji Nakabo (2002); Nguyen Van Hao (2005); Tran Dac Dinh et al. (2013). [2-6].

Results and discussion

1. *Pelates quadrilineatus* (Bloch, 1790)

Synonyms. *Holocentrus quadrilineatus* Bloch, 1790; *Therapon quadrilineatus* (Bloch, 1790); *Pristipoma sexlineatum* Quoy & Gaimard, 1824.

Material examined. (14 specimens) GRT 001 to GRT - 014, Gianh estuary and Gianh downstream, Quang Binh province, 10 - 15 August 2008, 20 - 27 December 2009 and 6 Oct. 2010.

Meristics. Dorsal 1 = XII; Dorsal 2 = 9; Anal = III. 8.5; Pectoral = 13; Pelvic = I. 5; Caudal = 3.15.3; Opercle spine = 2; Preopercle spine = 35 - 40; Lateral line = 69 - 71; Rows of scales above lateral line = 12 - 13; Rows of scales below lateral line = 21 - 22; Lacrimal spines (Preorbital edge) = 13 - 19; Rows of scales on cheek = 5.

Morphometric

Standard length = 0.82 (0.79 - 0.96) **Total length** = 0.84 (0.84 - 0.86) **Fork length** = 3.27 (3.09 - 3.36) **Head length** = 7.77 (7.17 - 8.68) **Postorbital** = 2.55 (2.50 - 2.59) **Predorsal 1 length** = 1.44 (1.40 - 1.48) **Predorsal 2 length** = 1.55 (1.51 - 1.59) **Preanal length** = 1.67 (1.61 - 1.73) **Pre-anus length** = 3.30 (3.18 - 3.42) **Pre-pelvic length** = 2.91 (2.77 - 3.10) **Length of base dorsal 1 fin** = 12.13 (7.30 - 18.00) **Length of base dorsal 2 fin** = 4.42 (4.07 - 4.57) **Length of base anal fin** = 10.63 (9.96 - 11.48) **Eye diameter** = 13.05 (12.23 - 13.98) **Interorbital width** = 9.22 (8.68 - 9.59) **Snout length** = 6.35 (6.11 - 6.65) **Length of caudal peduncle** = 10.14 (9.63 - 10.44) **Depth of caudal peduncle** = 3.05 (2.94 - 3.16) **Depth of body** = 5.73 (5.08 - 6.43) **Length of dorsal 1** = 6.46 (5.74 - 7.80) **Length of dorsal 2** = 6.78 (5.89 - 8.03) **Length of anal** = 5.09 (4.69 - 6.03) **Length of pectoral** = 4.50 (4.34 - 4.89) **Length of pelvic** = 3.74 (2.49 - 4.63) **Length of upper caudal lobe** = 3.95 (2.62 - 4.61) **Length of lower caudal lobe** = 4.78 (3.07 - 5.78) **Length of median caudal rays**.

Head length = 0.89 (0.83 - 0.95) **Length of base dorsal 1 fin** = 1.61 (1.41 - 2.01) **Length of base dorsal 2 fin** = 1.35 (1.22 - 1.42) **Length of base anal fin** = 2.37 (2.20 - 2.60) **Postorbital** = 3.25 (3.00 - 3.52) **Eye diameter** = 3.99 (3.68 - 4.53) **Interorbital width** = 2.82 (2.69 - 2.89) **Snout length** = 1.94 (1.83 - 2.15) **Length of caudal peduncle** = 3.10 (2.91 - 3.38) **Depth of caudal peduncle** = 0.93 (0.88 - 1.00) **Depth of body**.

Length of caudal peduncle = 1.60 (1.53 - 1.70) **Depth of caudal peduncle**; **Eye diameter** = 1.23 (1.08 - 1.36) **Interorbital width**; **Length of base dorsal 1 fin** = 1.82 (1.56 - 2.36) **Length of base dorsal 2 fin** = 1.52 (1.41 - 1.61) **Length of base anal fin**.



Fig.2. *Pelates quadrilineatus* (Bloch, 1790).

Diagnostic characters. (Figure 2)

A moderately small species; body oblong, compressed laterally. Jaws equal, gape oblique: posterior margin of upper jaw extending to vertical line through posterior nostril; teeth browntipped, 2 rows in lower jaw and 3 rows or a villiform band with outer row of upper jaw enlarged in upper jaw; vomer and palatines toothless. Preopercle serrate, serrations larger along vertical border, particularly in adults; lower opercular spine stronger and longer, but not extending beyond margin of opercular lobe. Posttemporal bone not expanded or exposed posteriorly, covered with skin and scales. First gill arch with 16 to 18 gill rakers on upper limb, 22 to 27 on lower limb. Dorsal fin with spinous part of fin arched, fifth to seventh spines longest, and last 2 spines of approximately same length; second anal-fin spine subequal to third spine and shorter than longest anal-fin rays.

Colour: dorsal portions of body silvery grey, ventral part of body silvery white; 4 to 6 narrow, dark brown or black horizontal stripes on body, the middle stripe extending onto caudal-fin base; juveniles in addition have 6 or 7 greyish vertical bars; spinous portion of dorsal fin with a black blotch dorsally on membranes between third to seventh dorsal-fin spines; a blotch of variable intensity on side of body posterior to nape; lobes of caudal fin without prominent transverse black stripes; mouth and gill cavity red in life [7].

2. *Helotes sexlineatus* (Quoy & Gaimard, 1825)

Synonyms: *Terapon sexlineatus* Quoy & Gaimard, 1825; *Pelates sexlineatus* (Quoy & Gaimard, 1825); *Pelates quinquelineatus* Cuvier, 1829

Material examined. (14 specimens) GRT 015 to GRT - 027, Gianh estuary and Gianh downstream, Quang Binh province, 10 - 15 August 2008, 20 - 27 December 2009 and 6 October 2010.



Fig.3. *Helotes sexlineatus* (Quoy & Gaimard, 1825).

Meristics. Dorsal 1 = XI; Dorsal 2 = 9.5; Anal = III.9; Pectoral = 13; Pelvic = I.5; Caudal = 4.16.4; Opercle spine = 2; Preopercle spine = 30 - 33; Lateral line = 80 - 83; Rows of scales above lateral line = 12; Rows of scales below lateral line = 24; Lacrimal spines (Preorbital edge) = 15 - 20; Rows of scales on cheek = 5.

Morphometric

Standard length = 0.81 (0.80 - 0.82) **Total length** = 0.84 (0.82 - 0.85) **Fork length** = 3.22 (3.05 - 3.41) **Head length** = 7.76 (7.16 - 8.14) **Postorbital** = 2.66 (2.51 - 2.76) **Predorsal 1 length** = 1.45 (1.40 - 1.51) **Predorsal 2 length** = 1.54 (1.49 - 1.59) **Preanal length** = 1.64 (1.55 - 1.68) **Pre-anus length** = 3.16 (2.89 - 3.35) **Pre-pelvic length** = 2.98 (2.85 - 3.11) **Length of base dorsal 1 fin** = 13.21 (9.10 - 18.00) **Length of base dorsal 2 fin** = 4.48 (4.17 - 4.99) **Length of base anal fin** = 10.85 (10.46 - 11.41) **Eye diameter** = 13.10 (12.26 - 14.69) **Interorbital width** = 9.02 (8.40 - 10.10) **Snout length** = 6.51 (5.94 - 7.22) **Length of caudal peduncle** = 10.19 (9.51 - 11.24) **Depth of caudal peduncle** = 3.15 (3.03 - 3.32) **Depth of body** = 6.03 (5.27 - 7.36) **Length of dorsal 1** = 6.57 (5.39 - 7.20) **Length of dorsal 2** = 6.66 (5.89 - 7.75) **Length of anal** = 5.23 (4.97 - 5.76) **Length of pectoral** = 4.47 (4.32 - 4.60) **Length of pelvic** = 4.16 (3.95 - 4.30) **Length of upper caudal lobe** = 4.45 (4.37 - 4.60) **Length of lower caudal lobe** = 5.33 (5.05 - 5.66) **Length of median caudal rays.**

Head length = 0.93 (0.87 - 0.99) **Length of base dorsal 1 fin** = 1.56 (1.32 - 1.81) **Length of base dorsal 2 fin** = 1.40 (1.23 - 1.63) **Length of base anal fin** = 2.41 (2.15 - 2.60) **Postorbital** = 3.38 (3.14 - 3.50) **Eye diameter** = 4.08 (3.65 - 4.58) **Interorbital width** = 2.80 (2.62 - 2.97) **Snout length** = 2.03 (1.78 - 2.22) **Length of caudal peduncle** = 3.17 (2.97 - 3.50) **Depth of caudal peduncle** = 0.98 (0.91 - 1.03) **Depth of body.**

Length of caudal peduncle = 1.57 (1.40 - 1.76) Depth of caudal peduncle; **Eye diameter** = 1.21 (1.09 - 1.35) Interorbital width; **Length of base dorsal 1 fin** = 1.68 (1.49 - 1.99) Length of base dorsal 2 fin = 1.50 (1.37 - 1.65) Length of base anal fin.

Diagnostic characters. (Figure 3)

A small species, body oblong, slightly compressed laterally. Jaws equal, gape short and oblique; posterior margin of upper jaw extending to vertical line midway between vertical through posterior nostril and anterior margin of eye; teeth tricuspidate, cusps of nearly equal size, teeth in bands in each jaw, outer row of teeth enlarged; vomer and palatines toothless. Preopercle serrate, serrations larger along vertical border; lower opercular spine stronger and longer, extending nearly to, but not surpassing, margin of opercular lobe in adults. Posttemporal bone not expanded or exposed posteriorly, covered with skin and scales. First gill arch with 6 or 7 rakers on upper limb, 14 or 15 on lower limb. Dorsal fin with spinous part of fin arched, fifth or sixth spines longest, and penultimate spine shorter than ultimate spine; second anal-fin spine subequal to third spine and much shorter than longest anal-fin rays.

Colour: dorsal portion of body greyish or bluish, ventral part of body silvery to silvery white; 5 to 8 narrow, dark brown or black horizontal stripes on body, the midlateral stripe extending onto caudal-fin base; spinous part of dorsal fin with black margin dorsally on membranes; a blotch of variable intensity on side of body posterior to nape; caudal fin with dark border and several bands of faint spots basally, but without prominent transverse black stripes [7].

3. *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842)

Synonyms: *Therapon oxyrhynchus* Temminck & Schlegel, 1842; *Pelates oxyrhynchus* (Temminck & Schlegel, 1842).

Material examined. (14 specimens) GRT 028 to GRT - 033, Gianh estuary, Quang Binh province, 10 - 15 August 2008, 20 - 27 December 2009 and 6 October 2010.

Meristics. Dorsal 1 = XII; Dorsal 2 = 8.5; Anal = III.7; Pectoral = 14; Pelvic = I.5; Caudal = 3.17.3; Opercle spine = 2; Preopercle spine = 13 - 17; Lateral line = 60 - 65; Rows of scales above lateral line = 14 - 15; Rows of scales below lateral line = 23 - 25; Lacrimal spines (Preorbital edge) = 6 - 9; Rows of scales on cheek = 8 - 9.

Morphometric

Standard length = 0.83 (0.81 - 0.89) Total length = 0.84 (0.83 - 0.85) Fork length = 2.83 (2.79 - 2.86) Head length = 6.43 (6.28 - 6.60) Postorbital = 2.48 (2.39 - 2.53) Predorsal 1 length = 1.36 (1.31 - 1.39) Predorsal 2 length = 1.45 (1.41 - 1.51) Preanal length = 1.58 (1.53 - 1.64) Pre-anus length = 2.85 (2.74 - 2.98) Pre-pelvic length = 2.57 (2.76 - 2.95) Length of base dorsal 1 fin = 7.50 (6.20 - 9.10) Length of base dorsal 2 fin = 5.16 (4.95 - 5.48) Length of base anal fin = 10.11 (9.86 - 10.58) Eye diameter = 14.17 (13.54 - 15.00) Interorbital width = 8.01 (7.66 - 8.53) Snout length = 6.50 (6.11 - 7.00) Length of caudal peduncle = 8.35 (8.16 - 8.68) Depth of caudal peduncle = 2.78 (2.66 - 2.92) Depth of body = 5.12 (5.01 - 5.22) Length of dorsal 1 = 6.31 (5.89 - 6.78) Length of dorsal 2 = 5.41 (4.99 - 5.73) Length of anal = 5.07 (4.95 - 5.17) Length of pectoral = 4.12 (4.08 - 4.20) Length of pelvic = 4.39 (4.28 - 4.55) Length of upper caudal lobe = 4.60 (4.18 - 4.89) Length of lower caudal lobe = 5.18 (4.93 - 5.54) Length of median caudal rays.



Fig.4. *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842).

Head length = 0.97 (0.90 - 1.06) Length of base dorsal 1 fin = 2.28 (1.79 - 2.82) Length of base dorsal 2 fin = 1.82 (1.77 - 1.97) Length of base anal fin = 2.27 (2.20 - 2.31) Postorbital = 3.57 (3.46 - 3.79) Eye diameter = 5.00 (4.73 - 5.24) Interorbital width = 2.83 (2.73 - 2.98) Snout length = 2.29 (2.13 - 2.51) Length of caudal peduncle = 2.95 (2.86 - 3.04) Depth of caudal peduncle = 0.98 (0.95 - 1.03) Depth of body.

Length of caudal peduncle = 1.29 (1.18 - 1.34) Depth of caudal peduncle; **Eye diameter** = 1.40 (1.34 - 1.52) Interorbital width; **Length of base dorsal 1 fin** = 2.37 (1.69 - 3.15) Length of base dorsal 2 fin = 1.88 (1.67 - 2.06) Length of base anal fin.

Diagnostic characters. (Figure 4)

A moderate-sized species; body oblong, moderately deep, compressed laterally, more so in juveniles. Jaws equal, gape slightly oblique; posterior margin of upper jaw extending to vertical line through posterior nostril. Teeth villiform, in bands in each jaw, outer row of teeth much enlarged; vomer and palatines toothless. Preopercle serrate, serrations larger along vertical border; lower opercular spine stronger and longer, not extending beyond margin of opercular lobe. Posttemporal bone expanded and exposed posteriorly, with serrate posterior margin. First gill arch with 7 or 8 gill rakers on upper limb, 14 to 16 on lower limb. Dorsal fin with spinous part of fin arched, third to sixth spines longest, and penultimate and ultimate spines subequal; second anal-fin spine longest and shorter than longest anal-fin rays.

Colour: dorsal portions of body grey, ventral part of body silvery to silvery white; 4 somewhat blotchy dark brown or black horizontal stripes on body; some individuals with irregular stripes between 2 dorsal and 2 ventral primary stripes; spinous part of dorsal fin dusky basally and distally; soft portion of dorsal fin with a basal band anteriorly and pigmentation across posterior rays. Spinous portion of anal fin unpigmented; caudal fin clear in juveniles, with several narrow, irregular, parallel stripes on each lobe in adults [7].

4. *Terapon jarbua* (Forsskål, 1775)

Synonyms: *Terapon timorensis* Quoy & Gaimard, 1824; *Sciaena jarbua* Forsskål, 1775; *Holocentrus servus* Bloch, 1790; *Coius trivittatus* Hamilton, 1822; *Pterapon trivittatus* Gray, 1846; *Therapon farna* Bleeker, 1879; *Stereolepis inoko* Schmidt, 1931.

Material examined. (14 specimens) GRT 034 to GRT - 041, Gianh estuary and Gianh downstream, Quang Binh province, 10 - 15 August 2008, 20 - 27 December 2009 and 6 October 2010.

Meristics. Dorsal 1 = XII; Dorsal 2 = 9.5; Anal = III. 7.5; Pectoral = 14; Pelvic = I.5; Caudal = 3.18.3; Opercle spine = 2; Preopercle spine = 17 - 18; Lateral line = 95 - 107; Rows of scales above lateral line = 14 - 15; Rows of scales below lateral line = 29 - 34; Lacrimal spines (Preorbital edge) = 10 - 12; Rows of scales on cheek = 10 - 13.

Morphometric

Standard length = 0.79 (0.77 - 0.81) Total length = 0.85 (0.84 - 0.86) Fork length = 3.09 (3.02 - 3.18) Head length = 6.46 (6.32 - 6.62) Postorbital = 2.45 (2.36 - 2.59) Predorsal 1 length = 1.43 (1.39 - 1.49) Predorsal 2 length = 1.50 (1.44 - 1.55) Preanal length = 1.61 (1.54 - 1.67) Pre-anus length = 3.13 (3.00 - 3.33) Pre-pelvic length = 3.02 (2.78 - 3.15) Length of base dorsal 1 fin = 13.70 (8.60 - 17.40) Length of base dorsal 2 fin = 5.22 (4.72 - 5.57) Length of base anal fin = 10.90 (10.12 - 11.83) Eye diameter = 11.06 (10.05 - 11.75) Interorbital width = 9.54 (8.55 - 10.27) Snout length = 5.83 (5.37 - 6.31) Length of caudal peduncle = 8.48 (8.16 - 8.95) Depth of caudal peduncle = 3.02 (2.82 - 3.18) Depth of body = 5.16 (4.60 - 5.91) Length of dorsal 1 = 6.18 (5.15 - 7.09) Length of dorsal 2 = 6.13 (5.45 - 7.51) Length of anal = 5.41 (4.91 - 6.06) Length of pectoral = 4.31 (3.96 - 4.64) Length of pelvic = 3.81 (3.43 - 4.16) Length of upper caudal lobe = 3.99 (3.63 - 4.40) Length of lower caudal lobe = 5.38 (4.91 - 6.01) Length of median caudal rays.

Head length = 0.98 (0.90 - 1.04) Length of base dorsal 1 fin = 1.64 (1.47 - 1.84) Length of base dorsal 2 fin = 1.69 (1.52 - 1.80) Length of base anal fin = 2.09 (2.04 - 2.12) Postorbital = 3.52 (3.23 - 3.83) Eye diameter = 3.58 (3.16 - 3.89) Interorbital width = 3.08 (2.78 - 3.28) Snout length = 1.88 (1.74 - 2.02) Length of caudal peduncle = 2.74 (2.57 - 2.96) Depth of caudal peduncle = 0.98 (0.89 - 1.04) Depth of body.

Length of caudal peduncle = 1.46 (1.30 - 1.60) Depth of caudal peduncle; **Eye diameter** = 1.02 (0.94 - 1.10) Interorbital width; **Length of base dorsal 1 fin** = 1.68 (1.46 - 2.03) Length of base dorsal 2 fin = 1.73 (1.55 - 1.91) Length of base anal fin.



Fig.5. *Terapon jarbua* (Forsskål, 1775).

Diagnostic characters. (Figure 5)

A moderate-sized species. Body oblong moderately compressed laterally. Jaws equal, gape oblique; rear end of upper jaw reaching to vertical through anterior margin of eye in juveniles, reaching to vertical through centre of orbit in adults; teeth conical, slightly recurved, in villiform bands, the outer row much enlarged; vomer and palatines with teeth in juveniles, often toothless in adults. Preopercle strongly serrate, particularly at angle; lower opercular spine very long and strong, extending distinctly beyond margin of opercular lobe. Posttemporal bone expanded, exposed and serrate posteriorly; cleithrum serrate posteriorly. First gill arch with 6 to 8 rakers on upper limb, 12 to 15 on lower limb. Dorsal fin with spinous part of fin strongly arched and deeply notched, fourth to sixth spines longest, and penultimate spine about 1/2 length of ultimate spine; margin of soft part of dorsal fin straight or emarginate; second anal-fin spine subequal to third spine and shorter than longest anal-fin rays, margin of soft part of anal fin concave; caudal fin emarginate.

Colour: Body silvery greyish or dorsally and silvery white ventrally; 3 or 4 dark brown or black downwardly curved longitudinal stripes on body; spinous portion of dorsal fin with a blackish blotch dorsally on membranes between third and sixth spines; soft portion of dorsal fin with membranes of first 3 rays tipped with black and membranes between fifth and seventh rays entirely black; caudal fin with medial rays pigmented; both caudal-fin lobes with dark tips and a transverse band [7].

Conclusion

Analysis and identification of 42 specimens of family Terapontidae collected from Gianh estuary and Gianh downstream in Quang Binh province in north center region Vietnam. We have classified four species: *Terapon jarbua* (Forsskål, 1775); *Helotes sexlineatus* (Quoy & Gaimard, 1825); *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842); *Pelates quadrilineatus* (Bloch, 1790). Which has species: *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Temminck and Schlegel, 1842); was first discovered in Gianh estuary and Gianh downstream in Quang Binh province in north center region Vietnam.

References:

1. Ho Anh Tuan, Ngo Xuan Quang, Laurenția UNGUREANU, Dumitru BULAT. Fish fauna in Ganh river basin Quang Binh province, North centre Vietnam. In: *Scientific Journal. Real science and nature*. Moldova State University. 2015, vol.81, no.1, p.138-147.
2. Nguyen Nhat Thi. *Sea fish in Vietnam - Osteichthyes in Gulf of Tonkin*. Science and Technics Publishing House. Ha Noi. 1991, p.321. (In Vietnamese)
3. Nguyen Van Hao. *Freshwater fishes of Vietnam*. Agriculture Publishing House Hanoi, 2005, vol.2., vol.3., p.1517. (In Vietnamese)
4. Rainboth J. Walter. *Fishes of the Cambodian Mekong*. University of Wisconsin Oshkosh, U.S.A., 1996, p.265.
5. Tetsji Nakabo. *Fishes of Japan*. Printed in Japan. 2002. 1749 p.
6. Tran Dac Dinh, Shibukawa Koichi, Nguyen Thanh Phuong, Ha Phuoc Hung, Tran Xuan Loi, Mai Van Hieu, Utsugi Kenzo. *Fishes of the Mekong Delta, Vietnam*. Can Tho University Publishing House, 2013. 174 p.
7. Vari R.P. *Terapontidae. FAO. Species identification guide for fishery purposes*, 2001, vol.5, p.3305-3316.
8. Vo Van Phu. *Research fish fauna of Thua Thien Hue lagoon*. PhD Thesis, Hanoi University, 1995, p.152. (In Vietnamese)

Prezentat la 02.06.2016

CZU: 574.5: 502.4

INDICELE CLORO-ALCALIN AL APELOR SUBTERANE ÎN FUNCȚIE DE CONCENTRAȚIA NITRAȚILOR DIN APĂ

Maria SANDU, Sergiu ȚURCAN

Institutul de Ecologie și Geografie al AȘM

În articol sunt expuse valorile calculate ale indicelui cloro-alkalin ce indică schimbul (substituirea) ionilor Na^+ și K^+ din apă cu Mg^{2+} și Ca^{2+} din mediul mineral, în funcție de concentrația nitraților din apă pentru apele subterane din Republica Moldova, acestea fiind expuse și în publicațiile din alte țări. Din variantele avute în calcul pe exemplul Monumentelor Naturale Hidrologice s-a evidențiat importanța zonelor de protecție a sursei de apă și impactul activităților economice, în special agricole, asupra procesului de creștere a durtății (Mg^{2+} și Ca^{2+}) apelor subterane.

Cuvinte-cheie: indice cloro-alkalin, ape subterane, schimb de ioni, nitrați, zone de protecție.

GROUNDWATER CHLORO-ALKALINE INDEX AS FUNCTION OF NITRATE CONCENTRATION IN WATER

In the article are exposed the calculated values of chloro-alkaline index, that indicate the exchange of ions Na^+ and K^+ in water with Mg^{2+} and Ca^{2+} from mineral medium, depending of nitrates concentration in groundwater water from the Republic of Moldova and of other countries that being in the publications. Of variants taken into account on the example of Natural Hydrological Monuments it was highlighted the importance of protected areas for water sources and demonstrated impact of economic activities, especially agriculture, on the process of groundwater increasing hardness (Mg^{2+} and Ca^{2+}).

Keywords: chloro-alkaline index, groundwater, ions change, nitrates, protection zone.

Introducere

Abordarea poluării apelor subterane, conform Directivei 2006/118/CE a Parlamentului European și a Consiliului din 12 decembrie 2006 privind protecția apelor subterane împotriva poluării și deteriorării, presupune o activitate de culegere și tratare a informațiilor.

Una dintre problemele ce țin de calitatea apei este poluarea, inclusiv cu nitrați rezultați din activitatea antropică. O astfel de situație se atestă și în Republica Moldova. Ponderea probelor de apă din fântâni neconforme în ce privește nitrații a constituit 84,2% în 2010 (80,7% în 2009, 86% în 2005) [1].

În conformitate cu Hotărârea Guvernului nr.932 din 20.11.2013 [2], monitorizarea apelor subterane în Republica Moldova se efectuează conform programelor fundamentate științific, constând inclusiv în selectarea indicatorilor de monitorizare.

În cercetare au fost propuși mai mulți indici de calitate a apei: tehnofilia elementului chimic, indicele de calitate a apei (WQI), indicele cloro-alkalin (CAI), indicele poluării apei (IPA), analiza statistică multivariată.

În calitate de indice universal al caracterizării tendinței generale a schimbărilor din apele subterane a fost elaborată tehnofilia elementului chimic [3]. Utilizând datele lui R.Sherlock [4], informația statistică a ONU, Franței, SUA și rezultatele modelării ecologo-economice globale, în baza concepției optimismului tehnocrat au fost calculate valorile indicelui universal, numit tehnofilie, a cca 30 de elemente chimice pentru perioada anilor 1800 – 2025 [5].

Pentru evidențierea efectelor generate de activitatea agricolă asupra mediului (calitatea apei din Brazilia) a fost utilizat indicele analizei statistice multivariate și demonstrată dependența conținutului indicatorilor chimici de calitate a apei de cel al compușilor azotului [6].

Un studiu corelațional al componenței apelor subterane (izvoarelor și cișmelelor din bazinul r. Prut și fl. Nistru) și al concentrației ionilor de NO_3^- a fost efectuat și în Republica Moldova, evidențiindu-se că la un conținut al nitraților mai mare de 50 mg/L (CMA) există o corelare pozitivă cu durtatea (Mg^{2+} și Ca^{2+}) și mineralizarea apei, ceea ce indică la modificarea cumulativă a calității ei [7,8].

Indicele de calitate a apei (WQI) dezvoltat de Horton (1965) [9] a fost aplicat în Statele Unite ale Americii prin selectarea celor mai frecvent utilizați indicatori de calitate a apei (oxigenul dizolvat, pH-ul, coliformii, conductibilitatea, alcalinitatea și clorurile etc.). Indicele de calitate a apei WQI a fost aplicat pe scară largă și acceptat în țările din Europa, Africa și Asia. Un indice de calitate a apelor naturale, numit indicele poluării

apei (IPA), este utilizat și în Republica Moldova de către Serviciul Hidrometeorologic de Stat pentru caracterizarea apelor de suprafață după un număr fix de parametri (N-NH₄, N-NO₂, produse petroliere, fenoli, oxigen dizolvat și CBO₅) [10].

Indicele cloro-alkalin (CAI), ce se bazează pe schimbul ionic Na⁺ și K⁺ din apă cu Mg²⁺ și Ca²⁺ între apa subterană și mediul mineralogic/sol în timpul de contact sau în procesul de migrare a apei în subteran, a fost propus de H.Schoeller 1977 [11] și evaluat pe apele subterane de către diferiți autori [12-14], nefiind însă studiat în funcție de conținutul nitraților din apă.

Reieșind din faptul că nivelul de poluare cu nitrați a apelor subterane din Republica Moldova depășește limita admisibilă pentru apa potabilă, iar indicele cloro-alkalin nu a fost evaluat în raport cu nivelul de poluare a apei cu nitrați, în prezentul studiu este cercetată calitatea apei subterane, folosind indicele CAI în funcție de conținutul ionilor NO₃⁻ din apă.

Material și metode

Pentru a evidenția dependența conținutului de nitrați de valoarea indicelui cloro-alkalin (CAI-1) din apele naturale freatice în calcul a fost folosită informația din diverse materiale publicate în Republica Moldova, Ucraina, Spania, India, Portugalia, Arabia Saudită privind componența apelor subterane din terenuri protejate de stat, cu activitate agricolă, teritorii urbane și rurale [6,12,15-23].

Ca material de comparație a influenței conținutului nitraților asupra indicelui cloro-alkalin al apelor subterane din Republica Moldova a fost utilizată informația privind componența apei din Monumentele Naturale Hidrologice (29 izvoare) [15]. Evaluarea dependenței a două componente specifice apei (CAI și conținutul ionilor NO₃⁻) a fost realizată prin metoda dublei analize corelative [24]. S-a luat în considerare că indicele cloro-alkalin pozitiv indică schimbul ionilor Na⁺ și K⁺ din apă cu Mg²⁺ și Ca²⁺ din mediu, iar valoarea negativă a CAI apare atunci când nu există acest schimb de ioni sau apare un schimb inversat de ioni [11,25].

Rezultate și discuții

Indicele CAI-1 al apei Monumentelor Naturale Hidrologice. Monumentul Natural Hidrologic (MNH) reprezintă un obiect unic al naturii, având o deosebită valoare ecologică, științifică, culturală, istorică și estetică [26]. Rezultatele cercetărilor științifice efectuate în scopul evaluării stării ecologice a MNH denotă o calitate a apei corespunzătoare diferitelor scopuri (potabilă, minerală etc.), aceste ape fiind luate în studiu ca probe de comparație [15]. În baza indicelui cloro-alkalin calculat se constată că doar 2 din 29 MNH (7%) au apă cu CAI-1 pozitiv, deci are loc schimbul de ioni Mg²⁺ și Ca²⁺ din apă prin ionii de Na⁺ și K⁺ din mediul mineral (Fig.1), ambele fiind din s. Nișcani, r-nul Călărași. În apa altor MNH CAI-1 are valori negative, argumentul fiind nivelul de protecție a lor ca arii naturale protejate de stat [27].

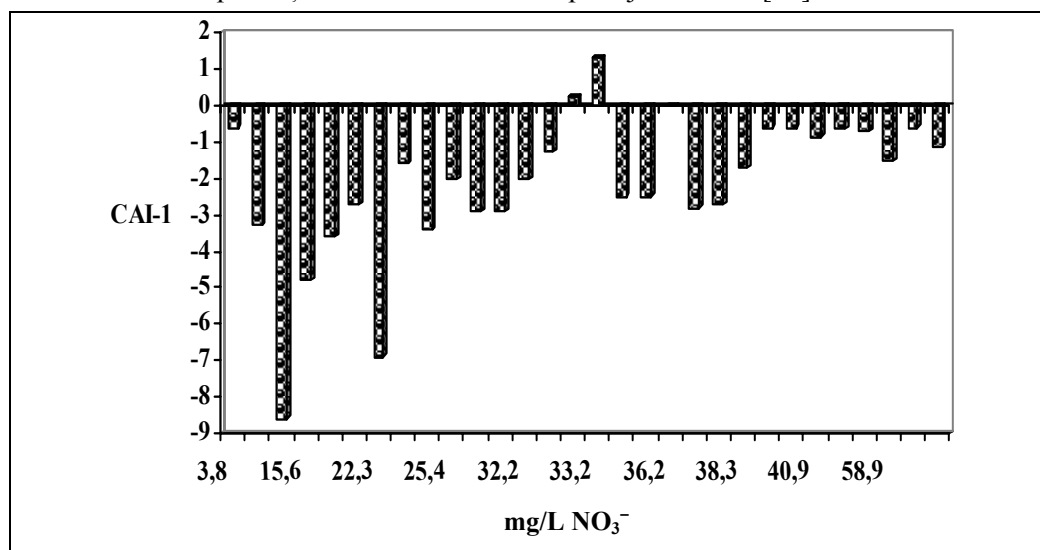


Fig.1. Indicele cloro-alkalin al apelor MNH în funcție de conținutul ionilor NO₃⁻ din apă.

Indicele CAI-1 al apei izvoarelor din bazinul fl. Nistru. În baza rezultatelor studiului realizat în cadrul Programului de Stat „Cercetări științifice și de management al calității apelor” (coordonator acad. Gh.Duca), ce include evaluarea stării chimice a apelor subterane din bazinul hidrografic al fl. Nistru (cca 360 de izvoare

și cișmele) [7,8,15] a fost calculat indicele cloro-alkalin al apei surselor, care nu sunt obiecte ale fondului ariilor naturale protejate de stat și se află în preajma terenurilor agricole, în spații rurale și urbane.

Prin sistematizarea corelațională a indicelui cloro-alkalin obținut s-a evidențiat o dinamică pozitivă a lui în funcție de conținutul nitraților în sursele din raionul Rezina, unde în 23 (19%) din 119 izvoare apa are un conținut de nitrați ce depășește concentrația maxim admisibilă pentru apa potabilă (CMA, 50 mg/L). Estimarea denotă că apa din 23 (47%) de surse cu un conținut de nitrați ce depășește CMA au indicele cloro-alkalin pozitiv (Fig. 2a).

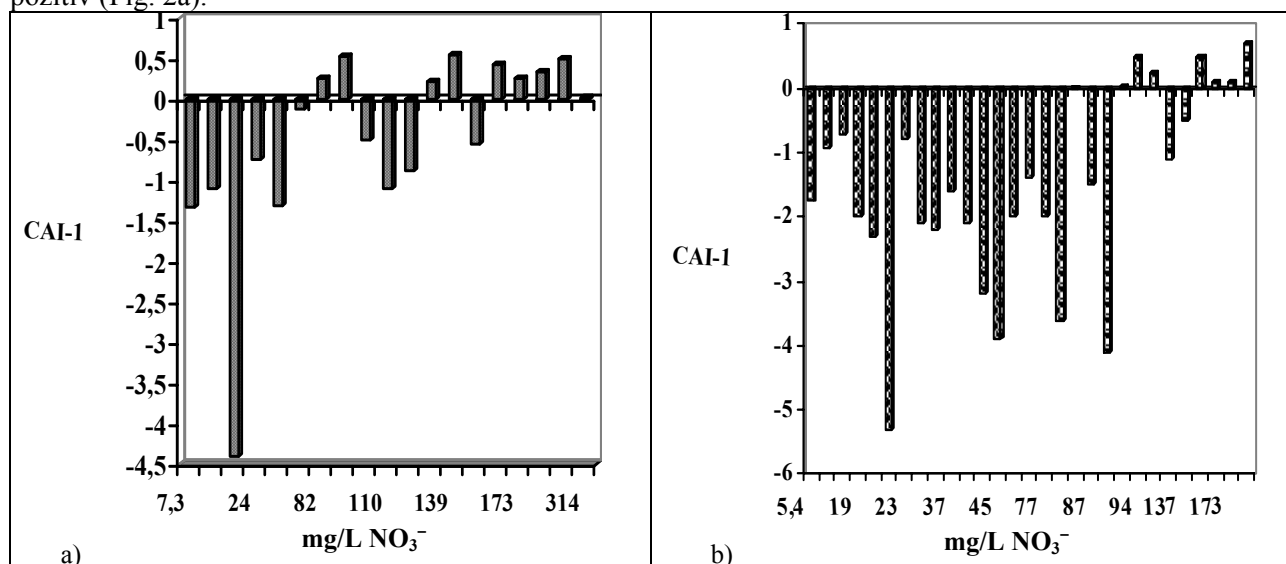


Fig.2. Indicele cloro-alkalin al apei izvoarelor și cișmelelor din raioanele Rezina (a) și Ialoveni (b) în funcție de concentrația nitraților din apă.

Indicele cloro-alkalin s-a evidențiat pozitiv și în izvoarele cu un conținut de nitrați în apă, ce depășește CMA din alte raioane: în raionul Ialoveni apa din 7 surse (47%) (Fig. 2b), raioanele Anenii Noi și Șoldănești în 2 izvoare, raioanele Orhei și Criuleni în câte un izvor. În raioanele Telenеști, Strășeni, Căușeni și Ștefan Vodă (conținutul NO₃⁻ este mai mic de 80-100 mg/L) nu sunt indici CAI-1 pozitivi pentru apa din izvoarele studiate.

Indicele CAI-1 al apei din fântâni. Spațiul urban. În apa subterană din fântânile de mină, care a fost evaluată în spațiul urban, mun. Chișinău (aa. 1992 și 2005) [18], CAI-1 pozitiv s-a evidențiat doar în 4 fântâni din 17 (cca 23%). Chiar și la concentrații de nitrați de 131-351 mg/L NO₃⁻ (2,6-5,0 CMA) indicele cloro-alkalin are valori negative (Fig. 3a). Un rezultat similar s-a evidențiat și la indicele CAI-1 al apei din fântânile or. Odesa și Vatutino (Ucraina, reg. Odesa), care are valori negative chiar la un conținut al nitraților egal cu 10 CMA [22] (Fig. 3b), argumentul fiind lipsa schimbului ionic.

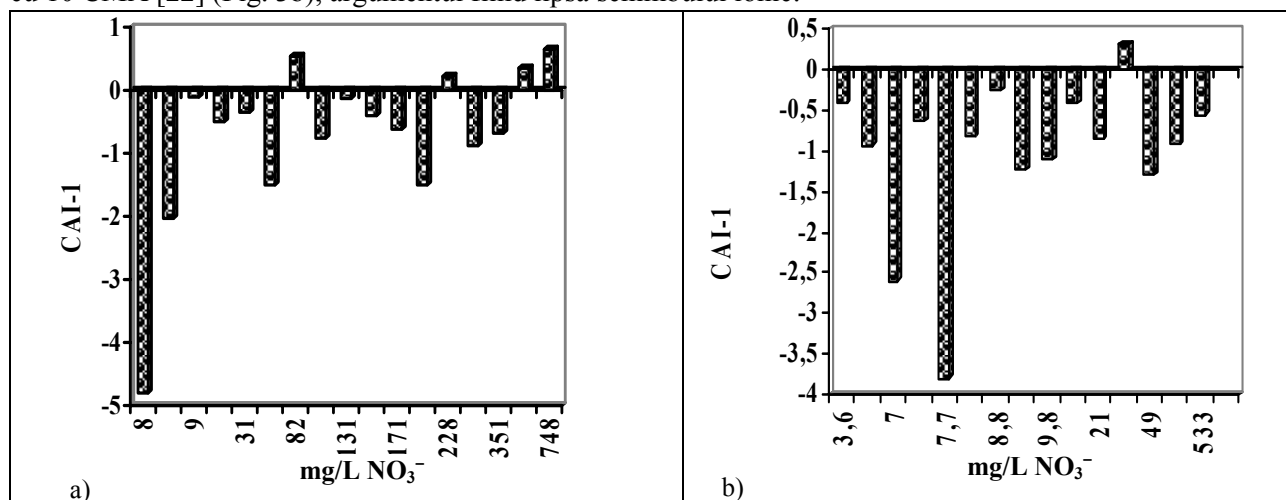


Fig.3. Indicele CAI-1 al apei fântânilor din mun. Chișinău (a) și din or. Odesa și Vatutino, Ucraina (b) în funcție de conținutul nitraților.

Indicele CAI-1 al apei din fântâni. Spațiul rural. Prin evaluarea stării ecologice a apei din fântânile rurale s-a constatat că cca 82% din sursele studiate din s. Pitușca, raionul Călărași, au avut un conținut de NO_3^- ce depășește CMA de la 1,6 până la 14 ori [16]. Indicele CAI-1 cu valori pozitive apare la o concentrație mai mare de 40 mg/L NO_3^- în apa din 12 surse (70%) (Fig. 4a). În s. Recea, raionul Râșcani, cca 76% din sursele studiate au avut un conținut de NO_3^- ce depășește CMA de la 1,2 până la 14,9 ori, iar indicele CAI-1 cu valori pozitive apare în apa din 11 (din 12) surse (91%) (Fig. 4b).

Interes a prezentat comparația CAI al apelor din spațiul rural cu activități agrare și un teritoriu rural protejat – comuna Trebujeni, satele Morovaia și Butuceni, raionul Orhei, componente ale teritoriului Complexului istorico-natural „Orheiul Vechi”, ce constituie un sistem alcătuit din elemente naturale și culturale: cadru natural originar, biodiversitate (masive vegetale și faună conservate), cadru arheologic de excepție [28,29].

În componența apelor din orizontul freatic al comunei Trebujeni, al satelor Morovaia, Butuceni, raionul Orhei (2007), poluare a apei cu nitrați s-a evidențiat în 7 din 21 probe (33%) cu concentrația maximă de doar 109 mg/L [17], astfel și CAI-1 cu valori pozitive (schimbul ionic Na^+ și K^+ din apă cu Mg^{2+} și Ca^{2+}) fiind caracteristic doar pentru 4 probe (19%) (Fig. 4c), ceea ce este de 3,5-4,5 ori mai puține surse ca în teritoriul rural neprotejat (ex., satele Pitușca și Recea).

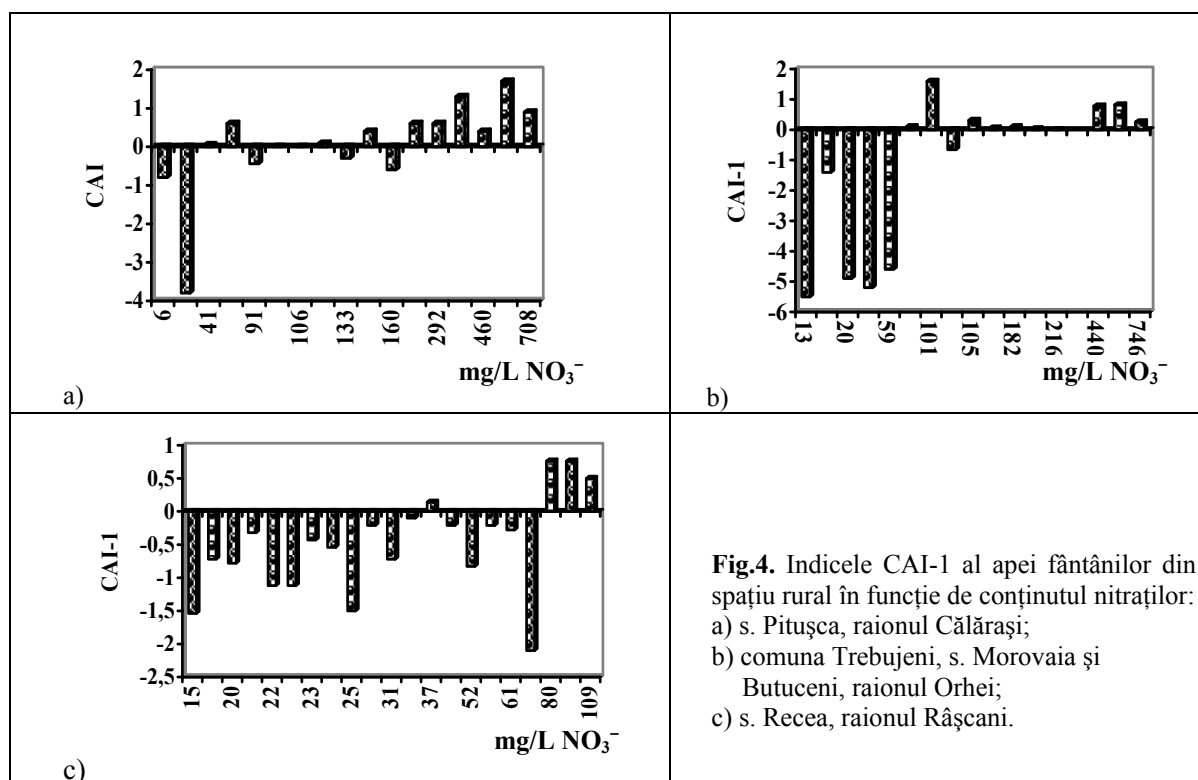


Fig.4. Indicele CAI-1 al apei fântânilor din spațiul rural în funcție de conținutul nitraților: a) s. Pitușca, raionul Călărași; b) comuna Trebujeni, s. Morovaia și Butuceni, raionul Orhei; c) s. Recea, raionul Râșcani.

Astfel, este foarte importantă protecția apei subterane pe principiul de prevenire a poluării în concordanță cu obiectivele Directivei 2010/75/UE a Parlamentului European și a Consiliului din 24 noiembrie 2010 cu referire la calitatea apei, ce includ: protejarea faunei acvatice, protejarea habitatului, menținerea potabilității apei potabile, protejarea apei de scăldat.

Indicele CAI-1 al apei fântânilor din alte țări. Pentru comparația stării ecologice a apelor freactice din Republica Moldova cu cea din alte țări a fost determinat indicele CAI al apelor fântânilor din țări cu activitate agricolă (Spania, India și Portugalia) în baza informației din publicațiile existente.

CAI al apei din Spania. Pentru a investiga acumularea nitraților în apele subterane, au fost studiate surse de apă subterană din regiunea Osona (NE Spaniei) în 2010-2011 în terenuri agricole [20]. Concentrații mari de nitrați sunt frecvent întâlnite în apele subterane din zonă cu valori cuprinse între 8 și 380 mg/L NO_3^- în apa din izvoare, iar în fântâni – de la 10 până la 529 mg/L NO_3^- . S-a evidențiat că din 26 de probe de apă freatică 18 (69%) au un conținut de nitrați ce-l depășește de 1-7 ori pe cel maxim admisibil pentru apa potabilă, indicele cloro-alkalin fiind pozitiv (în creștere, $r^2=0,6935$) în apa cu conținut mai mare de 50 mg/L ioni NO_3^- (Fig. 5a).

CAI al apei din Portugalia. Incidența privind calitatea apei subterane în terenuri agricole a fost evaluată și în regiunea Campina de Faro (sudul Portugaliei), unde se practică o agricultură intensivă, apa subterană fiind intens exploatată pentru irigații și alimentarea cu apă a populației municipale. Prin analiza a 27 de probe de apă din diferite puncte s-a constatat că conținutul nitraților în 21 dintre ele (78%) depășește limitele recomandate atât pentru consumul uman, cât și pentru adăpatul vitelor, acviferele zonei fiind contaminate de la 38 la 434 mg/L NO_3^- [21]. Calculul CAI-1 prin aranjarea lui în ordinea creșterii concentrației nitraților din ape a demonstrat că în 81% din probe concomitent cu acumularea ionilor NO_3^- crește valoarea indicelui cu un coeficient mediu de corelare ($r^2 = 0,3729$) (Fig. 5b).

CAI al apei din India. Informația K.Srinivasamoorthy etc. (2014) ține de componența apelor subterane din bazinul r. Pungar, partea de nord-est a districtului Karur, unde cea mai importantă activitate economică este agricultura. Schimbul ionic între apa subterană și mediul mineralogic a fost verificat de către autori folosind indicele cloro-alkalin, valoarea căruia în condițiile studiului este pozitivă (de la +0,05 la +0,88) pentru toate concentrațiile nitraților de la 2 la 345 mg/L. Autorii argumentată procesul prin activitatea agricolă intensă și prezența nitraților în spațiul acvatic, sărurile cărora sunt utilizate permanent ca îngrășăminte [12] (Fig. 5c).

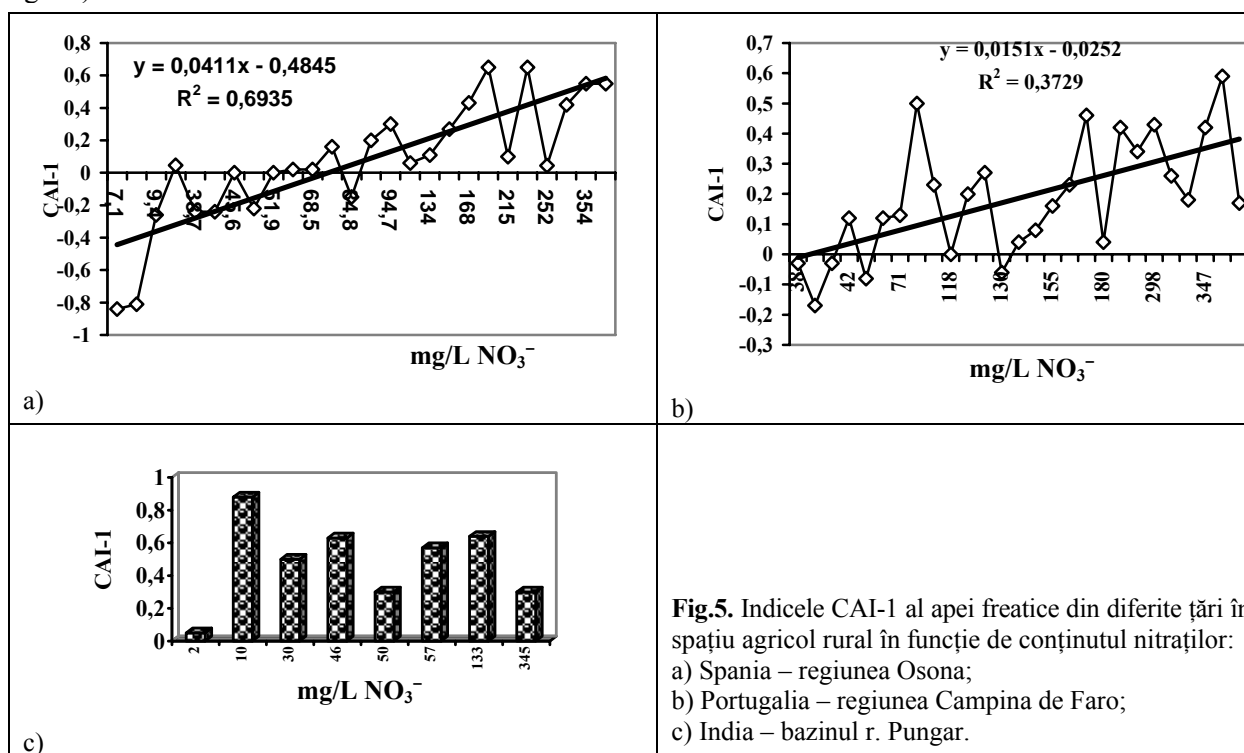


Fig.5. Indicele CAI-1 al apei freatice din diferite țări în spațiu agricol rural în funcție de conținutul nitraților:
a) Spania – regiunea Osona;
b) Portugalia – regiunea Campina de Faro;
c) India – bazinul r. Pungar.

Cercetarea apei freatice din teren fără activitate agricolă din orașul Sikar (20 de probe), India, care este în curs de industrializare și urbanizare rapidă [19], demonstrează că CAI-1 al apelor are valori pozitive doar în 7 cazuri (35%), spre deosebire de apa freatică din bazinul r. Pungar (teritoriu agrar), unde el are prezență pozitivă în 100% din surse, rezultat similar teritoriilor urbane descrise (mun. Chișinău, Republica Moldova, or. Odesa și Vatutino, Ucraina).

CAI al apei din Arabia Saudită. Cercetările realizate în 2011 pe apa din 42 de fântâni din zona Wadi Sayyah, care se află în bazinul r. Rabigh, vestul Arabiei Saudite, zonă cu teren agricol irigat, au depistat în apele subterane diferite concentrații de nitrați (de la 11,7 la 450,2 mg/L), ca rezultat al folosirii îngrășămintelor, descompunerii materiei organice, deversării apelor menajere și s-a constatat că în 43% din probe concentrația nitraților depășește limitele admisibile pentru apa potabilă. Indicele cloro-alkalin, calculat de autori [23], arată că în 88% din probele de apă subterană valorile CAI-1 sunt pozitive, în timp ce doar 12% din probe au valoare negativă. Pentru apele cu media concentrației minime a ionilor NO_3^- CAI-1 este negativ (-0,02), deci lipsește schimbul ionic, iar la o medie a nitraților de 450 mg/L coeficientul CAI-1 este pozitiv (+0,89), fiind confirmat de autori că a avut loc schimbul Na^+ și K^+ din apă cu Mg^{2+} și Ca^{2+} din mediul mineral.

Indicele cloro-alkalin propus de H.Schoeller în 1967 [11] și evaluat pentru apele subterane de diferiți autori [12-14] confirmă rezultatele cercetărilor de corelare între conținutul nitraților și cel al Ca^{2+} , Mg^{2+} , duritatea și mineralizarea apelor subterane din Republica Moldova [15]. Indiferent de țară, în apele freactice din teren urban CAI-1 are valori pozitive în proporții mult mai mici decât în terenurile cu activitate agricolă sau în spații rurale. Astfel, se propune utilizarea îngrășămintelor ecologice și depozitarea regulamentară a deșeurilor pentru prevenirea poluării apelor freactice cu nitrați.

Concluzii

- Conform indicelui cloro-alkalin calculat, se constată că doar 7% din Monumentele Naturale Hidrologice au apă cu CAI-1 pozitiv, în apa altor MNH CAI-1 are valori negative, deoarece în jurul monumentelor naturii se delimitează o zonă de protecție.
- Cercetările denotă că în apa izvoarelor naturale, spre deosebire de MNH, nivelul de poluare cu nitrați este un factor ce contribuie la schimbul ionic $\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{2+} - \text{Ca}^{2+}$ cumulativ conținutului ionilor NO_3^- din apele subterane de la 20 la 50% din surse.
- Indicele cloro-alkalin al apei din fântânile urbane (mun. Chișinău, or. Odesa și Vatutino din Ucraina) are valori negative chiar la un conținut al nitraților de 10 CMA, deci în procesul de poluare nu are loc schimbul ionic din apă cu cel din mediul mineral.
- În teritoriul natural rural protejat (Complexul istorico-natural „Orheiul Vechi”) în componența apelor din orizontul freatic s-a evidențiat o poluare cu nitrați în 33% din probe și CAI-1 are valori pozitive doar pentru 4 probe (19%).
- În teren rural indicele CAI-1 cu valori pozitive apare la o concentrație mai mare de 40-60 mg/L NO_3^- , fiind caracteristic la o cotă considerabilă de surse: cca 82% în s. Pitușca, raionul Călărași, și 91% în s. Recea, raionul Râșcani.
- Cea mai înaltă influență a ionilor NO_3^- asupra indicelui CAI-1 s-a evidențiat în apele freactice din terenuri cu activitate agrară: în Spania în 65% din probe este pozitiv (în creștere); în Portugalia – în 81% din probe; în India indicele este pozitiv (de la +0,05 la +0,88) pentru toate concentrațiile nitraților (2-345 mg/L NO_3^-), fiind argumentată (de autori) prin activitatea agricolă intensă.
- Se propune utilizarea îngrășămintelor ecologice pentru prevenirea poluării apelor freactice cu nitrați și depozitarea regulamentară a deșeurilor cu respectarea zonelor de protecție a sursei de apă subterană.

Referințe:

1. MUSTEA, M., BOIAN, I., GALCĂ, G., SANDU, M., TĂRIȚĂ, A. etc. Starea resurselor de apă. În: „Starea mediului în Republica Moldova în 2007-2010 (Raport Național)”. Chișinău, 2011, p.75-80.
2. Hotărârea Guvernului pentru aprobarea Regulamentului privind monitorizarea și evidența sistematică a stării apelor de suprafață și a apelor subterane, nr.932 din 20.11.2013. În: *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 2013, nr.276-280, art.1038.
3. ПЕРЕЛЬМАН, А.И. *Геохимия биосферы и ноосферы. Биогеохимические циклы в биосфере*. Москва: Наука, 1976, c.86-98.
4. SHERLOCK, R.L. *Man as geological agent. An account of his action on inanimate nature*. London: High Holborn, 1922. 372 p.
5. ТЮТЮНОВА, Ф.И. *Гидрохимия техногенеза*. Москва: Наука, 1987. 335 с.
6. COLETTI, Ch., TESTEZLAF, R., RIBEIRO, TÚLIO A.P. et al. Water quality index using multivariate factorial analysis. Campina Grande, PB, UAEA/UFCG. In: *Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2010, vol.14, no.5, p.517-522.
7. HORTON, R.K. An index number system for rating water quality. In: *J. Water Pollu. Cont. Fed.*, 1965, no.37(3), p.300-305.
8. Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. CCME WATER QUALITY INDEX 1.0. Technical Report. [Accesat: 09.08.2016] Disponibil: [http://www.ccme.ca/files/Resources/calculators/WQI%20User's%20Manual%20\(en\).pdf](http://www.ccme.ca/files/Resources/calculators/WQI%20User's%20Manual%20(en).pdf)
9. Anuar. Starea calității apelor de suprafață conform indicatorilor hidrochimici pe teritoriul Republicii Moldova în a. 2013. [Accesat: 12.04.2016] Disponibil: http://www.meteo.md/monitor/anuare/2013/anuarapei_2013.pdf.
10. SCHOELLER, H. *Geochemistry of groundwater. An international guide for research and practice*. UNESCO, 1967, nr. 15, chap. 15, p.1-18. Citat: SUBRAMANI, T., RAJMOHAN, N. and ELANGO, L. In: *Environ. Monit. Assess.*, 2010, vol.162, no.1, p.123-137.

11. SRINIYASAMOORTHY, K., GOPINATH, M., CHIDAMBARAM, S., VASANTHAVIGAR, SARMA, V.S. Hydrochemical characterization and quality appraisal of groundwater from Pungar sub basin, Tamilnadu, India. In: *Journal of King Saud University – Science*. Volume 26, Issue 1, January 2014, p.37-52.
12. RADHEY, Sh., KALWANIA, G.S. Ground water chemistry: A case study of eastern part of Sikar city (Rajasthan), India. In: *International Journal of Applied Engineering Research*, DINDIGUL, 2011, vol.2, no.2, p.378-389.
13. SWAINE, S., SCHNEIDER, P.J. The chemistry of surface water in prairie ponds. In: *Am. Chem. Soc. Adv. Chem. Ser.*, 1971, vol.106, p.99-104.
14. SANDU, M., MOSANU, E., GLADCHI, V., TARITA, A., DUCA, GH., etc. Study of spring's water quality as sources of potable water and for irrigation in Rezina district. In: *Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry*, 2010, no.5 (1), p.84-89.
15. SANDU, M., TARITA, A., LOZAN, R., GLADCHI, V., DUCA, GH., TURCAN, S., MOSANU, E., PREPELITA, A. Water of springs – sources for water supply and irrigation in the Nistru river basin. In: *Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry*, 2013, no.8(2), p.42-50.
16. LOZAN, R., TĂRIȚĂ, A., SANDU, M., GAIDĂU, A., ZLOTEA, A., SIDOREN, I., ANDRIUCA, V. *Starea geo-ecologică a apelor de suprafață și subterane în bazinul hidrografic al Mării Negre (în limitele Republicii Moldova)*. Chișinău, 2015. 326 p.
17. PITUȘCAN, S., ȚURCAN, S., SANDU, M. Calitatea apei din fântânile s. Pitușca, jud. Ungheni, și măsurile de îmbunătățire a ei. In: *Rezultatele comunicărilor Conferinței științifice republicane a tinerilor cercetători*. Ed. a V-a. Chișinău, 2001, p.20-22.
18. BOBOC, N., CHIRICĂ, L., SANDU, M., BREGA, V., SPĂTARU, P., TOFAN, E. Aspecte hidrochimice ale apelor freatice din aria Complexului istorico-natural „Orheiul Vechi”. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*. Seria „Științele vieții”, 2008, nr.2, p.164-169.
19. МЫРЛЕАН, Н.Ф., МОРАРУ, К.Е., НАСТАС, Г.И. *Эколого-геохимический атлас Кишинева*. Кишинев: Штиинца, 1992. 116 с.
20. RADHEY, Sh., KALWANIA, G.S. Ground water chemistry: A case study of eastern part of Sikar city (Rajasthan), India. In: *International Journal of Applied Engineering Research*, DINDIGUL, 2011, vol.2, no.2, p.367-368.
21. MERCÈ, BOY-ROURA; ANNA, MENCIO; JOSEP, MAS-PLA. Temporal analysis of spring water data to assess nitrate inputs to groundwater in an agricultural area (Osona, NE Spain). In: *Science of the Total Environment*, 2013, p.433-445.
22. ALMEIDA, C. e SILVA, M.L. Incidence of Agriculture on water quality at Campinade Faro (South Portugal). In: *Hidrogeologia y Recursos Hidráulicos*. IV Simposio de Hidrogeologia, 1987, t. XII, p.249-257.
23. ЛИТВИНА, Т.М., БЕЛТЮКОВА, С.В., КЛИМЕНТИЙ, Л.В., УСТИЧЕНКО, О.И. О качественном составе питьевой воды альтернативных источников Одессы и Черкасской области. В: *Вода и здоровье: Сборник научных статей*. Одесса: ОЦНТЭИ, 2001, с.126-131.
24. AL-AHMADI, M.E. Hydrochemical characterization of groundwater in wadi Sayyah, Western Saudi Arabia. In: *Applied Water Sci.*, 2013, vol.3, no.4, p.721-732.
25. ФЕДОРОВА, Т.К. *Физико-химические процессы в подземных водах*. Москва: Недра, 1985. 182 с.
26. ARVETI, NAGARAJU et al. Hydrogeochemistry of waters of Mangampeta Barite mining area, Cuddapah Basin, Andhra Pradesh, India. In: *Turkish J. Eng. Env. Sci.*, 2006, vol.30, p.203-219.
27. Legea privind fondul ariilor naturale protejate de stat, nr.1538 din 25.02.1998. În: *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 2000, nr.66-68, art.442.
28. Hotărârea Guvernului pentru aprobarea regulamentelor-cadru ale parcurilor naționale, monumentelor naturii, rezervațiilor de resurse și rezervațiilor biosferei, nr.782 din 03.08.2000. În: *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 2000, nr.102.
29. Complexul arheologic „Orheiul Vechi”. [Accesat: 19.05.2016] Disponibil: http://www.orhei.net/news/complexul_arheologic_orheiul_vechi/2011-07-30-9

Notă: Articolul a fost elaborat în cadrul Proiectului aplicativ 15.817.02.21A: „Evaluarea integrată a impactului antropic asupra ecosistemelor reprezentative în scopul conservării și extinderii Ariilor Naturale Protejate de Stat în contextul cerințelor Directivelor UE”.

Prezentat la 14.09.2016

CZU: 574.5: 543.3(478)

SUBSTANȚELE ORGANICE ÎN APELE NISTRULUI MIJLOCIU*Viorica GLADCHI, Nelli GOREACEVA, Elena BUNDUCHI**Universitatea de Stat din Moldova*

În lucrare sunt prezentate rezultatele studiului multianual al variațiilor temporale și spațiale ale substanțelor organice (S.O.) în apele Nistrului, în porțiunea s. Naslavcea – rezervorul de acumulare de la Dubăsari. După particularitățile de formare a regimului Nistrului Mijlociu, sunt evidențiate două porțiuni ale râului, care se deosebesc prin conținutul și tipul S.O., precum și prin gradul de poluare a apelor Nistrului.

Cuvinte-cheie: *substanțe organice, CCO_{Mn} , CCO_{Cr} , CBO_5 , poluarea apelor.*

ORGANIC SUBSTANCES IN THE MIDDLE DNIESTER WATERS

In this paper it is presented the results of the multiannual study of the temporal and spatial variations of the organic substances (O.S.) in the Dniester waters on the portion Naslavcea village - accumulation tank from Dubasari. After peculiarities of the regime formation of the Middle Dniester, are highlighted two portions of the river, which differ in content and type of S.O., as well in the degree of pollution of the Dniester waters.

Keywords: *organic substances, COD_{Mn} , COD_{Cr} , BOD_5 , water pollution.*

Introducere

Substanțele organice (S.O.) în apele naturale fac parte din grupul de poluanți care contribuie la formarea sistemului dinamic, în care sub influența factorilor fizico-chimici și biologici permanent decurg procese de transformare, acestea exercitând o influență importantă asupra compoziției chimice și calității apelor. Cunoașterea conținutului și a gradului de persistență a S.O. în obiecte acvatice oferă posibilitatea de a concluziona despre particularitățile de formare a acestora sub aspect multianual, anual și sezonier.

Material și metode

Studiul conținutului și al dinamicii substanțelor organice a fost realizat pe porțiunea moldavă a râului, care după particularitățile morfologice ale bazinului hidrografic fac parte din Nistrul Mijlociu. Segmentul studiat este cuprins între priza de captare ce se află cu 100 m în aval de barajul de la Naslavcea și barajul de la Dubăsari.

Scopul lucrării constă în analiza datelor multianuale proprii ce țin de prezența, conținutul și dinamica substanțelor organice în apele nistrene și în estimarea poluării apelor ce vin din partea ucraineană.

Datele empirice au fost obținute de autori pe parcursul cercetărilor hidrochimice proprii pe Nistru, în perioada anilor 2003-2015, în patru prize de captare permanente: aval de baraj la Naslavcea, s. Cosăuți, s. Boșernița, barajul de la Dubăsari [1]. Conținutul substanțelor organice a fost determinat prin următorii parametri: *oxidabilitatea bicromatică* (CCO_{Cr}), *oxidabilitatea permanganatică* (CCO_{Mn}), *consumul biochimic de oxigen* (CBO_5), precum și prin determinarea raportului dintre acești parametri. După prelevarea probelor acestea au fost filtrate prin filtrul de sticlă cu diametrul porilor de 0,45 μm , ceea ce a permis determinarea conținutului de carbon organic total (C_{org}) în probele filtrate și nefiltrate. Prin calcularea diferenței dintre carbonul organic total în proba nefiltrată și filtrată a fost determinat conținutul substanțelor organice suspendate și solubile [2]. Parametrii CCO_{Mn} și CBO_5 au fost determinați în probele nefiltrate. Toți parametrii enumerați au fost determinați după metodele hidrochimice clasice [2].

Rezultate și discuții

În perioada cercetării, parametrul CCO_{Cr} în probele nefiltrate a variat într-un diapazon larg, între 7 și 41 mgO/l, cea mai mare variație fiind atestată în apele acumulate în rezervorul de la Dubăsari. Valoarea medie multi-anuală a parametrului se deosebea neesențial între prizele de captare, cu 2-5%.

Pe parcursul cercetărilor valoarea medie a parametrului CCO_{Cr} constituia 16,9 mgO/l la Naslavcea, cu micșorarea până la 16,0 mgO/l la Cosăuți și apoi cu creșterea până la 17,4-17,7 mgO/l la Boșernița și lângă barajul rezervorului de acumulare de la Dubăsari (Tab.1).

Tabelul 1

Valorile medii multianuale ale conținutului de substanțe organice (S.O.), limitele de variație, distribuția acestora în stare solubilă ($C_{org.sol.}$) și suspendată

| Priza de captare | CCO _{Cr} , mgO/l | | C _{org} , mg/l | | S.O., mg/l | | | C _{orgSol.} C _{org.} total, % |
|------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|---|
| | Proba nefiltrată | Proba filtrată | Proba nefiltrată | Proba filtrată | În total | Forma solubilă | Forma suspend. | |
| Naslavcea | <u>16.9±2.26</u> 8.0-25.0 | <u>10.1±1.31</u> 5.0-15.0 | <u>6.3±0.79</u> 3.0-9.4 | <u>3.8±0.44</u> 2.0-5.6 | <u>12.6</u> 6.0-18.8 | <u>7.6</u> 4-11 | <u>5.0</u> 2.0-7.6 | 60 |
| Cosăuți | <u>16.0±1.97</u> 7.0-25.0 | <u>9.4±1.19</u> 4.0-15.0 | <u>6.0±0.74</u> 4.1-9.0 | <u>3.5±0.28</u> 1.0-3.5 | <u>12</u> 8-18.0 | <u>7.0</u> 2.0-7.0 | <u>5.0</u> 6.0-11.0 | 58 |
| Boșernița | <u>17.7±3.54</u> 8.0-29.0 | <u>11±1.93</u> 3.0-17.0 | <u>6.6±1.34</u> 3.0-11.0 | <u>4.1±0.71</u> 1.1-6.4 | <u>13.2</u> 6-22 | <u>8.2</u> 2.8-11.8 | <u>5.0</u> 3.0-10.0 | 62 |
| Barajul Dubăsari | <u>17.4±3.67</u> 8.0-41.0 | <u>10.4±2.26</u> 1.0-20.0 | <u>6.5±1.38</u> 3.0-15.4 | <u>3.9±0.84</u> 0.4-7.5 | <u>13</u> 6-31 | <u>7.8</u> 3.6-18.8 | <u>5.2</u> 2.5-12.0 | 60 |

Valorile CCO_{Cr} în probele filtrate se deosebeau în diferite puncte de captare cu 3-7%, cu creșterea variației în lacul de acumulare de la Dubăsari. Cantitatea de carbon organic (C_{org}) în probele nefiltrate varia între 3,0 și 15,4 mg/l, având valoarea medie de 6,0-6,6 mg/l. În probele filtrate parametrul C_{org} varia între 0,4 și 7,5 mg/l. La Naslavcea în probele de apă se înregistrau în medie 7,6 mg/l de substanțe organice în formă dizolvată, apoi conținutul acestora se micșora până la 7,0 mg/l la Cosăuți, iar la barajul de la Dubăsari se observa o creștere de conținut al acestora până la 7,8-8,2 mg/l (Tab.1). În ceea ce privește conținutul mediu multianual al substanțelor organice în formă suspendată, se poate constata că concentrațiile acestora se mențineau la același nivel. Conținutul substanțelor organice dizolvate ponderate la conținutul total de S.O. constituia 58-62% (Tab.1).

Prin urmare, analiza rezultatelor obținute denotă că pe porțiunea Nistrului între s. Naslavcea și barajul de la Dubăsari se conturează două sectoare diferite în ceea ce privește conținutul substanțelor organice. Porțiunea nereglată a râului, de la Naslavcea până la Cosăuți, se caracteriza prin concentrații medii multianuale mai joase și variații mai mici ale conținutului de substanțe organice în apă. A fost detectată micșorarea conținutului de S.O. la Cosăuți, comparativ cu Naslavcea, ceea ce indică la realizarea proceselor de autopurificare a apelor râului. Acest fenomen poate fi explicat prin faptul că barajul-tampon de la Naslavcea a schimbat parametrii hidraulici ai râului și a micșorat viteza de curgere a apei. În rezervorul de acumulare de la Dubăsari concentrația substanțelor organice în apă creștea din cauza vitezei scăzute de curgere a apelor din râu, creșterii temperaturii apelor, creării condițiilor favorabile pentru dezvoltarea fitoplanctonului și activizării proceselor de formare și destrucție ce determină creșterea în apă a conținutului de substanțe organice. La creșterea conținutului de substanțe organice pe această porțiune puteau să contribuie și apele de șiroire de pe suprafața solului (Fig.1).

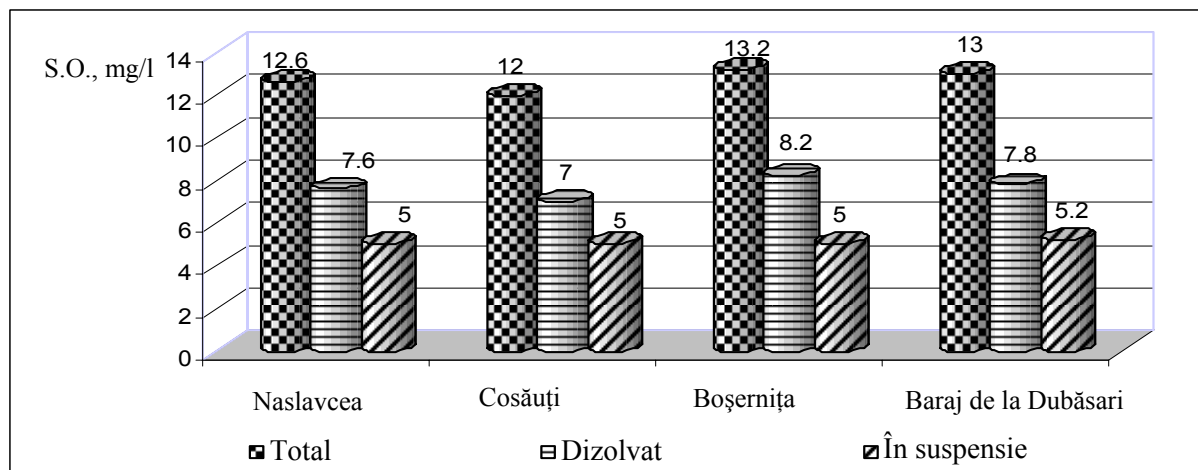


Fig.1. Conținutul mediu multianual al substanțelor organice în apele Nistrului în perioada anilor 2003-2010.

Analiza variației spațiale a concentrației substanțelor organice pe sectorul studiat denotă caracterul diferit de fluctuații ale acestora funcție de porțiunea râului (Fig.2). Conform parametrilor CCO_{Mn} și CBO_5 , la intrarea apelor pe teritoriul Republicii Moldova și pe parcursul sectorului nereglat (Naslavcea-Cosăuți) apele se caracterizau ca moderat poluate, spre deosebire de sectorul reglat al râului (Boșernița-Dubăsari), unde apele se atribuiau la categoria apelor poluate [3,4]. Parametrul CCO_{Mn} pe segmentul studiat avea valori între 2,1 și 8,2 mgO/l și varia în medie pe prize de captare de la 4,2 până la 4,8 mgO/l.

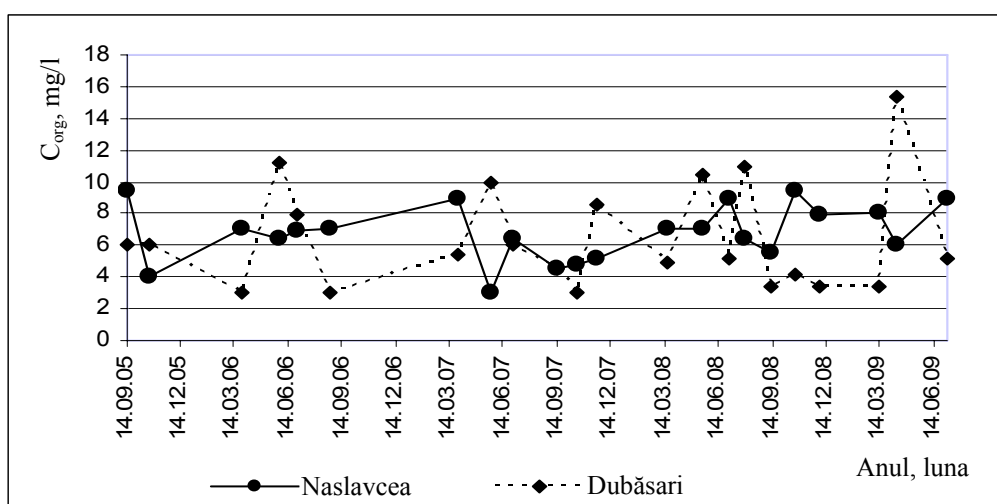


Fig.2. Dinamica multianuală și spațială a conținutului de substanțe organice în apele Nistrului.

Pentru perioada de studiu a fost determinat raportul dintre CCO_{Mn} și CCO_{Cr} , care demonstrează că ponderea substanțelor humice constituia în medie 25-27% din totalitatea substanțelor organice, cu creșterea neesențială spre rezervorul de acumulare de la Dubăsari. Acest fapt indică dominanța în apele râului a proteinelor și lipidelor (substanțe organice proaspăt formate de tip alifatic) (Tab. 2) [5]. Raportul CCO_{Mn}/C_{org} pe parcursul investigațiilor s-a menținut în limitele 0,7-1, ceea ce caracterizează dominanța substanțelor organice netransformate provenite din plancton, care posedă stabilitate biochimică avansată (Tab. 2).

Tabelul 2

Conținutul mediu multianual și variația cantitativă și calitativă a substanțelor organice în apele râului Nistru

| Priza de captare | CCO_{Mn} mgO/l | CBO_5 , mg O ₂ /l | $\frac{CCO_{Mn}}{CCO_{Cr}}$ % | $\frac{CCO_{Mn}}{C_{org}}$ | $\frac{CBO_5}{CCO_{Mn}}$ % | $\frac{CBO_5}{C_{org}}$ | $\frac{CBO_5}{CCO_{Cr}}$ % |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Naslavcea | 4.3 ± 1.64 2.5-8.2 | 2.9 ± 0.2 1.4-6.0 | 25 | 0.7 | 67 | 0.5 | 17 |
| Cosăuți | 4.2 ± 1.65 2.1-7.5 | 3.1 ± 0.4 1.4-5.9 | 26 | 0.7 | 74 | 0.5 | 19 |
| Boșernița | 4.8 ± 0.69 2.9-6.8 | 3.5 ± 0.9 1.5-7.0 | 27 | 0.7 | 79 | 0.6 | 21 |
| Barajul Dubăsari | 4.7 ± 0.28 2.2-7.8 | 3.4 ± 0.43 1.2-7.6 | 27 | 0.7 | 77 | 0.6 | 21 |

În apele Nistrului au fost depistate cantități sporite de substanțe organice biodegradabile. Pe tot sectorul studiat valorile medii multianuale ale acestor substanțe, determinate cu ajutorul parametrului CBO_5 , depășeau CLA. A fost observată creșterea acestor substanțe de la 2,9 mgO₂/l până la 3,4-3,5 mgO₂/l pe parcursul curgerii râului de la Naslavcea până la Dubăsari. Parametrul CBO_5 a variat în timp în diapasonul larg între 1,22 și 7,66 mgO₂/l. Deseori, valorile CLA au fost depășite și a fost depistată trecerea apelor din categoria apelor moderat poluate în ape poluate. La Naslavcea în peste 40% din probe a fost depistată depășirea normelor admise

pentru CBO_5 în apele naturale. Gradul de poluare a apelor cu substanțe biodegradabile crește spre Dubăsari: în punctul de prelevare la Cosăuți 55% din probe analizate au avut valorile CBO_5 care depășesc CLA, la Boșernița și barajul de la Dubăsari în 70-74% din cazuri a fost înregistrată depășirea valorilor limite admisibile. Ponderea substanțelor organice ușor degradabile în apele Nistrului constituia 17-21% din cantitatea totală de S.O. (Tab.2).

Dinamica multianuală a C_{org} și a parametrului CBO_5 în apele rezervorului de la Dubăsari se caracteriza prin fluctuații pronunțate, spre deosebire de CBO_5 în punctul de captare de la Naslavcea, unde el a fost destul de stabil (Fig.3).

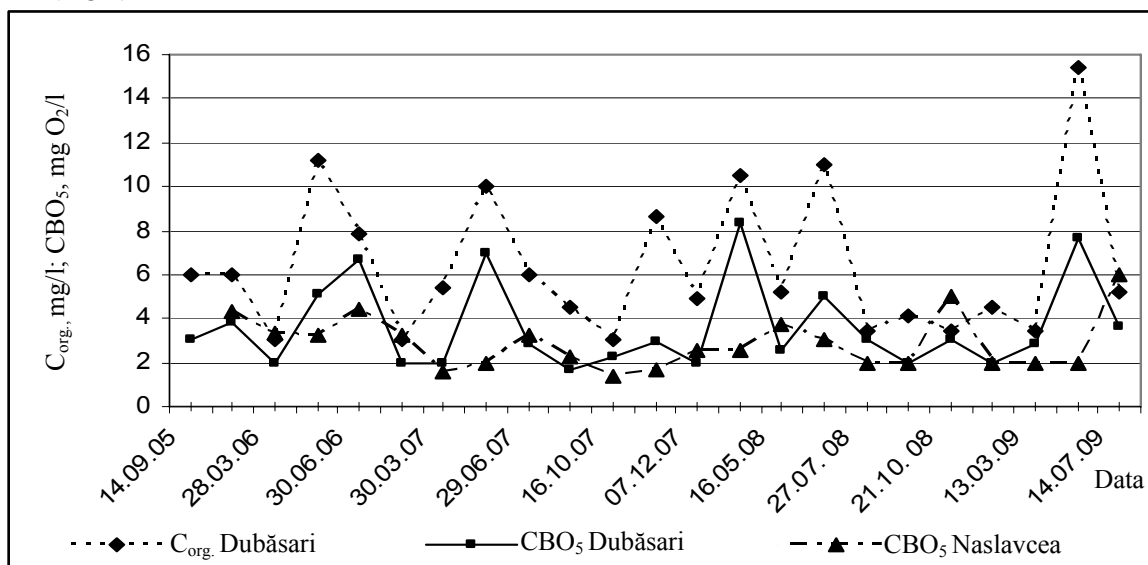


Fig.3. Dinamica parametrilor CBO_5 și C_{org} în apele Nistrului în diferite prize de captare.

Pentru a stabili asocierea parametrilor CBO_5 și C_{org} , a fost determinat gradul de corelație între ei, care a demonstrat o dependență liniară ce poate fi redată prin ecuația matematică: $CBO_5 = 0,505 \cdot C_{org} + 0,427$, cu $R^2 = 0,7$.

În apele Nistrului pe segmental studiat a fost depistată dinamica sezonieră a conținutului de substanțe organice. Acest fenomen este mai puțin pronunțat pe porțiunea Naslavcea-Cosăuți din cauza schimbărilor legităților naturale de formare a regimului hidrologic după construcțiile hidrotehnice pe teritoriul Ucrainei. Conținutul total de carbon organic în probele de apă de la Naslavcea nu a suferit schimbări sezoniere esențiale și a constituit 6,6 mg C_{org} /l în perioada de iarnă, 6,5-6,7 C_{org} /l în perioada de primăvară și vară și 6,1 C_{org} /l toamna. În probele prelevate la Cosăuți conținutul mediu multianual maximal al carbonului organic a fost înregistrat primăvara, iar valorile medii minimale – în perioada de vară și toamnă.

În rezervorul de acumulare de la Dubăsari a fost înregistrată o dinamică sezonieră mai pronunțată a parametrului studiat. În acest punct de prelevare conținutul total de substanțe organice, determinat după valoarea C_{org} , creștea semnificativ primăvara și vara datorită dezvoltării intensive a fitoplanctonului și apoi se micșora până la valorile minimale toamna ca rezultat al morții acestuia. Conținutul substanțelor organice în perioada de iarnă pe tot segmentul studiat a fost determinat de fluxul de apă ce pătrunde la Naslavcea din partea ucraineană. Analiza dinamicii sezoniere a conținutului substanțelor organice nedegradabile biochimic, determinate cu ajutorul parametrului CCO_{Mn} , denotă că cantitatea minimală a acestora se înregistrează în perioada etiajului de vară, iar cea maximală – toamna, ca rezultat al morții fitoplanctonului și sedimentării acestuia.

Analiza dinamicii conținutului de substanțe biodegradabile (după parametrul CBO_5) demonstrează tendințe sezoniere similare în toate punctele de prelevare a probelor, însă conținutul acestor substanțe pe parcursul curgerii este diferit. În porțiunea Naslavcea-Cosăuți parametrul CBO_5 avea valorile maxime primăvara și apoi ușor se micșora vara și toamna. În rezervorul de la Dubăsari se înregistrau valori absolute mai mari, fiind maxime primăvara și vara și minime iarna.

Concluzii

Rezultatele cercetărilor hidrochimice ale apelor râului Nistru în porțiunea s. Naslavcea – barajul rezervorului de acumulare de la Dubăsari în perioada anilor 2003-2015 denotă că substanțele organice constituiau

componenții permanenți ai apelor. Conținutul acestora varia funcție de sezon și segmentul fluviului. Printre factorii de bază ce influențează regimul substanțelor organice se evidențiază pătrunderea alohtonă cu apele de pe teritoriul Ucrainei, condițiile climatice și hidraulice ale regiunii, poluarea bazinului hidrografic al râului, formarea substanțelor organice autohtone ca rezultat al proceselor de producere și destrucție în rezervolul de acumulare de la Dubăsari.

Pe teritoriul Republicii Moldova (s. Naslavcea) substanțele organice pătrundeau în formă dizolvată și suspendată. Conținutul formelor dizolvate constituia cca 60% din cantitatea totală a acestora. Fluxul de apă conținea substanțe organice proaspăt formate de natură alifatică, substanțe humice, precum și cele ce se supun degradării biochimice. După conținutul substanțelor organice, apele în acest punct de cercetare varia de la cele pure la cele moderat poluate și poluate [5]. Consumul chimic de oxigen în acest punct de captare a variat în limitele 8-25 mgO/l, conținutul de carbon organic – între 3,0 și 9,4 mg/l, oxidabilitatea permanganatometrică și consumul biochimic de oxigen, corespunzător, între 2,5-8,2 mgO/l și 1,4-6,0 mgO₂/l. Parametrul CBO₅ depășea CLA în 41% din cazuri.

Pe parcursul curgerii apelor spre aval, nivelul de poluare a apelor cu substanțe organice se majora, mai ales în ceea ce privește conținutul substanțelor organice biodegradabile. Valorile CBO₅ în apele rezervorului de la Dubăsari în 70-74% din cazuri depășeau limitele admisibile și constituiau 3,6-3,8 mgO₂/l. Ponderea substanțelor biodegradabile în rezervorul de acumulare creștea până la 60%.

Porțiunea cercetată a râului după particularitățile formării regimului substanțelor organice convențional poate fi divizată în două sectoare, ce se deosebesc după conținutul calitativ și cantitativ al acestora, precum și după gradul de poluare a apelor. Pe teritoriul Republicii Moldova pătrundeau ape nistrene poluate după parametrii C_{org}, CCO_{Mn}, CBO₅. Pe parcursul curgerii spre rezervorul de acumulare de la Dubăsari a fost observată poluarea suplimentară a apelor cu substanțe organice, ceea ce a contribuit la diminuarea calității apelor.

Referințe:

1. GOREACEVA, N., GLADCHI, V., BUNDUCHI, E., ȘURÎGHINA, O. Dinamica calității apelor Nistrului de Mijloc. În: *Studia Universitatis. Seria „Științe ale naturii”*, 2011, nr.1(41), p.167-175. ISSN 1857-1735
2. *Руководство по химическому анализу вод суши*. Ленинград: Гидрометеиздат, 1977. 541 с.
3. *Органические вещества природных вод*. Disponibil: <http://www.ecolife.org> (Accesat: 25.02.2016).
4. *Критерии загрязнённости вод*. Disponibil: www.ievdrass.ru (Accesat: 12.03.2016).
5. СКОПИНЦЕВ, Б.А., ГОНЧАРОВА, И.А. Использование значений отношений различных показателей органического вещества природных вод для его качественной оценки. В: *Современные проблемы региональной и прикладной гидрохимии*. Ленинград: Гидрометеиздат, 1987.

Notă: Cercetările au fost efectuate în cadrul proiectelor: 06.411.040A „Procesele redox catalitice și tehnologii mai pure în mediul ambiant”; 09.832.08.06A „Rolul afluenților asupra formării calității apelor fluviului Nistru și studiul calității apei izvoarelor/cișmelelor din bazinul Nistrului ca surse de alimentare cu apă și pentru irigare”; MOG1-3055-CS-03 (CRDF/MRDA) „Studiul stării redox a apelor fluviului Nistru”; 11.817.08.46A „Studiul proceselor ecochimice și elaborarea tehnologiilor de tratare a mediului ambiant”; 11.832.08.08A „Rolul afluenților în formarea compoziției chimice a apelor fluviului Nistru și izvoarelor din bazinul r.Nistru ca ecosisteme naturale și surse de apă potabilă și pentru irigare”; 15.817.02.35A „Elaborarea procedeelelor de epurare a apelor reziduale de poluanți greu biodegradabili și compoziția, autopurificarea chimică, posibilități de valorificare a apelor din bazinul Nistrului de Jos”.

Prezentat la 01.11.2016

CZU: 543.3: 541.11(478)

ТЕРМИЧЕСКИЙ РЕЖИМ ВОД ТРАНСГРАНИЧНОГО УЧАСТКА ДНЕСТРА

Нелли ГОРЯЧЕВА, Виорика ГЛАДКИЙ, Елена БУНДУКИ

*Научный Центр прикладной и экологической химии
Молдавский государственный университет*

Статья посвящена формированию современного температурного режима днестровских вод и оценке влияния на него Днестровского гидроэнергетического комплекса. Выявлена неоднородность температурных показателей вод на молдавском участке реки. Проведен сравнительный анализ современных и ретроспективных данных.

Ключевые слова: *термический режим, температурные показатели, пространственно-временная изменчивость, сезонная динамика, русловой поток, водохранилище.*

REGIMUL TERMIC AL APELOR NISTRULUI PE SEGMENTUL TRANSFRONTALIER

În articol sunt analizate legăturile formării regimului termic al apelor râului Nistru, fiind estimată influența complexului hidrotehnic de la Novodnestrovsk. Este evidențiată neomogenitatea termică a apelor râului pe teritoriul Republicii Moldova, fiind analizate datele actuale și retrospective.

Cuvinte-cheie: *regim termic, schimbări temporale, dinamică sezonieră, curs de apă, bazin de acumulare.*

THERMAL REGIME OF WATER ON TRANS-BORDER LEVEL OF DNISTER

The article is devoted to the formation of the modern temperature regime of the Dniester waters and assessment of the impact of the Dniester hydroelectric complex. It is revealed heterogeneity of temperature indicators of the waters on the Moldovan part of the river. It was made a comparative analysis of current and retrospective data.

Keywords: *the thermal regime, temperature indicators, spatial and temporal variability, seasonal dynamics, the riverbed stream, tank.*

Введение

Термический режим природных вод является важным фактором, в значительной степени формирующим качество водных ресурсов, интенсивность развития и видовой состав гидробионтов, скорость химико-биологических процессов самоочищения вод. Закономерные внутригодовые и многолетние естественные колебания температуры природных вод предопределяются физико-географическими условиями водосборного бассейна – балансом тепла и влаги, зависящим от климата, гидравлических и морфологических особенностей водного объекта. Техногенный прессинг водных ресурсов способен изменить их качество.

В современных условиях после сооружения в Украине Днестровского гидроэнергетического комплекса (ДГЭК), включающего каскад водохранилищ, водный сток Днестра считается практически полностью зарегулированным [1]. Он искусственно регулируется постоянными сбросами из Днестровского водохранилища через турбины ГЭС-1 или водосливы в нижний бьеф, в буферный водоём. Турбины ГЭС-1 заглублены до придонных горизонтов, температура которых постоянна и составляет в среднем 6°C – 8°C, что на 10 – 12° ниже, чем на поверхности. Проходя транзитом 19,8 км по буферному водохранилищу, начинающемуся сразу за плотинкой Днестровского водохранилища, водный сток через плотину ГЭС-2 входит на территорию Молдовы – в Наславчу, но при этом водные массы не успевают прогреваться или охлаждаться до естественных температурных показателей, поскольку водоём характеризуется большой проточностью и скоростями течения, достигающими 2,5 м/с [2]. Это обусловило термическое загрязнение днестровских вод, которое прослеживается до Дубоссарского водохранилища, а при больших объемах попусков достигает низовий реки [3].

Нарушение естественного термического режима Днестра негативно сказывается на развитии гидробионтов, обуславливает снижение разнообразия и изменение внутригодовой динамики фито- и зоопланктона, зообентоса, предопределяет задержку нереста и развития рыб [4 – 7].

Предстоящее введение в эксплуатацию Днестровской гидроаккумулирующей электростанции (ДГАЭС), граница которой соприкасается с государственной границей Молдовы, вероятнее всего

усилит негативное трансграничное воздействие на экологическую систему реки в пределах территории Республики Молдова. В связи с этим важно создать базу данных физико-химических показателей вод Днестра до полного завершения строительства ДГАЭС.

Цель исследований – изучить формирование современного термического режима днестровских вод трансграничного молдавского участка Среднего Днестра и оценить влияние на него Днестровского гидроэнергетического комплекса Украины.

Методы исследования

Объектом изучения являлся молдавский участок Среднего Днестра – от Наславчи до плотины Дубоссарской ГЭС, протяжённостью 310 км. Определения температуры днестровской воды проводили в полевых условиях при отборе проб для химических анализов 4 – 8 раз в году в период 2003 – 2010 гг. Для определений были использованы полевые приборы – Hanna (Portugal), Оксиметр (Россия), рН-Eh-t⁰C-метр (WTW). Периодически контролировали измерения показателей погружным водяным термометром. Стандартными створами наблюдения являлись Наславча, Косэуцы, Бошерница, приплотинный участок Дубоссарского водохранилища [8].

Для сравнительного анализа использованы опубликованные ежегодные материалы регулярных наблюдений Государственной гидрометеорологической службы Республики Молдова в период, предшествовавший вводу в эксплуатацию Днестровской ГЭС-1 и Днестровского водохранилища. Для ретроспективного анализа были отобраны два характерных створа Днестра, практически совпадающих со створами современных исследований, – г. Сороки (8,8 км ниже паромной переправы в Косэуцах) и плотина Дубоссарского водоёма [9]. Многолетние материалы Государственной гидрометеорологической службы Республики Молдова предварительно подвергались систематизации по створам и статистической обработке по каждому из них с $n = \pm 48$.

Проведенные исследования показали, что в 2005-2010 гг. характер температурных флуктуаций днестровских вод, приходящих на территорию Республики Молдова в с. Наславча, предопределял ход температуры на всем трансграничном участке Среднего Днестра. По длине участка при одинаковом и практически синхронном многолетнем ходе температур воды наблюдалось различие между русловым потоком днестровских вод и аккумулярованным стоком в достижении максимумов. Воды Дубоссарского водохранилища характеризовались более высокими их значениями, что обуславливалось более быстрым их прогревом (Рис.1).

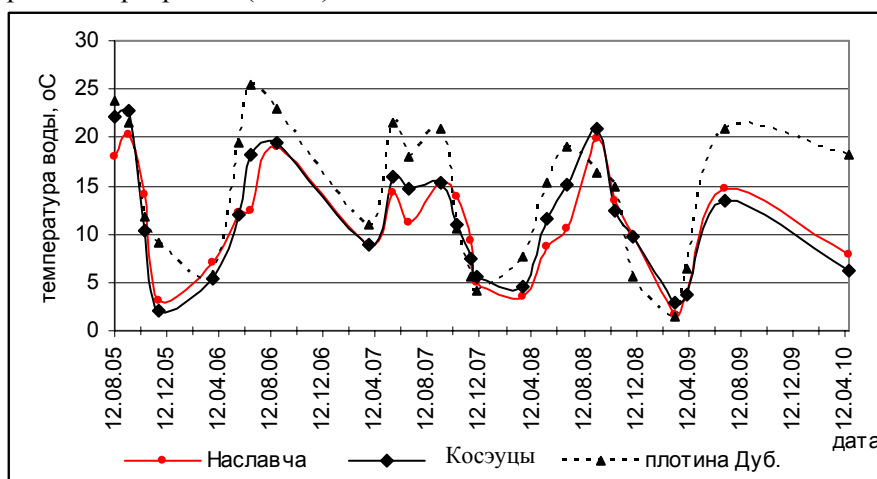


Рис.1. Хронологический ход температуры днестровских вод в 2005-2010 гг.

Максимальная температура приходящего из Днестровского водохранилища водного стока равнялась в среднем 21,1°C, минимальная составляла 1,6°C, нулевых показателей не наблюдалось. Через 90 км, в Косэуцах, диапазон многолетних колебаний температурного показателя отличался незначительно: максимальная температура в створе на 1,7°C превышала максимум в Наславче, достигая 22,8°C, а минимальная колебалась в пределах 2,0°C.

В Дубоссарском водоёме интервал изменчивости температурного показателя водных масс расширялся: в разные годы его максимумы превышали температуру входящего потока на 5°C и более (Рис.1).

Входящий сток определял и внутригодовую динамику температуры воды на остальном участке Днестра; изменчивость по месяцам наблюдалась по длине водотока синхронно. Низкие значения температуры воды отмечались в феврале, апреле, ноябре, декабре. С мая по сентябрь температура воды в створах постепенно повышалась, возрастая от Наславчи к плотине Дубоссарской ГЭС. Наиболее интенсивный процесс прогревания фиксировался в Дубоссарском водоёме на месяц раньше, чем на остальных створах (Рис.2). В осенние месяцы, в октябре-ноябре, происходило охлаждение водных масс, которое начиналось более резко сразу ниже Наславчи.

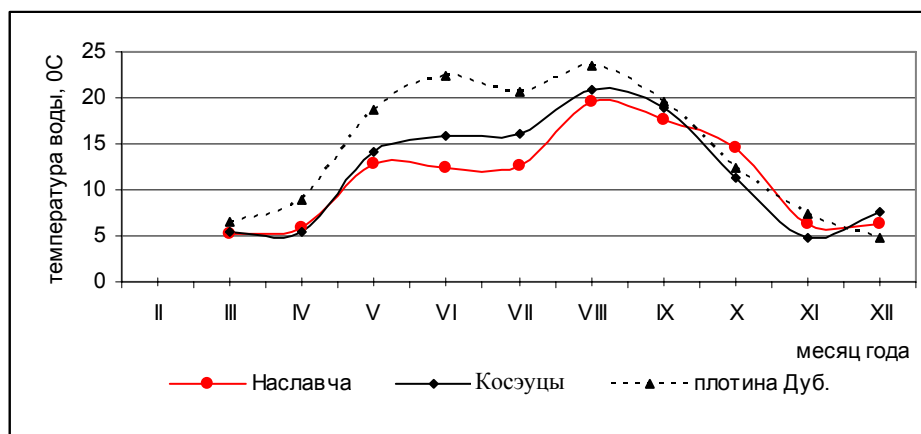


Рис.2. Внутригодовая изменчивость температуры днестровских вод в период 2005-2010 гг.

Сезонные изменения в общей сложности отражали особенность термики вод по месяцам и их динамику по длине молдавского участка Среднего Днестра. Зимой на входе в Молдову и на русловом участке реки до с.Косэуцы средние температуры воды составляли, соответственно, 6,0°C и 6,2°C, изменяясь практически с одинаковой амплитудой в интервалах 1,6 – 10,0°C и 2,0 – 9,7°C. В Дубоссарском водоёме температурные показатели отличались более низкими значениями и меньшими диапазонами колебания. В Бошернице температура воды зимой в среднем была 5,4°C и варьировала от 4,4 до 6,5°C, в самом глубоком месте водоёма – у плотины Дубоссарской ГЭС – она изменялась в интервале 4,1 – 5,6°C при средней за сезон 4,9°C. Весной в исходном створе и в русловом потоке (Наславча, Косэуцы) усредненная за сезон температура воды мало отличалась от зимней; в Дубоссарском водохранилище температура воды увеличивалась в среднем до 7,0 – 7,3°C (Табл.1). В летний период отмечался постепенный прогрев водных масс по направлению от исходного створа к Дубоссарской ГЭС. В приходящем в Наславчу стоке температурные показатели колебались в интервале 10,5 – 21,1°C, при средней за сезон 15,0°C. К створу Косэуцы вода в тёплый период года прогревалась в среднем до 16,7°C, варьируя в диапазоне 12,1°C – 22,8°C. В Дубоссарском водоёме – в Бошернице и у плотины, средние значения за сезон составляли 20,5°C – 20,6°C при интервалах колебания в Бошернице от 13,9 до 26,0°C и в приплотинной части водоёма от 15,7°C до 25,4°C. Осенью на изучаемом участке Днестра наблюдалось снижение температуры. На входе в Молдову и через 90 км, в русловой части водотока, в Косэуцах, показатели характеризовались одинаковыми средними значениями 11,5 – 11,6°C с более широким диапазоном варьирования в Наславче. В Дубоссарском водохранилище осенние температуры в среднем за многолетний период были ниже, чем в русловом течении Днестра, и составляли в Бошернице 9,5°C, перед плотинной ГЭС – 10,4°C (Табл.1).

Необходимо отметить наблюдавшиеся в 2005, 2006, 2007 и 2008 годах эпизодические резкие повышения летних температур днестровских вод, входящих в Наславчу. Они совпадали по времени со сбросами из Днестровского водохранилища больших объёмов стока, обусловленными необходимостью предполоводной и передпаводочной сработкими и для осуществления плановых экологических, репродукционных и санитарных попусков. Приходящий на большой скорости сток с высокой нехарактерной для Наславчи температурой около 20°C и следовавший за этим пропуск его через плотину в Дубоссарах обуславливали установление на некоторый период одинаковых температур воды на всём отрезке реки от Наславчи до плотины, что при расчётах отражалось на показателях средних температур. Предположительно случаи летних экстренных сбросов стока происходили на фоне изменения

режима эксплуатации Днестровского водохранилища, при котором увеличение сбросных объёмов происходило одновременно как с осуществлением попусков через гидротурбины ГЭС-1 из низкотемпературных придонных слоев, так и через водосливы плотины из поверхностных прогретых горизонтов. В тех случаях, когда прогретые слои по объему превосходили «холодный» приток, тепловые показатели вод, сбрасываемых в буферное водохранилище, берущее начало в нижнем бьефе Днестровского водохранилища, возрастали и с небольшими изменениями транзитом поступали в Наславчу. Небольшой по протяжённости (19,8 км) буферный водоём, характеризуясь высокой скоростью проходящего по нему днестровского потока (до 2,5 м/с) и «исключительной проточностью» с периодом водообмена до одних суток, обуславливал поступление сбросных вод в Наславчу без существенного изменения тепловых показателей, оказывая влияние на термический режим реки [2].

Таблица 1

Характеристика температурного режима днестровских вод на участке Среднего Днестра

| Створ наблюдения | Сезонная динамика, °С | | | | Средние годовые температуры воды варьирование в 2005-2010 гг. |
|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|---|
| | <i>зима</i> XII-II | <i>весна</i> III-IV | <i>лето</i> V-VIII | <i>осень</i> IX-XI | |
| Наславча | <u>6,0±2,12</u> 1,6-10,0 | <u>6,6±1,18</u> 1,6-9,0 | <u>15,0±0,86</u> 10,5-21,1 | <u>11,5±1,85</u> 3,2-15,2 | <u>12,4±0,98</u> 1,6-21,1 |
| Косэуцы | <u>6,2±1,63</u> 2,0-9,7 | <u>6,3±1,02</u> 2,8-9,0 | <u>16,7±1,24</u> 12,1-22,8 | <u>11,6±2,04</u> 7,5-12,5 | <u>12,5±1,24</u> 2,0-22,8 |
| Бошерница | <u>5,4±1,38</u> 4,4-6,5 | <u>7,0±1,40</u> 2,8-18,0 | <u>20,5±0,73</u> 13,9-26,0 | <u>9,5±2,23</u> 3,4-15,0 | <u>15,2±1,33</u> 2,8-26,0 |
| Перед плотинной Дубоссарской ГЭС | <u>4,9±0,48</u> 4,1-5,6 | <u>7,3±1,51</u> 1,5-11,6 | <u>20,6±0,60</u> 15,7-25,4 | <u>10,4±1,48</u> 5,5-14,8 | <u>15,6±1,23</u> 1,5-25,4 |

Влияние ДГЭК на температурные характеристики водных ресурсов прослеживалось на всём транзитном участке Среднего Днестра. В водах руслового потока повторялась внутригодовая и сезонная изменчивость термических параметров, характерных для вод, входящих в Наславчу, фиксировались сходные величины средних зимних, весенних, осенних значений температуры воды и средних годовых показателей за многолетний период наблюдений. Лишь в Косэуцах летний показатель превышал наблюдавшийся в Наславче на 1,7°С (Табл. 1).

Повышенная температура воды зимой, весной и осенью со сходными диапазонами колебаний во времени в Наславче и в русловом потоке Днестра формировалась под влиянием сработок из нижних горизонтов Днестровского водохранилища, температура которых (6 – 8°С) оказывалась выше природных сезонных климатических характеристик региона. Приходя в Наславчу, эти воды способствовали повышению тепловых показателей водного стока ниже начального створа. В Дубоссарском водоёме воды успевали охлаждаться. Температурные показатели зимних и осенних вод в среднем оказывались ниже русловых лишь на 1 – 1,6°С; летом водные массы прогревались в среднем до 20,5°С, что выше входящих на 4,8°С. Возрастание летних температурных показателей аккумулярованных вод обуславливалось как естественными, так и техногенными факторами. Акватория водоёма хорошо прогревалась в результате снижения скоростей течения и замедленного водообмена. Входящий из Днестровского водохранилища холодный приток, смешиваясь в водоёме с остаточными объемами прогретых водных масс, определял их усреднённый температурный фон.

Иными словам, воздействие эксплуатации ДГЭК на современный температурный режим водных ресурсов трансграничного участка Среднего Днестра проявлялось в увеличении средних сезонных температурных характеристик вод зимой, весной и осенью, что не соответствовало природно-климатическим условиям региона.

Анализ ретроспективных данных термического режима вод, формировавшегося в период 1977-1980 гг., до введения в эксплуатацию в Украине Днестровского гидроэнергетического комплекса

(ДГЭК), позволил выявить характерную особенность, сохраняющуюся по длине исследованной части Среднего Днестра.

В межгодовой и пространственной изменчивости температурных показателей днестровских вод от г. Сороки (8,8 км ниже с. Косэуцы) до приплотинного участка Дубоссарской ГЭС наблюдались их синхронные колебания. Многолетний ход температур воды обоих створов характеризовался одновременностью подъёмов/спадов и идентичностью их конфигурации (Рис.3).

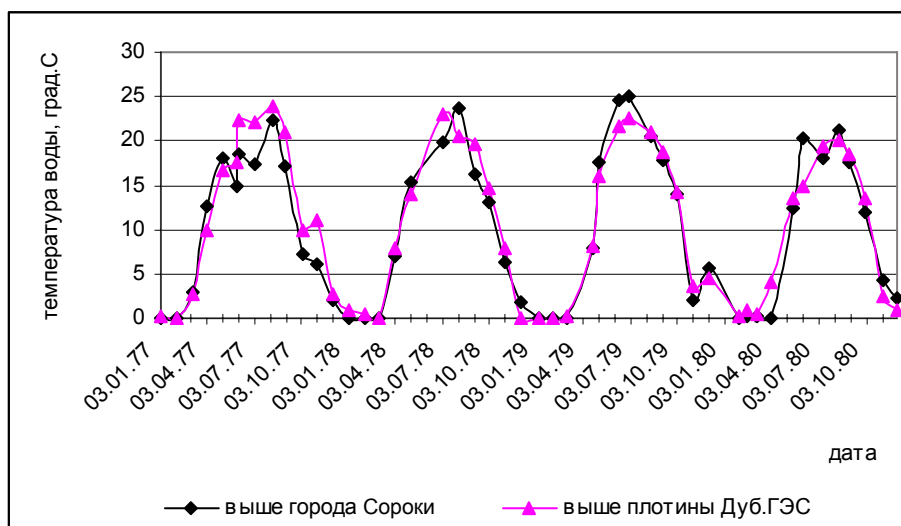


Рис.3. Межгодовая и пространственная изменчивость температурных показателей днестровских вод в 1977-1980 годах.

Внутригодовая температура вод изменялась от нулевых и низких значений, фиксируемых в декабре–январе–феврале; подъём происходил в марте; достижение максимального прогрева наступало летом в июле – августе. Начиная с середины сентября, отмечалось резкое охлаждение вод в русловом потоке и плавное в водных массах Дубоссарского водоёма. Динамика отражала сходство для вод обоих изученных створов (Рис.4).

В 1977-1980 гг. фиксировались весьма близкие по величине многолетние средние сезонные показатели температур днестровских вод на всем изучаемом участке реки от г. Сороки до плотины Дубоссарской ГЭС. Наименьшие и одинаковые для изученных створов характеристики наблюдались в зимнее и весеннее время года. Зимой они составляли 1,0°C и варьировали от нулевых значений до 4,6 – 5,7°C; весной при показателе 3,8°C – 3,9°C колебались от нулевых значений до 12,7°C (Табл. 2).

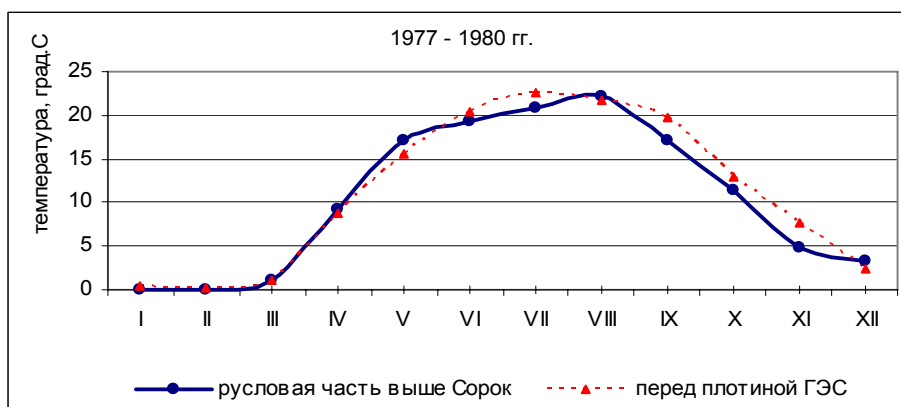


Рис.4. Внутригодовая изменчивость температурных показателей в 1977-1980 гг.

Летом по русловому участку проходили воды с температурой в среднем 18,9°C, в водохранилище она повышалась на 0,5°C и составляла 19,4°C. Осенью в русловом потоке происходило охлаждение

вод в среднем до 8,2°C. В Дубоссарском водохранилище водные массы остывали медленнее и их температура была на 1,5°C выше. В среднем за многолетний период (1977-1980 гг.) годовые температуры воды в г. Сороки и приплотинной части водохранилища отличались незначительно – на 0,6°C, составляя, соответственно, 10,5°C и 11,1°C (Табл.2.).

Синхронность и схожесть тепловых показателей вод, отмеченные при анализе данных 1977-1980 гг., позволили предположить, что до ввода в эксплуатацию ДГЭК температурный режим вод от Наславчи до плотины Дубоссарской ГЭС формировался в единой водной системе. Для неё были характерны одинаковый многолетний пространственный ход температур, схожие внутригодовые и сезонные показатели и диапазоны колебаний тепловых показателей вод, что предопределялось достаточной прочностью водного стока, обеспечиваемой режимом эксплуатации Дубоссарского водоёма.

Таблица 2

Сезонные средние значения и диапазоны варьирования температуры днестровских вод в период 1977-1980 гг.

| Створ | <i>Зима (декабрь- февраль)</i> | <i>Весна (март- апрель)</i> | <i>Лето (май- сентябрь)</i> | <i>Осень (октябрь- ноябрь)</i> | Среднегодовые температуры воды варьирование в 1977-1980 гг. |
|---|--|-------------------------------------|-------------------------------------|--|--|
| Русловый участок Днестра (8,8 км ниже с. Косэуцы) | <u>1,0±0,64</u> 0,0-5,7 | <u>3,9±2,05</u> 0,0-12,7 | <u>18,9±0,84</u> 14,8-24,5 | <u>8,2±1,86</u> 2,0-13,1 | <u>10,5±1,43</u> 0,0-24,5 |
| Дубоссарское водохр., 0,4км выше плотины | <u>1,0±0,53</u> 0,0-4,6 | <u>3,8±1,79</u> 0,0-10,0 | <u>19,4±0,74</u> 14,0-24,0 | <u>9,7±1,67</u> 3,7-14,7 | <u>11,1±1,45</u> 0,0-24,0 |

Выводы

Сравнение современных и ретроспективных многолетних данных позволило оценить влияние искусственного регулирования стока каскадом водохранилищ ДГЭК, а также режима эксплуатации Днестровского водохранилища, на термику Среднего Днестра. Это проявлялось в пространственной неоднородности температурных показателей вод, в несхожести межгодовой, внутригодовой и сезонной изменчивости температуры вод руслового участка и стока, аккумулируемого в Дубоссарском водоёме.

Выявлены различия в термическом режиме вод руслового и зарегулированного участков Днестра, обусловленные отличающимися гидродинамическими условиями и степенью влияния ДГЭК.

Русловый участок (Наславча – Косэуцы), расположенный в зоне непосредственного воздействия техногенного фактора, принимал неизменённый, входящий на большой скорости сток Днестровской ГЭС-1.

В Дубоссарском водоеме, в результате замедленного водообмена, скорости входящего потока гасились, происходило смешение поступающих вод с остаточными объемами аккумулированного стока. Эти факторы предопределяли температурные характеристики вод.

В современных условиях произошли изменения в температурном режиме днестровских вод. Зафиксировано увеличение значений сезонных температур с превалированием их зимой и осенью в водах русловой части реки. Зимой в русловом потоке и в Дубоссарском водоёме превышение составляло, соответственно, 5,2°C и 3,9°C, весной – 2,4°C и 3,5°C, осенью превосходило показатели 1977-1980 гг. на 3,4°C и 0,7°C. В настоящее время летний температурный показатель вод в русловой части реки по сравнению с ретроспективными данными снизился в среднем на 2,2°C и повысился в аккумулируемом стоке на 1,2°C.

Средние многолетние годовые температуры вод русловой и зарегулированной частей Среднего Днестра в настоящее время выше значений 1977-1980 гг. на 1,6-4,5°C соответственно.

Библиография:

1. ГОНТАРЕНКО, В.Н. Водные ресурсы р. Днестр сегодня. В: Тез. докл. Межд. конферен. «*Эколого-экономические проблемы Днестра*». Одесса: ИНВАЦ, 1997. 64-65 с.
2. ЯЦЫК, А.В., ТОМИЛЬЦЕВА, А.И. *Правила эксплуатации Днестровского водохранилища*. Киев: УНИИВЭП, 2006. 178 с.
3. ЗУБКОВ, Е. Влияние гидростроительства на экологическое состояние реки. В: *Akademос*, 2007, №(2-3), с.53-57. ISSN 1857-0461
4. ШАРАПАНОВСКАЯ, Т.Д. *Экологические проблемы Среднего Днестра*. Кишинев: Экологическое общество «Биотика», 1999. 88 с. ISBN 9975-78-025-3
5. ЧЕПУРНОВА, Л., ТОДЕРАШ, И., ШАПТЕФРАЦЬ, И. Регресс, сукцессия и адаптация популяций рыб в приплотинном участке Дубоссарской ГЭС. В: *Analele Științifice ale USM*. Seria: „Științe ale naturii”. Chișinău, CEP USM, 2002, с.101-105. ISBN 9975-70-145-0
6. БРУМА, И.Х., УСАТЫЙ, М.А., ШАРАПАНОВСКАЯ, Т.Д. Изменение ихтиофауны Среднего Днестра под воздействием Днестровского гидроузла. В: *Эколого-экономические проблемы Днестра*. Одесса: ИНВАЦ, 1997, с.28-30.
7. ГУЛЯЕВА, О.А. О влиянии Днестровского энергетического комплекса на температурный и кислородный режимы Днестра. В: *Managementul bazinului transfrontalier Nistru în cadrul noului acord bazinal*: Conf. intern. Chișinău: Eco-Tiras, 2013, с.77-82.
8. GOREACEVA, N., GLADCHI, V., BUNDUCHI, E., BORODAEV, R., MARDARI, I. Ионный состав и жесткость вод среднего Днестра. В: *Revistă științ. Studia Universitatis*. Seria „Științe ale naturii”. Chișinău, CEP USM, 2007, nr.1, p.233-339. ISSN online 1857-498X
9. *Государственный водный кадастр. Поверхностные воды*. Серия 2. Ежегодные данные о качестве поверхностных вод суши 1977-1980 гг. Кишинев. Молд.респ. управление по гидрометеорологии и контролю природной среды.

Примечание: Исследования были проведены в рамках проектов 06.411.040A „*Procesele redox catalitice în tehnologii mai pure și mediul ambiant*”; 09.832.08.06A „*Rolul afluenților asupra formării calității apelor fluviului Nistru și studiul calității apei izvoarelor/cișmelelor din bazinul Nistrului ca surse de alimentare cu apă și pentru irigare*”; MOG1-3055-CS-03 (CRDF/MRDA) „*Studiul al stării redox a apelor fluviului Nistru*”; 11.817.08.46A „*Studiul proceselor ecochimice și elaborarea tehnologiilor de tratare a mediului ambiant*”; 11.832.08.08A „*Rolul afluenților în formarea compoziției chimice a apelor fluviului Nistru și izvoarele din bazinul r.Nistru ca ecosisteme naturale și surse de apă potabilă și pentru irigare*”.

Prezentat la 01.11.2016

CZU: 543.3: 577.354: 574.633

FOTOLIZA DIRECTĂ A CISTEINEI ȘI TIOUREEI ÎN SOLUȚII APOASE

Angela LIS

Universitatea de Stat din Moldova

A fost studiată fotoliza directă în soluții apoase a tioureei (TU) și cisteinei pe sisteme model cu scopul de a estima rolul lor în procesele ce decurg în apele naturale. S-a constatat că atât tioureea, cât și cisteina se supun fotolizei directe la iradiere cu diferite surse de lumină artificială. Din rezultatele obținute se poate afirma că viteza de oxidare a acestor tioli depinde direct proporțional de concentrația inițială a tiolului în sistem, precum și de spectrul de emisie al lămpii. Au fost determinate randamentele cuantice ale tioureei și cisteinei cu ajutorul actinometrului chimic ferioxalatul de potasiu ($K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$). S-a constatat că randamentul cuantic al TU este cu mult mai mare ca unitatea, ceea ce denotă că în procesul de distrugere a tioureei doar la etapa inițială are loc reacția fotochimică, care este urmată de reacții chimice, posibil radicalice. Deci, TU poate fi inițiator al reacțiilor de autopurificare chimică în apele naturale.

Cuvinte-cheie: tioli, cisteină, tiouree, actinometru chimic, randament cuantic, fotoliză directă.

DIRECT PHOTOLYSIS OF THE CYSTEINE AND THIOUREA IN AQUEOUS SOLUTIONS

It was studied direct photolysis in aqueous solutions of the thiourea and cysteine on the model system in order to estimate their role in the processes arising in the natural waters. It has been found that both of them, thiourea and cysteine, have been subjected to direct photolysis at irradiation with different artificial light sources. From the results obtained it was found that oxidation rate of these thiols depends directly proportional to the initial concentration of thiol in the system and the emission spectrum of the lamp. There were determined quantum yields of thiourea and cysteine using chemical actinometer $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$. It was found that the quantum yield of thiourea is much greater than unity, which shows that on the destruction of thiourea only at the initial stage occurs photochemical reaction, which is followed by chemical reactions, possibly radical reactions, so thiourea can be the initiator of chemical self-purification reactions in the natural waters.

Keywords: thiols, cysteine, thiourea, chemical actinometer, quantum yield, direct photolysis.

Introducere

Apa constituie un element fundamental al mediului ambiant, fără de care este de neconceput viața pe Pământ și, totodată, o resursă naturală principală cu un rol multiplu în viața economică. În acest context, prezintă un obiect de studiu extrem de important pentru cercetători din diferite domenii. Obiectele acvatice fiind mediu de viață pentru hidrobionți, deseori pot fi folosite și ca sursă pentru alimentare cu apă potabilă a populației și pentru alte necesități din activitatea umană, de aceea studiul calității apelor are un caracter atât științific, cât și aplicativ [1,2, p.118].

Apele naturale au proprietatea de a se regenera permanent, datorită capacității de autopurificare, care include totalitatea proceselor biologice, chimice și fizice, însă apele naturale sunt limitate. Rezervele de apă se micșorează an de an din cauza poluării acestora. Analiza proceselor de autopurificare chimică denotă că ele decurg mai eficient în prezența radiațiilor solare, esențiale fiind radiațiile UV. Radiațiile solare au o importanță deosebită pentru ecosistemele acvatice (în procesele biologice ca fotosinteza, sinteza nutrienților sub forme disponibile). Ele afectează ciclurile biogeochimice ale carbonului, azotului, fosforului și sulfului, precum și pot iniția diferite procese fotochimice, care duc la transformările poluanților din obiectele acvatice [3, p.317].

În compoziția apelor naturale intră un număr mare de substanțe organice dizolvate. Unele reprezintă produși organici naturali din ape, iar altele pătrund în bazinele acvatice cu apele de șiroire. Un grup de substanțe organice prezente în apele naturale sunt substanțele tiolice, care pot fi convențional divizate, după proveniența lor, în două subgrupuri principale. Primul subgrup include substanțele tiolice care participă la metabolismul hidrobionților, de exemplu – cisteina și glutatoniul [3]. Cel de-al doilea subgrup este reprezentat de substanțele care apar în apele naturale ca rezultat al impactului antropogen asupra mediului. În calitate de astfel de substanțe poate fi tioureea ce se utilizează la sinteza diferitelor substanțe, în industria fertilizanților și insecticidelor, vopselelor, coloranților și maselor plastice, precum și acidul tioglicolic care pătrunde în mediul acvatic din industria prelucrării pielii. Prezența lor în obiectele acvatice este nedorită, deoarece duc la inhibarea proceselor de autopurificare chimică a apelor [4].

Pentru elucidarea legităților fotolizei directe a unor tioli în apele naturale au fost efectuate investigații pe sisteme model. Studiul mecanismelor de transformare a substanțelor pe sisteme-model permite a explica procesele ce au loc în ecosistemele naturale și a propune metode de diminuare a poluării acestora.

În calitate de poluanți au fost selectați doi tioli: tioureea, care pătrunde în apele naturale cu apele de șiroire și cu apele reziduale de la industria fertilizanților și insecticidelor, vopselelor, coloranților și maselor plastice, și cisteina, care se formează în mediul acvatic în rezultatul proceselor biochimice. Respectiv, este necesară evaluarea impactului acestor tioli asupra proceselor de poluare și autopurificare a apelor naturale.

În rezultatul investigațiilor a fost determinat experimental rolul acestor tioli pe sisteme modelate și estimată contribuția fotolizei directe în totalitatea proceselor de autopurificare chimică a apelor în prezența lor.

Material și metode

Ca obiecte de studiu au servit doi tioli, unul de origine autohtonă – cisteina și unul de origine alohtonă – tioureea.

În calitate de surse de lumină artificială au fost folosite următoarele lămpi:

- lampa DRT-400 – emană radiații cu $\lambda = 240-440$ nm;
- lampa ce emană radiații monocromatice cu $\lambda = 254$ nm sau $\lambda = 365$ nm;
- simulator *Solar Oriel Model 9119X*, care este înzestrat cu trei filtre diferite, emite spectrul radiațiilor solare similar diferitelor condiții reale.

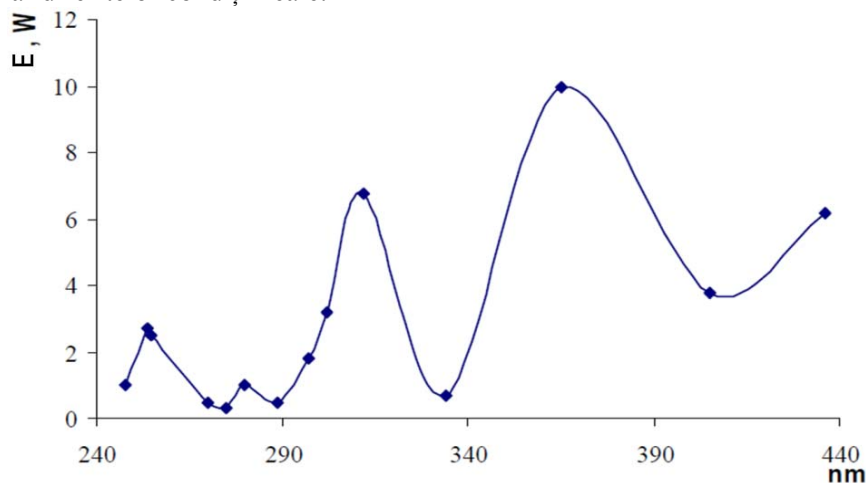


Fig.1. Spectrul de emisie al lămpii DRT-400.

În Figura 1 este prezentat spectrul de emisie al lămpii **DRT-400**, care emite radiații de la 240-440 nm, cu un maxim de emisie între 340 și 400 nm.

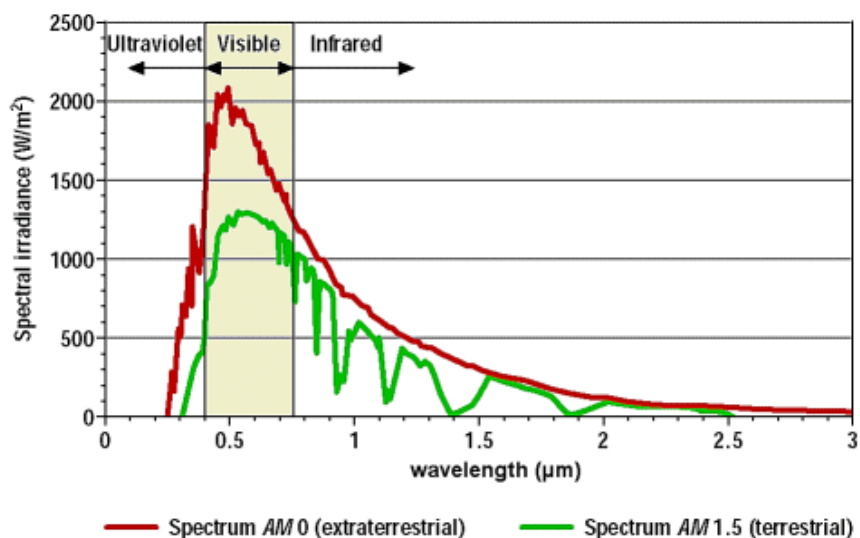


Fig.2. Spectrele de emisie ale lămpii Simulatorului Solar Oriel Model 9119X, în prezența filtrelor AM0 și AM 1.5.

Pentru modelarea sistemelor fotochimice, care să fie cât mai apropiate de condițiile naturale, ca surse de radiații se folosesc Simulatoarele Solare, care sunt înzestrate cu mai multe filtre și emit spectrul radiațiilor solare similar diferitelor condiții reale (Fig.2). În prezentul studiu a fost folosit Simulatorul Solar Oriel Model 9119X înzestrat cu trei filtre:

- ✓ Filtrul Atmospheric Attenuation (81017) – emite radiații la nivelul atmosferei și blochează radiațiile cu $\lambda \leq 290$ nm;
- ✓ Filtrul UVB/C Blocking (81050) – blochează radiațiile UVB (280-320 nm) și UVC (<280 nm).
- ✓ Filtrul UVC Blocking (81051) – blochează radiațiile UVC (<280 nm).

Sinteza actinometrului chimic

Pentru prepararea cristalelor de ferioxalat de potasiu se amestecă 3 volume de $K_2C_2O_4$ (1,5 M) și 1 volum de $FeCl_3$ (1 M). Cristalele obținute se recristalizează de trei ori la 45°C (apă caldă bidistilată); aceste cristale trebuie păstrate la întuneric. Pentru actinometru se prepară soluție de ferioxalat de potasiu de 0,006 M, 0,012 M și 0,015 M.

Pe lângă soluția de actinometru, pentru efectuarea măsurării intensității mai este nevoie de următoarele soluții:

- a) H_2SO_4 0,1N;
- b) soluție apoasă de 0,1% 1,10-fenantrolină;
- c) soluție tampon: 600 ml acetat de natriu (1N) + 360 ml H_2SO_4 (1N) + apa până la 1l.

Determinarea intensității luminoase [6]

Un volum (V_1) de soluție de actinometru se iradiază într-un interval de timp (t). După aceea se ia un volum de soluție iradiată (V_2 – de obicei, 1 ml) și se trece într-un balon cotat cu volumul $V_3 = 25$ ml, unde se adaugă $(10 - V_2)$ ml acid sulfuric de 0,1N, 2 ml soluție apoasă de 1,10-fenantrolină de 0,1% și 5 ml soluție tampon (pregătită după punctul c)).

Volumul se aduce cu apă distilată la cotă, se agită și se lasă la întuneric timp de 30 de minute, pentru ca sistemul să vină în echilibru. În continuare se măsoară densitatea optică a soluției în care s-a format compusul complex dintre fierul bivalent și 1,10-fenantrolină.

Cantitatea ionilor de Fe^{2+} formați se calculează după formula:

$$N_{Fe^{2+}} = 10^{-3} \frac{V_1 \cdot V_3 \cdot D}{V_2 \cdot \varepsilon \cdot l},$$

unde: V_1 – volumul soluției de actinometru iradiat, ml;

V_2 – volumul soluției de actinometru iradiat, ml, luat în determinare;

V_3 – volumul final, până la care se diluează V_2 , ml;

D – densitatea optică a soluției cu complex la 510 nm;

ε – coeficientul de extincție la 510 nm, egal cu $1,11 \cdot 10^4$ $M^{-1} \cdot cm^{-1}$;

l – grosimea cuvei, cm.

Deci, intensitatea luminii se va calcula după formula:

$$I = 10^{-3} \frac{V_1 \cdot V_3 \cdot D}{V_2 \cdot \varepsilon \cdot l \cdot \Phi \cdot t},$$

unde: Φ – randamentul cuantic al ferioxalatului de potasiu.

Intervalul de iradiere (t) se ia de obicei în așa mod ca schimbarea densității optice să constituie 0,1–0,6 unități. Pentru o exactitate mai mare, de obicei, se face și proba oarbă, neiradiată.

Calculul randamentului cuantic [6]

Determinarea intensității luminoase ne permite să calculăm randamentul cuantic pentru diferite reacții fotochimice, deoarece randamentul cuantic de formare a produșilor în reacția fotochimică se determină din raportul concentrației produsului format ΔN către cantitatea luminii absorbite în timpul reacției ΔI_a într-o unitate de timp:

$$\Phi = \frac{\Delta N}{\Delta I_a \cdot t}.$$

Pentru a determina I_a foarte precis, este nevoie ca lumina cu ajutorul căreia se iradiază să fie monocromatică sau să conțină un spectru foarte îngust al lungimilor de undă. În acest caz poate fi utilizată Legea Bugher-Lamber-Berr. Astfel, intensitatea luminoasă, absorbită într-o unitate de timp t , va fi egală cu:

$$I_a = I_0 \int_0^t (1 - 10^{-D}) dt .$$

În cele mai multe cazuri, cantitatea de lumină absorbită rămâne constantă sau se schimbă puțin în timp. Dacă lumina este absorbită totalmente, atunci $I_a = I_0$; respectiv, randamentul cuantic poate fi calculat conform formulei:

$$\phi = \frac{\Delta N}{I_0 \cdot t}$$

Determinarea concentrației tioureei

Tioureea interacționează cu nitratul de bismut în mediu acid, cu formarea compusului de culoare galbenă intensă. Concentrația tioureei se determină spectrofotometric, măsurând densitatea optică a amestecului la valoarea $\lambda = 400$ nm [4, p.33].

Determinarea tiolilor (metoda Ellman)

Această metodă se folosește pentru determinarea grupărilor tiolice libere ce intră în componența cisteinei și a glutatationului redus.

Din literatură se cunoaște că bis-3-carboxi, 4-nitrofenil-disulfură (acidul 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoic) interacționează cu compușii tiolici la pH=8 cu formarea anionului n-nitrofenilic de culoare galbenă intensă ($\epsilon = 13600$ la $\lambda = 412$ nm) [5, p.215-216). Concentrația grupelor –SH libere se determină spectrofotometric la lungimea de undă $\lambda = 412$ nm, coeficientul molar de extincție $\epsilon = 13600$ l/mol·cm.

Rezultate și discuții

• Tioli în apele naturale

Pentru a demonstra prezența substanțelor tiolice în apele naturale au fost monitorizate concentrațiile grupărilor –SH în apele fl. Nistru (o porțiune) și afluenții săi de dreapta (Tab. 1).

Tabelul 1

Concentrațiile grupelor –SH libere în unele obiecte acvatice

| Data prelevării | Martie 2015 | Iunie 2015 | Septembrie 2015 | Noiembrie 2015 | Marie 2016 | Aprilie 2016 | Mai 2016 | Iunie 2016 |
|---------------------------------|--|---------------|--------------------|-------------------|---------------|-----------------|-------------|---------------|
| Locul prelevării | Concentrația grupelor –SH libere · 10⁶ M | | | | | | | |
| Nistru, aval Baraj Dubăsari | 3,20 | 24,50 | 4,40 | 0,20 | 5,50 | 4,90 | 4,70 | 7,40 |
| r. Botna | 13,50 | 18,10 | 26,90 | 3,20 | 5,70 | 9,80 | 13,70 | 30,30 |
| fl. Nistru (amonte Criuleni) | 3,70 | 14,40 | 3,90 | 0,50 | 13,80 | 4,40 | 5,50 | 12,70 |
| r. Ichel | 10,80 | 14,70 | 33,80 | 5,90 | 4,40 | 14,90 | 31,30 | 29,00 |
| fl. Nistru (Vadul lui Vodă) | 4,40 | - | 3,40 | 2,50 | 6,20 | 3,70 | 5,60 | 9,60 |
| Ghidighici | 4,40 | 16,10 | - | 2,20 | 9,40 | 7,60 | 5,40 | 3,70 |
| Dănceni | 8,60 | 19,80 | 6,60 | 2,50 | 3,50 | 10,30 | 9,10 | 5,90 |

În urma analizei rezultatelor experimentale din perioada monitorizată s-a constatat prezența grupelor –SH libere în toate obiectele acvatice monitorizate. Cele mai mari concentrații au fost atestate în râurile Botna și Ichel, respectiv fiind mai vulnerabile la modificarea stării redox a apelor. În apele nistrene și în cele din lacul Dănceni cele mai mari concentrații s-au atestat în luna iunie, atunci când activitatea hidrobionților crește și respectiv în ape pătrund tioli, care sunt metaboliți ai activității hidrobionților. Pentru r. Botna și r. Ichel cele mai mari concentrații de grupe –SH libere au fost înregistrate în luna septembrie, ceea ce se datorează conținutului

mai scăzut de echivalenți oxidanți; respectiv, oxidarea reducătorilor are loc mai lent. Concentrații sporite au fost înregistrate și în luna iunie, când activitatea hidrobionților este mai mare. Cele mai mici concentrații ale grupelor –SH libere au fost înregistrate în lunile noiembrie și martie, datorită activității scăzute a hidrobionților.

Ulterior, în rezultatul proceselor de autopurificare, substanțele tiolice pot participa și în diverse transformări fotochimice, care reprezintă o clasă importantă de transformări abiotice ce conduc la degradarea poluanților în apele naturale. Reacțiile fotochimice sunt afectate de mai mulți factori: absorbția luminii, intensitatea iradierii, compoziția chimică a apelor ș.a. În apele naturale sub influența luminii solare pot decurge mai multe tipuri de reacții fotochimice: fotoliza directă, fotoliza indusă și fotoliza sensibilizată [7, p.1699]. În lucrarea de față tiourea și cisteina au fost supuse fotolizei directe.

• **Determinarea intensității luminoase a surselor de lumină folosite cu ajutorul actinometrului chimic ferioxalat de potasiu**

Efectivitatea utilizării energiei luminii în reacțiile fotochimice este dată de *randamentul cuantic*. Randamentul cuantic de formare a produșilor în reacția fotochimică se determină din raportul concentrației produsului format ΔN și cantitatea luminii absorbite în timpul reacției ΔI_a [8], de aceea a fost necesar să se determine intensitatea radiațiilor emise de sursele de lumină folosite în studiu.

Pentru aceasta a fost sintetizat cristalohidratul de $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$. În urma sintezei au fost obținute cristale de culoare verde (Fig.1).



Fig.2. Cristalohidratul de $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$.

Din cristalohidratul de $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$ sintetizat au fost preparate soluții cu concentrația de 0,006 M, 0,012 M și 0,015 M, care ulterior au fost iradiate la lampa DRT-400, Simulator Solar Oriel Model 9119X (cu trei filtre diferite) și la lampa monocromatică ce emite radiații cu $\lambda = 254$ nm și $\lambda = 365$ nm. Cu ajutorul rezultatelor obținute au fost calculate intensitățile surselor de lumină folosite în studiu.

În urma iradierii actinometrului chimic $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$ la lampa DRT-400 și efectuării calculului respective s-a constatat că intensitatea absolută a luminii emise de lampa DRT-400 constituie aproximativ $2,0 \cdot 10^{-8}$ enstein/s (Tab.2). S-a demonstrat că această intensitate a fluxului de fotoni poate asigura desfășurarea reacțiilor fotochimice.

Tabelul 2

Intensitatea radiațiilor în cazul folosirii Lămpii DRT-400 în funcție de concentrația actinometrului

| $[K_3[Fe(C_2O_4)_3]]$ | ϕ | τ , s | $I_{med} \cdot 10^8$, enstein/s |
|-----------------------|--------|------------|----------------------------------|
| 0,006 M | 1,26 | 1200 | 2,0 |
| 0,012 M | 1,26 | 1200 | 2,0 |
| 0,015 M | 1,26 | 1200 | 2,0 |

În urma iradierii actinometrului chimic $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$, la Simulator Solar Oriel Model 9119X s-a constatat că intensitatea absolută a luminii emise de aceste filtre este de la $1,4 \cdot 10^{-7}$ până la $3,1 \cdot 10^{-7}$ enstein/s (Tab.3). Această intensitate a fluxului de fotoni poate asigura desfășurarea reacțiilor fotochimice.

În urma iradierii actinometrului chimic $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$, la lampa ce emite radiații monocromatice cu $\lambda = 254$ nm și $\lambda = 365$ nm au fost obținute rezultate care ne-au permis calculul intensității luminii. S-a determinat că intensitatea absolută a luminii emise de lampa monocromatică cu $\lambda = 254$ nm este de $7,9 \cdot 10^{-9}$ enstein/s și, respectiv, la cea cu $\lambda = 365$ nm este de $1,5 \cdot 10^{-8}$ enstein/s (Tab.4). Această intensitate a fluxului de fotoni poate asigura desfășurarea reacțiilor fotochimice.

Tabelul 3

Intensitatea radiațiilor în cazul folosirii Simulatorului Solar Oriel Model 9119X în funcție de concentrația actinometrului

| [K ₃ [Fe(C ₂ O ₄) ₃]] | Filtrul folosit | ϕ | τ , s | $I_{med} \cdot 10^7$, enstein/s |
|---|-----------------|--------|------------|----------------------------------|
| 0,006 M | 81017 | 1,26 | 230 | 3,09 |
| | 81050 | 1,26 | 170 | 2,61 |
| | 81051 | 1,26 | 170 | 1,42 |
| 0,012 M | 81017 | 1,26 | 230 | 3,10 |
| | 81050 | 1,26 | 170 | 2,60 |
| | 81051 | 1,26 | 170 | 1,40 |
| 0,015 M | 81017 | 1,26 | 230 | 3,11 |
| | 81050 | 1,26 | 170 | 2,60 |
| | 81051 | 1,26 | 170 | 1,41 |

Tabelul 4

Intensitatea radiațiilor în cazul folosirii lămpii monocromatice ce emite radiații cu $\lambda = 254$ nm și $\lambda = 365$ nm în funcție de concentrația actinometrului

| [K ₃ [Fe(C ₂ O ₄) ₃]] | λ | ϕ | τ , s | $I_{med} \cdot 10^8$, enstein/s |
|---|-----------|--------|------------|----------------------------------|
| 0,006 M | 254 | 1,26 | 1500 | 0,79 |
| | 365 | 1,26 | 1500 | 1,52 |
| 0,012 M | 254 | 1,26 | 1500 | 0,78 |
| | 365 | 1,26 | 1500 | 1,53 |
| 0,015 M | 254 | 1,26 | 1500 | 0,79 |
| | 365 | 1,26 | 1500 | 1,51 |

Din rezultatele obținute (Tab.2-4) putem concluziona că intensitatea luminii nu depinde de concentrația soluției de actinometru folosită, ceea ce se demonstrează prin faptul că au fost supuse iradierii soluții cu 3 concentrații diferite și intensitatea a fost aproximativ aceeași.

• **Fotoliza directă a tioureei și cisteinei**

Fotoliza directă se realizează în cazurile în care substanța poluată P, sub acțiunea razelor solare, este direct supusă transformărilor chimice [8].

Pentru a studia procesele de fotoliză directă a tiolilor menționați a fost modelat următorul sistem, în care s-a variat concentrația inițială a tiolului: H₂O (dist.)-Tiol. Sistemul dat a fost iradiat cu diferite surse de radiații artificiale care au fost menționate anterior.

Au fost modelate 5 sisteme în care s-a variat concentrația inițială a tioureei (TU) și cisteinei (Cys). Concentrația substratului a fost verificată peste fiecare 5 minute. Ca rezultat, au fost obținute curbele cinetice, în baza cărora au fost calculate vitezele inițiale ale procesului de fotoliză a TU și Cys (Fig.3,4).

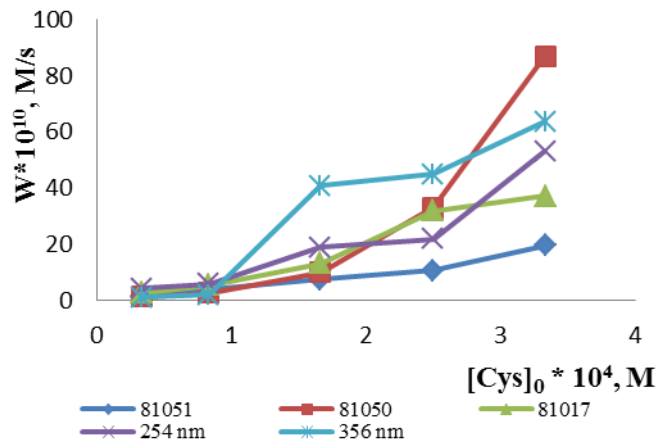
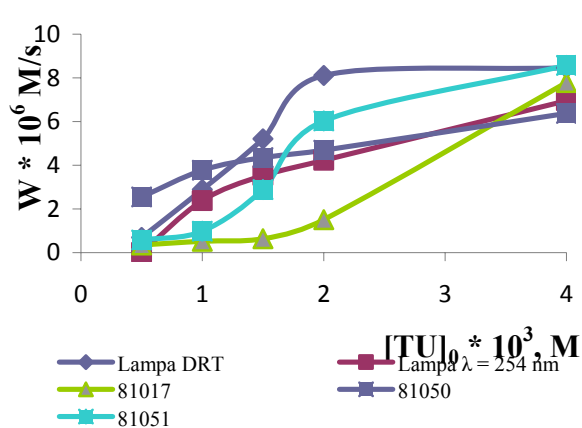


Fig.3. Vitezele fotolizei directe a tioureei, pH=6, t=25°C. Fig.4. Vitezele fotolizei directe a cisteinei, pH=6, t=25°C.

Rezultatele obținute denotă că TU și Cys se supun fotolizei directe la iradierea cu sursele de lumină folosite. Din figurile 3 și 4 observăm că vitezele de oxidare a substratelor cresc odată cu creșterea concentrațiilor inițiale ale acestora în sistem.

Viteza de oxidare fotolitică a TU (Fig.1) depinde direct proporțional atât de intensitatea razelor, cât și de calitatea lor. Cea mai mare viteză s-a dovedit a fi pentru filtrul UVC blocking și lampa DRT-400, iar cea mai mică – pentru Simulatorul Solar (SS) cu filtrul 81017 și lampa monocromatică cu $\lambda = 254$ nm. Cu toate că lampa cu $\lambda = 254$ nm emite radiații mai rigide, cu lungime de undă mică (adică, cu energie mai mare comparativ cu Simulatorul Solar), viteza fotolizei directe e mai mare la simulator, deoarece TU are maximul de absorbție la 300 nm [9], radiații care se încadrează în spectrul de emisie al SS, dar nu se încadrează în spectrul de emisie al lămpii monocromatice cu $\lambda = 254$ nm. S-a stabilit că vitezele fotolizei directe a TU sunt de ordinul 10^{-6} M/s.

Din cele expuse mai sus putem concluziona că TU se va supune ușor fotolizei directe în condiții naturale, deoarece absoarbe radiații ce se încadrează în spectrul de emisie al Soarelui.

Un alt tiol care a fost supus transformărilor fotochimice a fost cisteina. Concentrația cisteinei a fost determinată cu ajutorul reactivului Ellman [5, p.215-216]. Conform cercetărilor efectuate anterior, se știe că cisteina, ca și ceilalți tioli studiați, nu se supune oxidării cu oxigenul molecular în absența catalizatorilor [4], ceea ce indică asupra faptului că la oxidarea tiolilor are loc consumul H_2O_2 din apă.

În urma iradierii s-a determinat că cisteina, ca și tiourea, se supune fotolizei directe, deoarece la iradiere scade concentrația ei în timp. Ulterior au fost calculate vitezele inițiale ale fotolizei directe a cisteinei, care s-au dovedit a fi de ordinul $10^{-9} - 10^{-10}$ M/s (Fig.4). Ca și în cazul TU, vitezele de oxidare fotolitică a Cys variază în funcție de sursa de lumină folosită și s-au dovedit a fi cele mai mari pentru lampa monocromatică cu $\lambda = 365$ nm și cele mai mici pentru SS, cu filtrul 81051, și lampa monocromatică cu $\lambda = 254$ nm.

Așadar, din datele experimentale se poate confirma că TU și Cys se supun fotolizei directe și viteza fotolizei depinde direct proporțional de concentrația lor în sistem și de calitatea și cantitatea razelor emise (Fig.3-4). Ambele substraturi se vor supune fotolizei directe în condiții naturale, deoarece Soarele emite radiații care pot iniția transformările fotochimice ale acestora.

Pentru un tablou mai complet au fost calculați parametrii cinetici ai reacțiilor fotochimice, cum sunt vitezele inițiale (W), constantele efective ale proceselor (k), randamentul cuantic (Φ) și timpul de înjumătățire (τ) a TU (Tab.5) și Cys (Tab.6).

Tabelul 5

Parametrii cinetici ai procesului de fotoliză directă a tioureei în funcție de sursa de iradiere

| | | | | | | |
|---------------------------|---------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| Sursa de iradiere | DRT-400 | $\lambda = 254$ nm | $\lambda = 365$ nm | SS, 81017 | SS, 81050 | SS, 81051 |
| $[TU]_0 \cdot 10^3$, M | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 |
| $W \cdot 10^6$, M/s | 0,69 | 0,02 | 0,38 | 0,35 | 2,55 | 0,58 |
| $K \cdot 10^4$, s^{-1} | 2,90 | 4,52 | 3,78 | 3,36 | 3,98 | 6,71 |
| Φ | 35,00 | 251,00 | 2,19 | 6,05 | 7,64 | 15,47 |
| $[TU]_0 \cdot 10^3$, M | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| $W \cdot 10^6$, M/s | 2,89 | 2,38 | 0,60 | 0,52 | 3,77 | 0,99 |
| $K \cdot 10^4$, s^{-1} | 5,00 | 2,97 | 2,69 | 2,48 | 3,16 | 4,48 |
| Φ | 145,00 | 315,00 | 135,00 | 7,41 | 9,36 | 20,47 |
| $[TU]_0 \cdot 10^3$, M | 1,50 | 1,50 | 1,50 | 1,50 | 1,50 | 1,50 |
| $W \cdot 10^6$, M/s | 5,21 | 3,53 | 0,80 | 0,64 | 4,35 | 2,89 |
| $K \cdot 10^4$, s^{-1} | 5,10 | 3,48 | 2,86 | 2,18 | 3,20 | 3,49 |
| Φ | 260,00 | 420,00 | 147,00 | 9,14 | 12,26 | 24,13 |

| | | | | | | |
|------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| $[TU]_0 \cdot 10^3, M$ | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 |
| $W \cdot 10^6, M/s$ | 8,11 | 4,23 | 1,06 | 1,51 | 4,69 | 6,03 |
| $K \cdot 10^4, s^{-1}$ | 6,4 | 2,67 | 2,78 | 2,23 | 3,03 | 3,59 |
| ϕ | 390,00 | 474,00 | 173,00 | 11,40 | 15,00 | 29,52 |
| $[TU]_0 \cdot 10^3, M$ | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 |
| $W \cdot 10^6, M/s$ | 8,46 | 6,95 | 1,16 | 7,79 | 6,37 | 8,57 |
| $K \cdot 10^4, s^{-1}$ | 4,30 | 2,83 | 2,46 | 2,35 | 2,76 | 3,48 |
| ϕ | 421,67 | 574 | 244 | 13,51 | 16,75 | 34,68 |
| $K_{med} \cdot 10^4, s^{-1}$ | 4,74 | 3,29 | 2,91 | 2,52 | 3,23 | 4,35 |
| $\tau_{1/2}, secunde$ | 1477,00 | 2111,00 | 2400,00 | 2750,00 | 2146,00 | 1593,00 |

Din datele prezentate în Tabelul 5 observăm ca randamentul cuantic al TU este cu mult mai mare ca 1, ceea ce denotă că în procesul de fotoliză a tioureei doar la etapa inițială are loc o reacție fotochimică, care este urmată de reacții chimice [8], posibil radicalice; respectiv, TU poate fi inițiator al proceselor de autopurificare chimică. Randamentul cuantic, ca și viteza reacțiilor, depinde direct proporțional de concentrația inițială a TU în sistem, precum și de intensitatea radiațiilor emise. Cel mai mic randament cuantic s-a atestat pentru SS, dar totuși este mai mare ca 1, ceea ce denotă că chiar în condițiile apelor naturale oxidarea TU va decurge după mecanisme radicalice. Constantele de viteză sunt de ordinul $10^{-4} s^{-1}$ și variază în dependență de fluxul luminos. Cu toate că timpul de înjumătățire a sistemelor iradiate la utilizarea Simulatorului Solar este mai mare, totuși s-a constatat că TU se va supune fotolizei directe și în condiții naturale. Timpul de înjumătățire variază de la o lampă la alta și este în diapazonul de la cca 25 min. (pentru lampa DRT-400) la 45 min. (pentru SS, cu filtrul 81017).

Tabelul 6

Parametrii cinetici ai procesului de fotoliză directă a cisteinei în funcție de sursa de iradiere

| | | | | | | |
|-------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Sursa de iradiere | DRT-400 | $\lambda = 254 \text{ nm}$ | $\lambda = 365 \text{ nm}$ | SS, 81051 | SS, 81050 | SS, 81017 |
| $[Cys]_0 \cdot 10^4, M$ | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,33 |
| $W \cdot 10^{10}, M/s$ | 10,90 | 4,08 | 1,06 | 1,47 | 1,17 | 2,45 |
| $K \cdot 10^4, s^{-1}$ | 3,83 | 0,29 | 0,40 | 1,08 | 1,11 | 0,29 |
| ϕ | 0,05 | 0,05 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| $[Cys]_0 \cdot 10^4$ | 0,83 | 0,83 | 0,83 | 0,83 | 0,83 | 0,83 |
| $W \cdot 10^{10}, M/s$ | 13,80 | 5,7 | 1,96 | 3,92 | 2,45 | 5,39 |
| $K \cdot 10^4, s^{-1}$ | 2,14 | 0,71 | 0,31 | 3,39 | 0,50 | 0,32 |
| ϕ | 0,07 | 0,07 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| $[Cys]_0 \cdot 10^4, M$ | 1,66 | 1,66 | 1,66 | 1,66 | 1,66 | 1,66 |
| $W \cdot 10^{10}, M/s$ | 22,80 | 18,90 | 40,80 | 7,35 | 9,80 | 13,20 |
| $K \cdot 10^4, s^{-1}$ | 1,73 | 1,59 | 0,61 | 0,22 | 0,27 | 0,42 |
| ϕ | 0,11 | 0,24 | 0,27 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| $[Cys]_0 \cdot 10^4, M$ | 2,50 | 2,50 | 2,50 | 2,50 | 2,50 | 2,50 |
| $W \cdot 10^{10}, M/s$ | 42,60 | 21,80 | 44,90 | 10,60 | 33,00 | 31,80 |
| $K \cdot 10^4, s^{-1}$ | 2,20 | 0,73 | 1,27 | 0,53 | 0,63 | 0,19 |
| ϕ | 0,21 | 0,28 | 0,29 | 0,01 | 0,02 | 0,01 |
| $[Cys]_0 \cdot 10^4, M$ | 3,33 | 3,33 | 3,33 | 3,33 | 3,33 | 3,33 |
| $W \cdot 10^{10}, M/s$ | 72,00 | 53,10 | 63,70 | 19,60 | 87,00 | 37,20 |

| | | | | | | |
|------------------------------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|
| $K \cdot 10^4, s^{-1}$ | 3,06 | 4,90 | 1,89 | 2,15 | 0,24 | 0,67 |
| ϕ | 0,36 | 0,67 | 0,42 | 0,02 | 0,03 | 0,02 |
| $K_{med} \cdot 10^4, s^{-1}$ | 2,59 | 1,64 | 0,89 | 1,47 | 0,55 | 0,38 |
| $\tau_{1/2}, secunde$ | 2676,00 | 4226,00 | 7788,00 | 4738,00 | 12604,00 | 18241,00 |

Din Tabelul 6 observăm că randamentul cuantic la fotoliza directă a cisteinei este subunitar, ceea ce poate fi explicat prin faptul că procesul are loc în soluție diluată și în acest caz are loc dezactivarea moleculelor excitate fotochimic, în urma ciocnirii cu moleculele solventului [8]. Constantele de viteză sunt de ordinul $10^{-5} - 10^{-4} s^{-1}$. Timpul de înjumătățire s-a dovedit a fi cel mai mic pentru lampa DRT-400 (≈ 44 minute) și cel mai mare pentru SS, cu filtrul 81017 (≈ 300 min.). Spre deosebire de TU, Cys nu inițiază procese fotochimice radicalice.

Așadar, tiolii studiați se supun fotolizei directe după schema:



Concluzii

Tiourea și cisteina se supun fotolizei directe la iradierea cu razele UV, de aceea pot fi fotooxidate sub influența radiației solare în bazinele acvatice, în care pătrunde o cantitate mică de radiații UV, de la Soare. A fost calculat timpul de înjumătățire la iradierea cu diferite surse de lumină și s-a demonstrat că acesta variază de la o lampă la alta și este în diapazonul de la cca 25 min. (lampa DRT-400) la 45 min. (SS, cu filtrul 81017) pentru TU și, respectiv, de la cca 44 min. (lampa DRT-400) la 300 min. (SS, cu filtrul 81017) pentru Cys.

Randamentul cuantic al TU este cu mult mai mare ca unitate, ceea ce demonstrează că la iradiere se formează radicali destul de activi, care pot conduce ulterior la oxidarea chimică a poluanților din mediul acvatic. Reieșind din aceasta, poate fi propusă metoda de pretratere a apelor reziduale cu conținut de TU, prin iradiere, care ar fi o metodă ieftină și foarte efektivă.

Referințe:

1. DUCA, Gh., SCURLATOV, Iu., MISSITI, A., MACOVEANU, M., SURPĂȚEANU, M. *Chimie ecologică*. Chișinău: CE USM, 2003. 303 p.
2. GLADCHI, V., DUCA, Gh., GOREACEVA, N., BUNDUCHI, E. Procese de autopurificare chimică și fotochimică a sistemelor acvatice în prezența colorantului albastru reactiv direct. În: *Revista științifică „Studia Universitatis”*, 2013, nr.1(61), p.118-123. ISSN 1814-3237
3. NEIL, V., BARBARA, S. Impact of photochemical processes in the hydrosphere. In: *Aquatic Sciences* (Dusendorf), 2003, vol.65. p.317-319. ISSN 1015-1621 (Print), 1420-9055 (Online)
4. DUCA, Gh., GLADCHI, V., ROMANCIUC, L. *Procese de poluare și autoepurare a apelor naturale*. Chișinău: CE USM, 2002. 145 p.
5. ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. In: *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959, no.82, p.215-216.
6. LIS, A. Aplicarea actinometrelor chimice în evaluarea proceselor fotochimice. În: *Materialele Conferinței științifice „Integrare prin cercetare și inovare”*, USM, Chișinău, 2013, p.77-79.
7. MARCO, M., VALTER, M., CLAUDIO, M. and DAVIDE, V. Modelling photochemical transformation of emerging organic pollutants in surface waters: effect of water level fluctuations following outflow or evaporation, relevant to arid and semi-arid environments. In: *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2013, vol.93, no.15, p.1698-1717. ISSN 0306-7319 (Print), 1029-0397 (Online)
8. МЕЛЬНИКОВ, М.Я., ИВАНОВ, В.Л. *Экспериментальные методы химической кинетики*. Москва: Изд-во Московского университета, 1985. 325 с.
9. LIS, A., GLADCHI, V. Transformări fotochimice ale tioureei și cisteinei în apele naturale. În: *Rezumatul comunicărilor la Conferința tehnico-științifică a colaboratorilor, doctoranzilor și studenților, 26-28 noiembrie 2015, Universitatea Tehnică a Moldovei*. Chișinău: Tehnica-UTM, 2016, p.84-87. ISBN 978-9975-45-442-1

Notă: Cercetările au fost realizate în cadrul Proiectului instituțional „Elaborarea procedeelelor de epurare a apelor reziduale de poluanți greu biodegradabili și compoziția, autopurificarea chimică, posibilități de valorificare a apelor din bazinul Nistrului de Jos”, cifrul 15.817.02.35A.

Prezentat la 14.07.2016

CZU: 667.2: 541.13: 541.183

ÎNLĂTURAREA AMESTECULUI DE COLORANȚI ȘI DISPERSANȚI DIN SOLUȚII PRIN APLICAREA METODELOR DE ELECTROFLOTOCOAGULARE ȘI ADSORBȚIE

Vera MATVEEVICI, Maria GONȚA,
Larisa MOCANU, Viorica IAMBARȚEV

Universitatea de Stat din Moldova

Cercetările de laborator au fost realizate pe sisteme model ce conțin coloranți textili drept componenți de bază, iar în calitate de compuși auxiliari – agenți de dispersie și etilenglicol. În rezultatul cercetărilor științifice s-a constatat că efectul înlăturării amestecului de coloranți și dispersanți din sistemele studiate depinde de dimensiunile și sarcina particulelor de coloranți, de natura și concentrația coloranților, dispersanților și a polialcoolilor. De asemenea, epurarea apelor depinde de timpul de electroflotare și de concentrația ionilor de aluminiu.

Cuvinte-cheie: electroflotocoagulare, coloranți activi și direcți, agenți de dispersie, ape reziduale textile.

REMOVING THE MIXTURE OF DYES AND DISPERSANTS BY APPLYING THE METHODS OF COAGULATION-ELECTROFLOTATION, AND ADSORPTION

Laboratory researches have been realizing on model systems containing textile dyes as basic components, and as auxiliary compounds were used dispersing agents, and polyalcohol. As a result of scientific researches has found that the effect of removal depends on both, the dyes size and the particle charges, as well as the nature, concentration of dyes, dispersants and polyalcohol. Also, wastewaters depend on the time of electro-floatation and the concentration of aluminum ions.

Keywords: coagulation-electrofloatation, reactive dyes, direct dyes, dispersing agents, wastewaters.

Introducere

Din cantitatea totală de substanțe organice sintetice, produsă în întreaga lume (în jur de 250 mii de tone) o mare parte revine industriei textile, care, prin intermediul apelor uzate, nimeresc în bazinele acvatice, creând mari probleme ecologice [1]. Apele uzate rezultate în urma finisării materialelor textile au o compoziție complexă și variată, ca urmare a diversității de materii prime și de procedee tehnologice utilizate [2-3].

Metodele tradiționale, cum ar fi filtrarea, floclarea, coagularea, tratamentul biologic, oxidarea catalitică, adsorbția pe cărbune activ, striparea cu aer și tratamentul chimic utilizând clor, permanganat de potasiu, ozon, apă oxigenată și iradiere cu radiație ultravioletă, transferă în mare parte poluanții din apele uzate în deșeuri secundare, cu toxicitate medie sau ridicată [4-8].

În ultimul timp se aplică metodele de oxidare avansată, care duc la degradarea compușilor organici în compuși mai simpli sau la oxidarea lor până la dioxid de carbon și apă. Acești poluanți sunt degradați de către radicalii OH*, care se obțin fotocatalitic la descompunerea peroxidului de hidrogen [4-7]. Datorită descompunerii peroxidului de hidrogen sub acțiunea diferiților catalizatori și a razelor ultraviolete, concentrația radicalilor OH* se mărește și, respectiv, se mărește viteza de oxidare și de mineralizare a coloranților, precum și a substanțelor auxiliare [9].

Gradul de oxidare și de mineralizare depinde în mare măsură de lungimea și structura radicalilor hidrofobi și hidrofilii din compoziția dispersanților și de structura coloranților. Cu mărirea lungimii lanțului de hidrocarbură și a polarității grupelor hidrofile, gradul de oxidare și de mineralizare pentru dispersanți și coloranți se mărește. Gradul de mineralizare a dispersanților ajunge până la 60,0-80,0%, iar a coloranților cu concentrația inițială de 100,0 mg/L [11,12] – până la 46,0-64,0% [7,8-10]. Odată cu creșterea concentrației coloranților de 5 ori [13] cresc și valorile până la 65,0-80,0%. Însă, cu mărirea concentrației inițiale a coloranților crește și concentrația remanentă a compușilor degradați, care nu mai pot fi înlăturați prin adsorbție până la normele sanitare pentru apele epurate și soluțiile nu se epurează. Prin urmare, prin aplicarea metodelor avansate de oxidare catalitică pot fi epurate atât sistemele model, cât și apele cu concentrații mici de coloranți și substanțe auxiliare, iar pentru cele mai concentrate, cum sunt apele reziduale textile, ele pot fi aplicate numai după concentrarea lor prin coagulare, flotare sau filtrare, care duc la decolorarea apelor reziduale cu 90,0-95,0%, iar concentrația compușilor organici, după valoarea CCO-Cr, se micșorează cu 50,0-65,0% [1,9].

Următoarele etape se aplică în funcție de concentrația remanentă a compușilor organici remanenți de după prima etapă de epurare (oxidarea catalitică cu peroxidul de hidrogen sau adsorbția pe cărbunii activi). Metoda de flotare este binevenită și prin faptul că efectul de înlăturare a compușilor organici se intensifică, deoarece surfactanții joacă rolul de colector în procesul de flotare și concentrare a compușilor organici în stratul de spumă, care se înlătură [14].

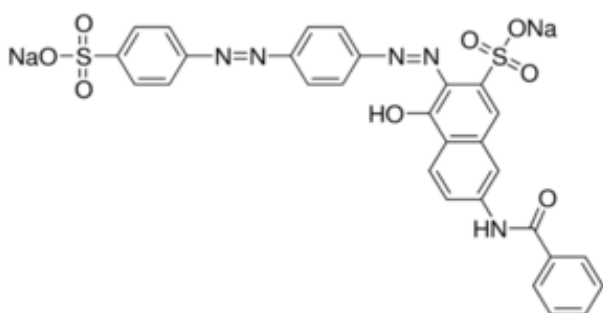
Cu succes se aplică metode de coagulare și electrocoagulare pentru epurarea apelor uzate textile concentrate ce conțin diferite clase de coloranți. În rezultatul coagulării pot fi înlăturate până la 65,0-70,0% de compuși organici (coloranți și substanțe auxiliare textile) și până la 97,0% de particule suspendate și insolubile [9]. Însă, în apele reziduale textile sunt prezenți și dispersanții, care se aplică în procesul de vopsire. Înlăturarea acestor compuși, COL-Diperesant are loc prin aplicarea metodelor de electroflotocoagulare (electroflotarea în prezența ionilor de aluminiu sau de fier), care reprezintă atât interes teoretic, cât și practic.

Cu acest scop a fost studiat procesul diminuării concentrației compușilor organici din soluțiile model ce contin coloranți direcți, activi și dispersanți în lipsa și în prezența etilenglicolului, prin combinarea metodelor de electroflotocoagulare, oxidare catalitică sau fotocatalitică cu peroxidul de hidrogen, urmată de adsorbția pe cărbuni activi. Acest proces a fost studiat în funcție de concentrația coloranților direcți și activi, a dispersanților, ionilor de aluminiu, timpul de electroflotare și oxidare catalitică. În calitate de catalizatori au fost folosiți ionii de fier (II), raze UV și combinarea lor.

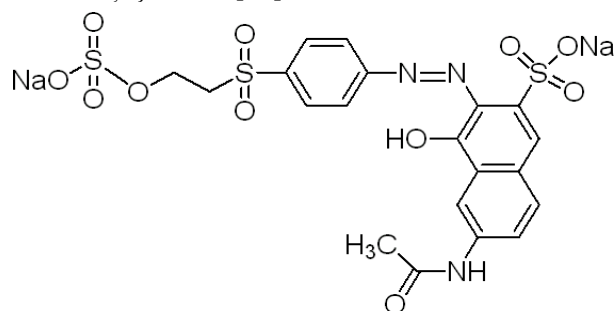
Metode și materiale aplicate

Cercetările au fost efectuate pe sisteme model cu concentrația de colorant de 100,0-200,0 mg/L, deoarece nivelul concentrațiilor remanente în apele reziduale poate ajunge până la 200,0-250,0 mg/L.

Au fost studiate sisteme model ce conțin coloranți textili direcți și activi [10].

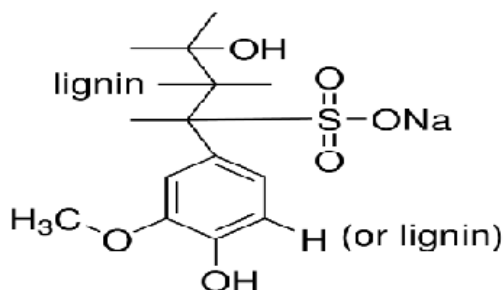


Roșu direct (RD), $M=1373$ g/mol



Portocaliu activ 16 (PA), $M = 605$ g/mol

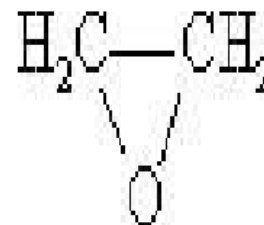
Concomitent cu coloranții textili, în apele reziduale se conțin și dispersanți din diferite clase, care contribuie la procesele de vopsire a țesăturilor. În prezenta lucrare au fost studiați următorii dispersanți: oxidul de propilenă (OP) și lignin sulfonat de natriu (LSNa), iar ca poliaccol – etilenglicolul [1].



Lignosulfat de natriu, LSNa



Etilenglicol



Oxid de propilen

Sistemele au fost modelate reieșind din compoziția apelor reziduale. Concentrația inițială a coloranților textili a fost studiată în intervalul de 100,0-200,0 mg/L, iar a dispersanților și etilenglicolului – 60,0 mg/L.

Concentrația remanentă a compușilor organici textili din sistemele RD-LSNa, PA-OP, RD-LSNa-EGL și PA-OPEGL a fost determinată după valoarea CCO-Cr, conform metodei prezentate în [15].

Cercetările au fost efectuate în felul următor: într-un volum de 500,0 mL se adaugă un volum de colorant, pentru ca concentrația finală să fie de 100,0 sau 200,0 mg/L, și o cantitate de dispersant, unde, la fel, concentrația finală să fie cuprinsă în intervalul 20,0-60 mg/L. Se adaugă sulfat de aluminiu cu concentrația de 0,1 mol/L (volumul soluției variază de la 0,5 mL până la 2,5 mL). După corectarea pH-ului soluția se trece în celula cu electrozi insolubili (celula de electroflotare cu anodul de carbon, catodul din plasă de fier inoxidabil). În celulă se stabilește un curent electric continuu cu intensitatea ce variază de la 0,4 la 0,8A, pentru diferite timpuri de electroflotare. Spuma formată la suprafața lichidului se înlătură, iar soluțiile se filtrează, după care 5,0 mL din fiecare sistem se trece în eprubeta rotată pentru determinarea concentrației sumare CCO-Cr a substanțelor organice remanente.

Adsorbția compușilor organici remanenti după procesul de electroflotocoagulare s-a efectuat în felul următor: la soluția filtrată cu volumul de 100,0 mL se adaugă 5,0 g de cărbune activ, marca A și se agită timp de 60 min., după care se filtrează și, la fel, se determină concentrația remanentă a compușilor organici prin determinarea valorii CCO-Cr. Concentrația limită admisibilă este de 6,0-8,0 mgO/L.

În baza rezultatelor obținute la electroflotocoagulare și la adsorbția compușilor organici remanenti de către cărbunii activi, s-a calculat efectul de electroflotocoagulare ($E_{electrof.}$,%) și efectul de adsorbție ($E_{ads.}$,%) conform relațiilor:

$$1. E_{electrof.}(\%) = (CCO_0 - CCO_{rem.electrof.}) / CCO_0 \times 100\%$$

$$2. E_{ads.}(\%) = (CCO_0 - CCO_{rem.ads.}) / CCO_0 \times 100\%$$

Rezultate și discuții

A fost studiat procesul de diminuare a concentrației compușilor organici, prin modelarea mai multor sisteme cu diferită compoziție. Primul sistem conține: colorant activ PA și oxid de propilenă; al doilea – colorant direct RD și ligninsulfonat de sodiu. Aceste sisteme au fost supuse electroflotocoagurării, în funcție de timpul electroflotării, concentrația ionilor de aluminiu, concentrația inițială a coloranților și agenților de dispersie. Rezultatele ce țin de timpul de electroflotare sunt prezentate în tabelele 1 și 2.

Tabelul 1

Electroflotocoagurarea sistemului model, PA-OP, în funcție de timpul de electroflotare;
 $[PA]_0=200,0$ mg/L, $[OP]_0=60,0$ mg/L, $I=0,4$ A, $pH=5,0-5,5$, $Al_2(SO_4)_3=0,1N$, $m(\text{cârb.})=5,0$ g,
 $CCO-Cr_{init.}=150,0$ mgO/L

| Timp de electrof., min. | Electroflotocoagulare | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|----------------------------|-----------------------|----------------|----------------------------|-------|
| | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| 5 | 21,9 | 85,4 | 13,3 | 91,2 |
| 10 | 21,3 | 85,8 | 11,3 | 92,5 |
| 15 | 21,9 | 85,4 | 11,9 | 92,4 |

Tabelul 2

Electroflotocoagurarea sistemului model, RD-LSNa, în funcție de timpul de electroflotare;
 $[RD]_0=200,0$ mg/L, $[LSNa]_0=60,0$ mg/L, $I=0,4$ A, $pH=4,0-4,5$, $Al_2(SO_4)_3=0,1N$, $m(\text{cârb.})=5,0$ g,
 $CCO-Cr_{init.}=210,0$ mgO/L

| Timp de electrof., min. | Electroflotocoagulare | | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|-------------------------|-----------------------|------------|----------------|----------------------------|-------|
| | Decol., mg/L | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| 5 | 9,6 | 10,5 | 95,0 | 9,1 | 95,7 |
| 10 | 12,4 | 7,5 | 96,4 | 6,9 | 96,7 |
| 15 | 10,9 | 8,1 | 96,3 | 7,5 | 96,6 |

Din datele prezentate în tabelele 1 și 2 rezultă că înlăturarea amestecului de colorant activ PA și oxid de propilenă sau a colorantului direct RD și ligninsulfonatului de sodiu, prin procesul de electroflotocoagulare, depinde neesențial de timpul de electroflotare. Timpul optim de electroflotare pentru ambii coloranți este de 10 minute. La fel, se schimbă și colorația soluțiilor, care indică înlăturarea numai a colorantului, spre deosebire de valoarea CCO-Cr, care indică concentrația amestecului de colorant și dispersant din soluție. Însă, efectul de înlăturare a amestecului de colorant și dispersant depinde și de concentrația ionilor de aluminiu,

care, formând particule coloidale de hidroxid de aluminiu, duc la neutralizarea particulelor asociate de colorant și, în același timp, sunt dispersate de substanțele de dispersie (oxidul de propilenă și ligninsulfonatul de sodiu). De aceea, în continuare, a fost studiat procesul de înlăturare a acestui amestec în funcție de concentrația ionilor de aluminiu. Datele sunt prezentate în tabelele 3 și 4.

Tabelul 3

Electroflotocoagularea sistemului model, PA-OP, în funcție de timpul de concentrație a ionilor de Al^{3+} ; $[PA]_0=200,0$ mg/L, $[OP]_0=60,0$ mg/L, $I=0,4$ A, $pH=5,0-5,5$, $Al_2(SO_4)_3=0,1N$, $t_{electrof.}=10$ min., $m(\text{c}^{\text{arb.}})=5,0$ g, $CCO-Cr_{init.}=150,0$ mgO/L

| C(Al^{3+}), mg/L | Electroflotocoagulare | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|----------------------|-----------------------|----------------|----------------------------|-------|
| | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| 2,7 | 21,2 | 85,8 | 11,3 | 92,5 |
| 5,4 | 11,9 | 92,1 | 10,6 | 92,9 |
| 8,1 | 10,0 | 93,3 | 8,8 | 94,2 |
| 10,8 | 10,6 | 92,9 | 9,4 | 93,8 |

Tabelul 4

Electroflotocoagularea sistemului model, RD-LSNa, în funcție de timpul de concentrație a ionilor de Al^{3+} ; $[RD]_0=200,0$ mg/L, $[LSNa]_0=60,0$ mg/L, $I=0,4$ A, $pH=4,0-4,5$, $Al_2(SO_4)_3=0,1N$, $t_{electrof.}=10$ min., $m(\text{c}^{\text{arb.}})=5,0$ g, $CCO-Cr_{init.}=210,0$ mgO/L

| C(Al^{3+}), mg/L | Electroflotocoagulare | | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|----------------------|-----------------------|------------|----------------|----------------------------|-------|
| | Decol., mg/L | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| 2,7 | 12,4 | 13,1 | 93,8 | 11,3 | 94,6 |
| 5,4 | 11,4 | 11,9 | 94,4 | 8,8 | 97,1 |
| 8,1 | 10,9 | 7,5 | 96,4 | 6,9 | 96,7 |
| 10,8 | 9,8 | 8,1 | 96,3 | 7,5 | 96,6 |
| 13,5 | 3,8 | 10,9 | 93,4 | 7,5 | 96,4 |
| 16,2 | 3,7 | 11,9 | 94,4 | 8,8 | 97,1 |

Din datele prezentate în Tabelul 3 rezultă că efectul înlăturării amestecului de colorant activ PA și oxid de propilenă depinde de concentrația ionilor de aluminiu. Efectul de înlăturare, după electroflotocoagulare, crește odată cu mărirea concentrației ionilor de aluminiu. Echilibrul se stabilește la concentrația ionilor de aluminiu de 8,1 mg/L (93,3%). La concentrații mai mari de ioni de Al^{3+} efectul de înlăturare se micșorează, ceea ce se explică prin faptul că, atunci când se îndeplinește condiția de egalitate a sarcinilor electrice, particulele se neutralizează maxim și se electroflorează mai complet, ceea ce duce și la o epurare mai eficientă a soluției. La o electroflotocoagulare optimă, concentrația compușilor organici este mai mică și ei deja se adsorb mai bine pe suprafața cărbunilor activi și, în rezultat, CCO-Cr remanent al sistemelor de compuși organici se încadrează în limitele maxime admisibile pentru a fi deversați.

Efectul înlăturării amestecului de colorant direct RD și ligninsulfonat de sodiu (Tab.4) la fel se mărește cu creșterea concentrației ionilor de aluminiu, însă acest efect este mai mare – 96,4% (8,1 mg/L ioni de aluminiu). Aceasta se explică prin faptul că particulele asociate de colorant direct RD și dispersate de ligninsulfonatul de sodiu au dimensiuni mai mari și sunt coagulate și electroflotate mai eficient, în comparație cu particulele de colorant activ PA și dispersantul de oxid de propilenă.

În continuare a fost studiat procesul de înlăturare a amestecului de colorant și dispersant prin aplicarea metodei de electroflotocoagulare și adsorbție pe cărbunii activi în funcție de concentrația dispersantului la diferite concentrații ale colorantului.

Tabelul 5

Electroflotocoagularea sistemului model, PA-OP, în funcție de concentrația inițială a dispersantului și colorantului; I=0,4 A, pH=5,5, C(Al³⁺)=8,1 mg/L Al₂(SO₄)₃=0,1N, t.electrof.=10 min., m(cărb.)=5,0 g

| PA-OP | Electroflotocoagulare | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|--|-----------------------|----------------|----------------------------|-------|
| | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| [PA]₀= 100,0 mg/L, [OP]₀=X mg/L | | | | |
| X=20,0 | 10,6 | 82,3 | 6,0 | 91,3 |
| X=40,0 | 11,3 | 83,9 | 5,6 | 92,0 |
| X=60,0 | 11,9 | 84,2 | 6,9 | 91,1 |
| X=80,0 | 12,5 | 85,3 | 8,1 | 90,4 |
| [PA]₀= 200,0 mg/L, [OP]₀=X mg/L | | | | |
| X=20,0 | 22,5 | 80,9 | 7,5 | 93,8 |
| X=40,0 | 13,8 | 90,2 | 8,8 | 93,5 |
| X=60,0 | 10,0 | 93,3 | 8,8 | 94,2 |
| X=80,0 | 14,9 | 91,8 | 10,0 | 93,9 |

Din datele prezentate în Tabelul 5 rezultă că efectul înlăturării amestecului de colorant PA și oxid de propilenă depinde atât de concentrația colorantului, cât și de cea a dispersantului și se mărește cu mărirea concentrației dispersantului în intervalul de 20,0–80,0 mg/L și a colorantului de la 100,0 la 200,0 mg/L. S-a stabilit că concentrația remanentă a compușilor organici se micșorează prin aplicarea și combinarea metodei de electroflotocoagulare și adsorbție pe cărbunii activi până la normele sanitare pentru soluțiile cu concentrația colorantului PA de 100,0-200,0 mg/L și a dispersantului de 20,0-60,0 mg/L. Mărirea, în continuare, a concentrației dispersantului duce la mărirea concentrației remanente a compușilor organici și soluțiile deja nu se mai epurează prin combinarea metodelor de electroflotocoagulare și adsorbție. Aceasta se explică prin faptul că cu mărirea concentrației dispersantului se micșorează dimensiunile particulelor asociate de colorant și gazele electrolitice formate în timpul electroflotării nu le pot înlătura eficient din soluțiile tratate. Ca rezultat, se mărește concentrația compușilor remanenti după aplicarea adsorbției. Asupra efectului de înlăturare a compușilor organici din amestecul de colorant și dispersant influențează și natura colorantului. Pentru amestecul de colorant activ PA și oxid de propilenă, epurarea soluțiilor are loc numai prin combinarea metodelor de electroflotocoagulare și adsorbție pe cărbunii activi (Tab.5).

Natura coloranților influențează procesul de electroflotocoagulare. La epurarea sistemelor PA-OP, efectul de înlăturare este de 87,0% și se mărește până la 96,4% pentru colorantul RD-OP.

Concentrația compușilor organici se micșorează după procesul de electroflotocoagulare (Tab.6 și Fig.1) până la normele sanitare.

Tabelul 6

Electroflotocoagularea sistemului model, RD-OP, în funcție de concentrația inițială a dispersantului; I=0,4 A, pH=6,0-6,5, C(Al³⁺)=8,1 mg/L Al₂(SO₄)₃=0,1N, t.electrof.=10 min., m(cărb.)=5,0 g

| [RD] ₀ = 200,0 mg/L [OP] ₀ =X mg/L | Electroflotocoagulare | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|---|-----------------------|----------------|----------------------------|-------|
| | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| X=20,0 | 9,4 | 95,3 | 5,6 | 97,2 |
| X=40,0 | 8,8 | 95,9 | 5,0 | 97,7 |
| X=60,0 | 8,8 | 96,4 | 4,4 | 98,2 |
| X=80,0 | 8,8 | 96,7 | 3,8 | 98,6 |

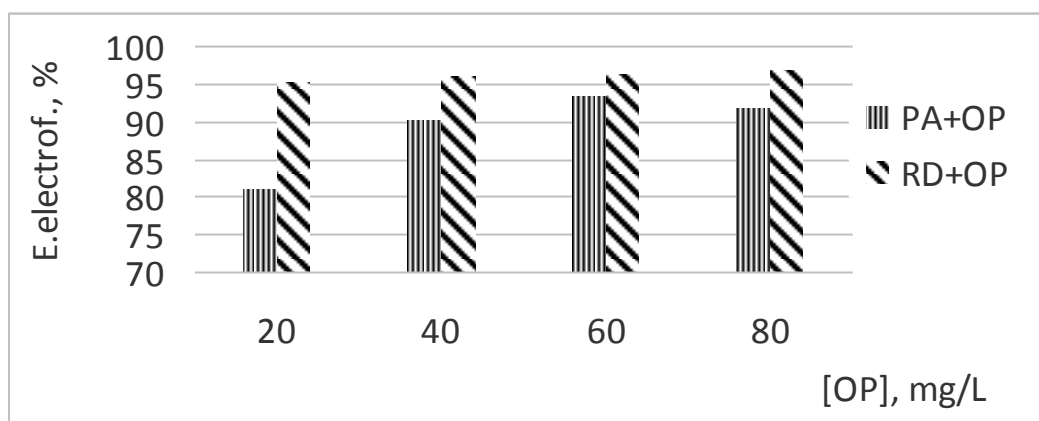


Fig.1. Efectul de înlăturare, prin electroflotocoagulare, a sistemelor model ce conțin diferite clase de coloranți, în funcție de variația concentrației inițiale a oxidului de propilenă; [Col.]₀= 200,0 mg/L, I=0,4 A, pH=6,0-6,5.

Mărirea efectului de electroflotocoagulare se datorează formării particulelor asociate cu dimensiuni mai mari de către moleculele de colorant direct (colorantul RD), spre deosebire de colorantul activ PA, care formează particule asociate cu dimensiuni mai mici, datorită numărului diferit de grupe polare și funcționale din moleculele coloranților indicați.

Asupra efectului de înlăturare a compușilor organici mai influențează natura și concentrația dispersantului.

Tabelul 7

Electroflotocagularea sistemului model, RD-LSNa, în funcție de concentrația inițială a colorantului și dispersantului; I=0,4 A, pH=4,0-4,5, C(Al³⁺)=8,1 mg/L, Al₂(SO₄)₃=0,1N, t.electrof.=10 min., m(cărb.)=5,0 g

| RD-LSNa | Electroflotocoagulare | | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|--|-----------------------|------------|----------------|----------------------------|-------|
| | Decol., mg/L | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| [RD]₀= 100,0 mg/L, [LSNa]₀=X mg/L | | | | | |
| X=20,0 | 3,5 | 5,6 | 93,0 | 5,0 | 93,8 |
| X=40,0 | 4,9 | 6,3 | 93,0 | 5,6 | 93,8 |
| X=60,0 | 3,9 | 6,9 | 93,1 | 6,3 | 93,7 |
| X=80,0 | 6,7 | 7,5 | 93,8 | 6,9 | 94,3 |
| [RD]₀= 200,0 mg/L, [LSNa]₀=X mg/L | | | | | |
| X=20,0 | 4,7 | 6,3 | 96,9 | 5,6 | 97,2 |
| X=40,0 | 3,6 | 6,9 | 96,6 | 6,3 | 96,9 |
| X=60,0 | 3,8 | 7,5 | 96,4 | 6,9 | 96,7 |
| X=80,0 | 3,5 | 8,1 | 96,3 | 7,5 | 96,6 |

S-a observat că pentru amestecul de colorant direct RD și ligninsulfonat de sodiu efectul de înlăturare se micșorează cu mărirea concentrației dispersantului și este același ca și în prezența oxidului de propilenă, iar concentrația remanentă a compușilor organici se încadrează în normele sanitare. Pentru colorantul PA, care are un grad de asociere al moleculelor mai mic decât colorantul direct RD, efectul înlăturării amestecului de colorant și dispersant în prezența dispersantului ligninsulfonat de sodiu este mai mare (95,3%) decât în prezența oxidului de propilenă (93,3%) și soluțiile se epurează numai prin aplicarea metodei de electroflotocoagulare la concentrația ionilor de aluminiu de 5,4-8,1 mg/L (Tab.5 și 8).

Tabelul 8

Electroflotocoagularea sistemului model, PA-LSNa, în funcție de concentrația ionilor de Al^{3+} ;
 $[PA]_0=200,0$ mg/L, $[LSNa]_0=60,0$ mg/L, $I=0,4$ A, $pH=5,5-6,0$, $Al_2(SO_4)_3=0,1N$,
 $t.electrof.=10$ min., $m(c\grave{a}rb.)=5,0$ g, $CCO-Cr_{init.}=145,0$ mgO/L

| C(Al^{3+}), mg/L | Electroflotocoagulare | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|----------------------|-----------------------|----------------|----------------------------|-------|
| | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| 2,7 | 8,8 | 93,9 | 8,8 | 94,0 |
| 5,4 | 7,5 | 94,8 | 7,0 | 95,2 |
| 8,1 | 6,9 | 95,3 | 7,0 | 95,2 |
| 10,8 | 8,8 | 94,0 | 8,8 | 94,0 |

Cu mult mai greu se înlătură amestecul de coloranți și dispersanți din soluțiile model în prezența polialcoolilor (Fig.2). Etilenglicolul se aplică ca adaos pentru îmbunătățirea calității vopsirii țesăturilor. Efectul de înlăturare a sistemului PA-OP-EGI se supune acelorași legități ca și în cazul sistemului PA-OP. Deoarece efectul de înlăturare scade în prezența etilenglicolului, cantitatea de compuși organici remanenți este cu mult mai mare și este necesar de a fi aplicată oxidarea catalitică, ca metodă intermediară.

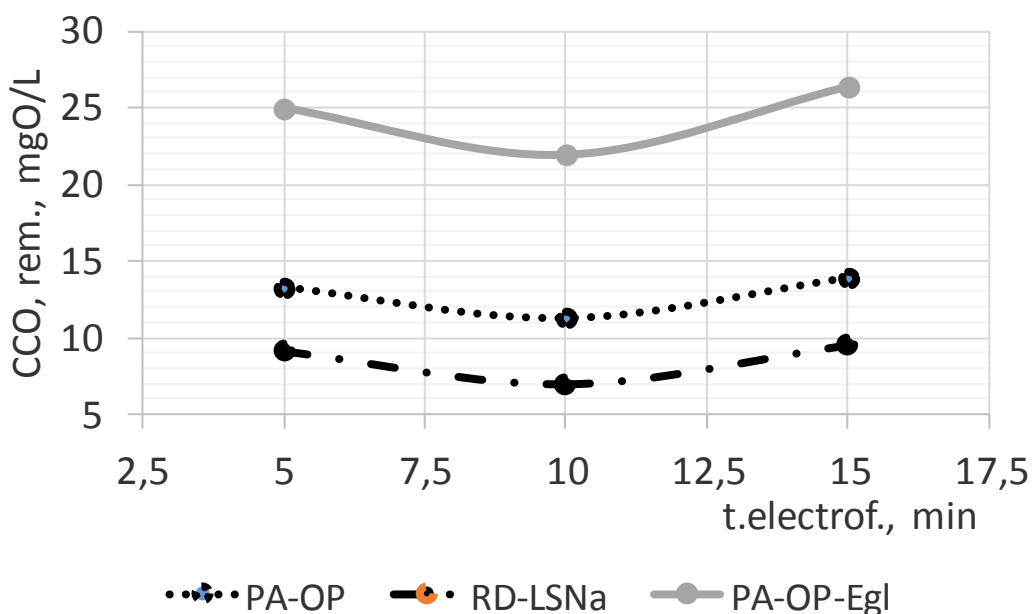


Fig.2. Influența EGI asupra procesului de electroflotocoagulare pentru diferite sisteme, în funcție de timpul de electroflotare; $[Col.]_0=200,0$ mg/L, $[agent.aux.]_0=60,0$ mg/L, $I=0,4$ A, $pH=4,0-6,0$, $C(Al^{3+})=8,1$ mg/L, $Al_2(SO_4)_3=0,1N$.

În prezența etilenglicolului efectul de înlăturare a PA-OP se reduce, deoarece moleculele acestui solvent posedând proprietăți hidrofile aderă la particulele asociate de colorant PA și oxid de propilenă, ceea ce împiedică aglomerarea bulelor de gaze electrolitice formate în timpul electroflotării, iar aceasta duce la o înlăturare mai ineficientă a lor din soluțiile supuse epurării în celula de electroflotare.

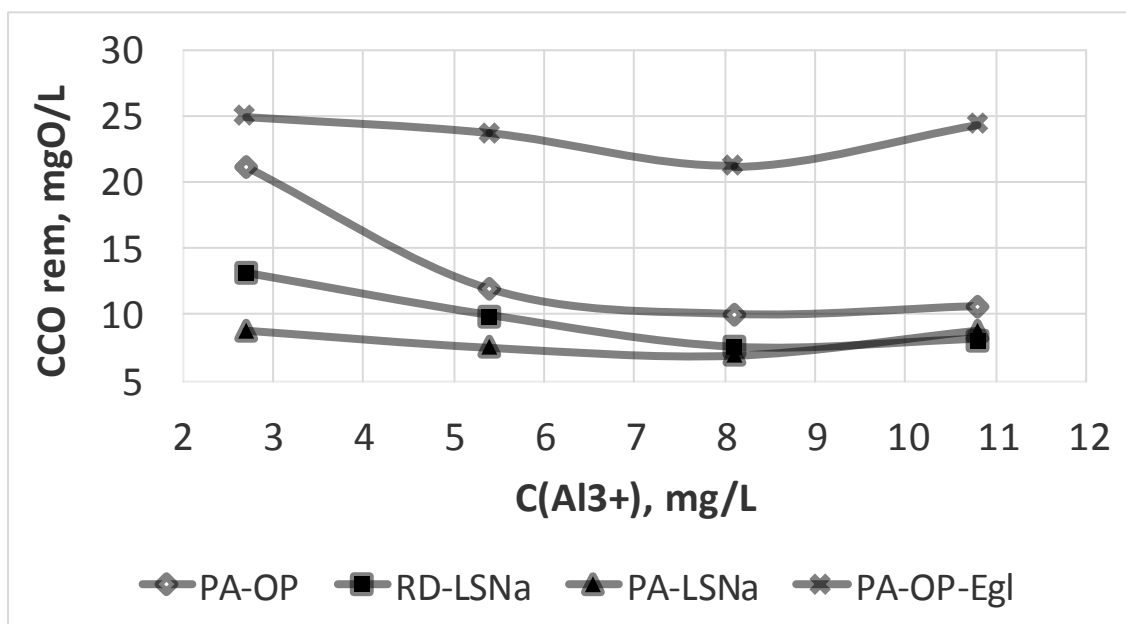


Fig.3. Dependența CCO-Cr de concentrația ionilor de Al³⁺ pentru diferite sisteme model; [Col]₀=200,0 mg/L, [agent.aux.]₀=60,0 mg/L, I=0,4 A, pH=4,0-6,0, Al₂(SO₄)₃=0,1N, t.electrof.=10 min.

Drept urmare, pe de o parte, se mărește concentrația remanentă a compușilor organici în soluția tratată, iar, pe de altă parte, compușii organici remanenți cu dimensiunile particulelor modificate practic nu se adsorb de către cărbunii activi și soluțiile nu se epurează până la CMA (Fig.3 și Tab.9).

Însă, cu mult mai eficient are loc epurarea sistemului model RD-LSNa-Egl la electroflotocoagulare, efectul fiind de 92,2-97,0%, în comparație cu sistemul model PA-OP-Egl, efectul fiind de 88,1-89,6%. Aceasta duce la micșorarea concentrației compușilor organici remanenți până la normele sanitare (pentru soluțiile concentrate) cu [RD]₀=200,0 mg/L sau la epurarea soluțiilor mai puțin concentrate ([RD]₀=100,0 mg/L) prin combinarea metodelor de electroflotocoagulare și adsorbție a compușilor remanenți de către cărbunii activi (Tab.9).

Tabelul 9

Electroflotocoagularea sistemelor model Col-Agent.aux.-Egl în funcție de concentrația inițială a colorantului și etilenglicolului; I=0,4 A, Al₂(SO₄)₃=0,1N, t.electrof.=10 min., m(cărb.)=5,0 g

| [Egl] ₀ = X mg/L | PA-OP-Egl | | | | RD-LSNa-Egl | | | |
|--------------------------------|---|-------------------|-------------------------------|-------|---|-------------------|-------------------------------|-------|
| | Electroflotocoagulare, C(Al ³⁺)=8,1 mg/L, pH=5,5-6,0 | | Adsorbția pe cărbune activ | | Electroflotocoagulare, C(Al ³⁺)=13,5 mg/L, pH=4,0-4,5 | | Adsorbția pe cărbune activ | |
| | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E., % |
| | [PA] ₀ =100,0 mg/L, [OP] ₀ =60,0 mg/L, [Egl] ₀ = X mg/L | | | | [RD] ₀ =100,0 mg/L, [LSNa] ₀ =60,0 mg/L, [Egl] ₀ = X mg/L | | | |
| X=20,0 | 10,6 | 84,8 | 10,0 | 85,7 | 4,4 | 96,9 | - | - |
| X=40,0 | 11,9 | 86,0 | 10,6 | 87,5 | 8,1 | 94,6 | - | - |
| X=60,0 | 12,5 | 88,1 | 11,23 | 89,2 | 13,1 | 92,2 | 3,2 | 97,9 |
| X=80,0 | 13,8 | 89,8 | 12,5 | 90,7 | 16,2 | 90,9 | 5,6 | 96,9 |
| | [PA] ₀ =200,0 mg/L, [OP] ₀ =60,0 mg/L, [Egl] ₀ = X mg/L | | | | [RD] ₀ =200,0 mg/L, [LSNa] ₀ =60,0 mg/L, [Egl] ₀ = X mg/L | | | |
| X=20,0 | 17,5 | 86,0 | 17,5 | 86,0 | 5,0 | 97,7 | - | - |
| X=40,0 | 18,8 | 88,6 | 18,1 | 89,0 | 6,3 | 97,4 | - | - |
| X=60,0 | 21,3 | 89,6 | 20,6 | 89,8 | 8,1 | 96,9 | - | - |
| X=80,0 | 23,1 | 90,8 | 21,9 | 91,3 | 10,0 | 96,4 | 8,3 | 97,1 |

Creșterea neesențială a efectului de adsorbție pentru sistemul PA-OP-EGL se explică, pe de o parte, prin faptul că gradul de asociere a moleculelor de colorant direct RD este mai mare decât gradul de asociere a moleculelor de colorant PA, iar, pe de altă parte, că efectul de dispersie este diferit, în funcție de natura dispersantului. Prin urmare, spre deosebire de amestecul de colorant activ PA și oxidul de propilenă, efectul înlăturării amestecului de colorant direct RD și ligninsulfonat de sodiu în prezența etilenglicolului este mai mare și se micșorează cu mărirea concentrației dispersantului. Însă, concentrația remanentă a compușilor organici poate fi micșorată până la normele sanitare prtn adsorbția lor de către cărbunii activi și soluțiile mai concentrate pot fi epurate prin combinarea metodei de electroflotocoagulare și adsorbție pe cărbunii activi. Deoarece efectul de dispersie a oxidului de propilenă este mai mare, efectul de înlăturare a amestecului de RD, oxid de propilenă și etilenglicol este mai mic decât în prezența ligninsulfonatului de sodiu, iar soluțiile pot fi epurate numai prin combinarea metodei de electroflotocoagulare și adsorbție pe cărbunii activi.

Sistemul ce conține colorant activ, PA-OP-Egl, are un efect mai mic de electroflotocoagulare față de sistemul RD-LSNa-EGL și adsorbția pe cărbune activ nu are loc, până la concentrația limită admisibilă. Pentru mărunțirea moleculelor s-a aplicat oxidarea catalitică după electroflotocoagulare (Tab.10).

Tabelul 10

Electroflotocoagularea sistemului model PA-OP-EGL în funcție de concentrația inițială a colorantului și etilenglicolului; I=0,4 A, Al₂(SO₄)₃=0,1N, t.electrof.=10 min., m(cărb.)=5,0 g

| [EGL] ₀ = X mg/L | Electroflotocoagulare, C(Al ³⁺)=8,1 mg/L, pH=5,5-6,0 | | Oxidare catalitică [Fe ²⁺]= 3*10 ⁻⁴ M, [H ₂ O ₂]=3*10 ⁻³ M, pH=2,0-2,5 | | Adsorbția pe cărbune activ | |
|-----------------------------|---|-------------------|--|---------------|-------------------------------|----------|
| | CCO, mgO/L | E.electrof., % | CCO, mgO/L | E.oxid., % | CCO, mgO/L | E., % |
| | [PA]₀=100,0 mg/L, [OP]₀=60,0 mg/L, [EGL]₀= X mg/L | | | | | |
| X=20,0 | 10,6 | 84,8 | 6,3 | 91,1 | 1,3 | 98,2 |
| X=40,0 | 11,9 | 86,0 | 7,5 | 91,2 | 1,9 | 97,8 |
| X=60,0 | 12,5 | 88,1 | 8,1 | 92,2 | 1,9 | 98,2 |
| X=80,0 | 13,8 | 89,8 | 9,4 | 93,1 | 2,5 | 98,2 |
| | [PA]₀=200,0 mg/L, [OP]₀=60,0 mg/L, [EGL]₀= X mg/L | | | | | |
| X=20,0 | 17,5 | 86,0 | 13,8 | 89,0 | 1,3 | 99,0 |
| X=40,0 | 18,8 | 88,6 | 14,4 | 91,3 | 2,5 | 98,5 |
| X=60,0 | 21,3 | 89,6 | 14,4 | 93,0 | 4,4 | 97,9 |
| X=80,0 | 23,1 | 90,8 | 14,4 | 94,3 | 5,6 | 97,8 |

Agenții auxiliari studiați din componența sistemelor model formate din doi compuși: PA-OP, RD-OP, RD-LSNa, unde variază concentrația inițială a dispersantului, și PA-OP-EGL, RD-OP-EGL, RD-LSNa-Egl, unde variază concentrația inițială a polialcoolului, au proprietatea de a micșora efectul de înlăturare (Fig.4).

În Figura 4 este comparat CCO-Cr în sistemele studiate, la variația concentrației inițiale a agenților de dispersie în prezența etilenglicolului. Dacă pentru sistemul care conține colorant direct RD este suficientă doar metoda de coagulare urmată de adsorbția pe cărbune activ, pentru sistemul care conține colorant activ PA este necesar să se aplice metoda de oxidare catalitică înainte de adsorbție.

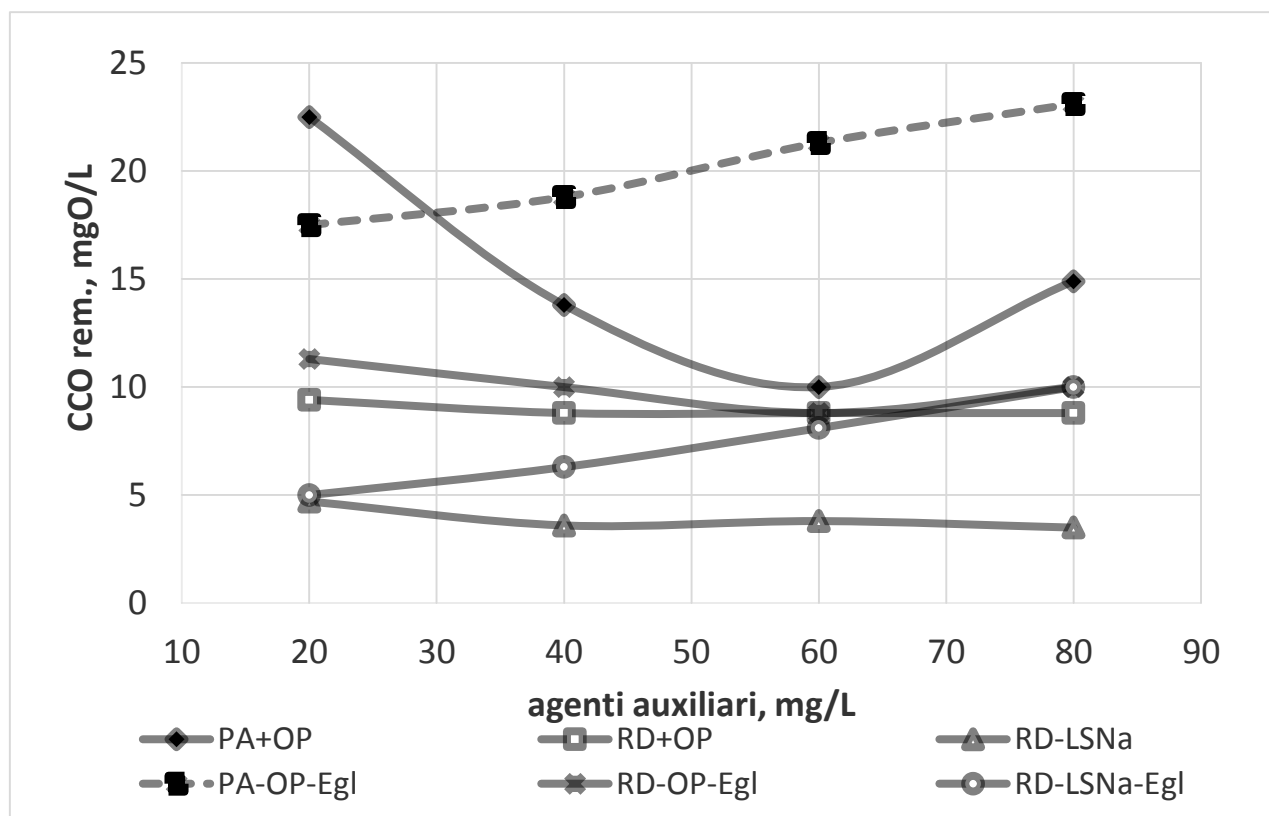


Fig.4. Dependența CCO-Cr de concentrația inițială a compușilor auxiliari din sistemele Col-Disp. și Col-Disp.-Egl; [Col.]₀=200,0 mg/L, [agent.aux.]₀=60,0 mg/L, I=0,4 A, pH=4,0-6,0, Al₂(SO₄)₃=0,1N, t.electrof.=10 min.

Concluzii

1. La creșterea concentrației inițiale a colorantului în sistem, efectul înlăturării amestecului de colorant și dispersant se mărește, iar cu mărirea concentrației dispersantului efectul înlăturării se micșorează. Efectul de înlăturare depinde de natura dispersantului.
2. S-a stabilit că efectul de înlăturare a amestecului de colorant RD și ligninsulfonat de sodiu este mai mare și soluțiile se epurează numai prin electroflotocoagulare, iar efectul înlăturării amestecului de colorant PA și oxid de propilenă este mai mic și soluțiile se epurează numai prin combinarea metodelor de electroflotocoagulare și adsorbție pe cărbuni activi.
3. S-a constatat că, în prezența etilenglicolului, soluțiile care conțin în amestec colorantul RD se epurează prin combinarea metodelor de electroflotocoagulare și adsorbție, iar cele care conțin colorantul PA se epurează prin combinarea metodelor de electroflotocoagulare, oxidare catalitică și adsorbție pe cărbuni activi.

Referințe:

1. КИСЕЛЁВ, А. Экологические аспекты процессов отделки текстильных материалов. В: *Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева*, 2002, т. XLVI, № 1.
2. CHUN, H. and YICHANG, W. Decolourization and biodegradability of photocatalytic treated azo dyes and wool textile wastewater. In: *Chemosphere*, 1999, no.39(12), p.2107-2115.
3. RAZO-FLORES, E., LUIJTEN, M., DONLON B. Biodegradation of Selected Azo Dyes under Methanogenic Conditions. In: *Wat. Sci. Tech.*, 1997, no.36, p.65-67.
4. KUNAL, N., TRIVEDI, A., BORICHA, B., HARI, C. Adsorption of remazol brilliant blue dye from water by poly-aluminum chloride. In: *Journal Chemistry*, 2009, vol.2, no.2, p.379-385.
5. PHALAKORNKULE, C., POLGUMHANG, S., TONGDAUNG, W. *Performance of an Electrocoagulation Process in Treating Direct Dye: Batch and Continuous Up flow Processes*. World Academy of Science, Engineering and Technology, 2009, p.57.

6. HORREAKIS, F., ALDELAZIS, A., ABDELTRANU, Y., BENHAMMOU, A. Treatment of textile dye effluents using coagulation-flocculation coupled with membrane processes or adsorption on powdered activated carbon. In: *Desalination*, 2009, no.235, p.330-339.
7. AHMAD, A.L., PUASA, S.W. Reactive dyes decolourization from an aqueous solution by combined coagulation/micellar – enhanced ultrafiltration process. In: *Chemical Engineering Journal*, 2007, no.132, p.257-265.
8. MOH FAIQUN NI'AM, OTHMAN, F., SOHAILI, J., FAUZIA, Z. Removal of COD and turbidity to improve wastewater quality using electrocoagulation technique. In: *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2007, vol.11, no.1, p.198-205.
9. PERKOWSKI, J., LECH KOS. Decolouration of Model Dye house Wastewater with Advanced Oxidation Processes. In: *FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe*, 2003, no.3(42), vol.11.
10. SUDARJANTO, G., KELLER-LEHMANN, B., KELLER, J. Photooxidation of a reactive azo-dye from the textile industry using UV/H₂O₂ technology > process optimization and kinetics. In: *Journal of Wastewater Environment Technoloz.*, 2005, vol.3, no.1, p.1-7.
11. WIKTOROWSKI, S., DEBICKA, A. Investigation on dyes oxidation by Fenton's reagent in aqueous medium. In: *Annales Universitatis Maria Curie-Skladowskaia (Kalublin-Polonia)*, vol.5, 2004.
12. CARNEIRO, P., FUGIVARA, C., NOGUEIRA, R., ZANONI, M. A Comparative Study on Chemical and Electrochemical Degradation of Reactive Blue 4 Dye. In: *Portugalete Electrochemical Act*, 2003, no.21, p.49-67.
13. RADULESCU, C., IONITA, I., MOATER, I., STIHI, C. Decolourization of textile wastewater containing green cationic dye by AOPs. In: *Ovidius University Annals of Chemistry*, 2009, vol.20, no.1, p.66-71.
14. BEN MANSOUR, L., KOLSI, K., KSENTINI, I. Influence of current density on oxygen transfer in an electro flotation cell. In: *Journal Applicate Electrochemist*, 2007, no.37, p.887-892.
15. ЛУРЬЕ, Л. *Унифицированные методы анализа вод*. Москва, 1968.

Prezentat la 09.11.2016

CZU: 574.4: 911.375: 502.31

POLUAREA MEDIULUI ECOURBAN ȘI MODALITĂȚI DE REDUCERE A EI**Gheorghe NICULIȚA***Universitatea de Stat din Tiraspol*

Au fost studiate condițiile de formare a calității mediului urban, privit ca un ecosistem antropizat. Au fost determinate sursele și ingredientii poluatori ai unui oraș mediu industrializat și căile de migrație a lor în atmosferă, sedimentarea lor pe suprafața subiacentă, pătrunderea în sol și în plante. Sunt prezentate date despre starea sănătății populației, determinată de calitatea mediului.

Cuvinte-cheie: *ecosistem urban, dezvoltare durabilă, modalități de reducere a poluanților, monitorizare.*

THE POLLUTION OF ECOURBAN ENVIRONMENT AND THE WAYS OF REDUCING IT

The presented data confirm the fact that the human society has become one of the factors forming the environment quality. Urban media differ in the ways they influence upon adjacent natural ecosystems. All of them are oriented so as to achieve an ecologic equilibrium that would combine decent living conditions for people from the one hand and a "healthy" environment from the other hand.

Keywords: *urban ecosystem, long-term development, ways of pollutants reduction, monitoring.*

Introducere

Din punct de vedere ecologic, calitatea vieții a devenit pe mapamond sferă de preocupare a tuturor oamenilor de știință. Procesul de creștere accelerată a numărului de orașe în ultimul semicentenar a modificat semnificativ „înfașurarea” Terrei. Urbele industrializate devin areale de transformare a substanțelor și de consum al energiei, similare ecosistemelor naturale. Devenind ecosisteme heterotrofe, ele activ transformă materia primă și fluxul de energie de origine antropică, emanând în mediul înconjurător substanțe poluante. Conștientizarea acestui fapt de către cercurile științifice a adus la apariția unei noi ramuri a ecologiei – Ecologia urbană. Profesorul Dediu definește Ecologia urbană ca „domeniu al ecologiei care studiază orașul ca un ecosistem complex și unic, constituit din cele mai diverse elemente abiotice, biotice, sociale, culturale, politice etc.” [1, p.233]. La Consfătuirea internațională pe problemele ecologiei urbane, care a avut loc în 1988 în orașul Rodos (Grecia), a fost menționat faptul că ecologia urbană este una dintre cele mai actuale teme la ordinea zilei. Aceasta concentrează toate problemele ecologiei zonelor rezidențiale în ansamblu. Ideea de bază lansată la această Consfătuire declară problemele ecologiei orașului ca fiind actuale și de importantă primordială. În cadrul orașului mediul natural se acomodează la condițiile de tehnogeneză, formând un nou tip de relații între societate și factorii de mediu. Catastrofa ecologică în orice tip de manifestare este, în primul rând, catastrofa omului [2-4]. În acest articol sunt reflectate unele rezultate ale cercetărilor poluării mediului de către întreprinderile industriale ale orașului Tiraspol, care nu se limitează doar la una dintre sferile învelișului geografic (atmosferă, hidrosferă, litosferă, biosferă), ci le afectează pe toate, migrând din una în alta. În fiecare dintre sferile naturale substanța poluantă intră în contact cu componentele lor, migrează în componentele morfologice ale vegetației și influențează direct sănătatea populației. Studiul ecologic al unui municipiu a fost efectuat după modelul sistemului natural, în care procesele de bază sunt determinate de schimbul de substanțe și transformări ale energiei și care se evidențiază ca un ecosistem antropizat, ecosistem urban.

Metodele de cercetare

Realizarea scopului investigațiilor a derulat în trei direcții funcționale:

- 1) Cercetarea poluării bazinului aerian al urbei;
- 2) Sedimentarea substanțelor degajate în locul din intravelanul urbei;
- 3) Influența emisiilor nocive asupra învelișului de sol și a vegetației.

Pentru realizarea scopului au fost utilizate mai multe metode și aparate de măsurat.

Metoda gravimetrică. Determinarea cantității de praf sedimentat. Volumul de aer cercetat se trece prin filtru din stofă ГРР -15 cu ajutorul aspiratorului de praf. În timp de 8 ore prin filtru se trec 1000 l de aer, apoi se cântărește cu precizie de +/- 0,05 mg, se determină diferența dintre greutatea filtrului cu praf și greutatea lui inițială.

Metoda spectrală roentgen – fluorescentă. Determinarea metalelor grele în probele de sol, litieră și coajă. Măsurările au fost efectuate cu ajutorul aparatului „SPECTROSCAN MAKС”, produs de compania «НПО Спектрон» din Sankt Petersburg.

Metoda gama-spectrală. Măsurarea conținutului de cesiu în probele de sol și scoarță. Măsurările au fost efectuate cu ajutorul unui spectrometru multicanal ORTEC Digidart cu detector de semiconductor de tipul HPGe cu rezoluția 1.92 keV la peakul Co-60 1,33MeV și eficiența relativă 34,2%.

Colectarea și prelucrarea datelor

Starea ecologică a mediului urban Tiraspol este determinată de specificul infrastructurii industriale. Ca bază de efectuare a investigațiilor de migrare a substanțelor în circuitul atmosferă – sedimentare pe suprafața subiacentă – sol – vegetație a servit teritoriul uzinei „Moldavizolit”. Dintre diferite substanțe nocive degajate, pentru întreprinderea dată sunt specifice așa substanțe nocive ca: fenolul, toluenul, aldehida formică etc. Unul dintre experimente prevedea determinarea cantității de poluanți gazoși ce se sedimentează odată cu particulele de praf. Prin metoda gravimetrică și calcule matematice a fost determinat zilnicul. Prin intermediul aerosolului pe suprafața reală a întreprinderii se sedimentează 94,9 mg de fenol. Ca elemente de analiză au fost stabiliți fluorul, clorul și borul (F, Cl, B) ce intră în componența unor pigmenti, care se utilizează la această întreprindere. Aplicând metoda atomo-absorbțională și analiza spectrală a soluțiilor acestor prafuri, a fost determinat conținutul celor mai toxici componenți sedimentați ce au fost emanați de la întreprinderea numită. Rezultatele cercetărilor sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1

Rezultatele analizei conținutului unor elemente în soluțiile de praf, or.Tiraspol

| Punctele de colectare a prafului | F (mg/l) | Cl (mg/l) | B (mg/l) |
|----------------------------------|----------|-----------|----------|
| Raionul locativ (Nr.3) | 0,75 | 54,74 | 0,089 |
| Stația de epurare (Nr.4) | 0,76 | 42,54 | 0,097 |
| CMA în apă (mg/l) | 1,5 | lipsește | lipsește |

Conform datelor din acest tabel, concentrația fluorului în soluțiile de praf este minimă, iar pentru celelalte elemente indicele CMA lipsește.

Substanțele poluante sedimentate împreună cu praful pătrund în stratul de sol din limitele urbei, precum și în cele din afara lui (Tab.2).

Tabelul 2

Conținutul de elemente chimice în roci și soluri, mg/kg

| Elementul chimic | În rocile pedogenetice ale Republicii Moldova | În solurile Republicii Moldova | În solurile României | În solurile or. Tiraspol | În solurile or. Iași |
|------------------|---|--------------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
| Pb(32) | 17 | 25 | 20 | 33,3 | 27,73 |
| Cu(60) | 22 | 32 | 20 | 93,3 | 45,36 |
| Ni(50) | 38 | 39 | 40 | 40,2 | 38,13 |
| Zn(300) | 65 | 71 | 70 | 173,9 | 114,78 |
| Cr(90) | 86 | 91 | - | 92,6 | 36,0 |

*(CMA) [5,6]

Cercetările care au fost efectuate și oglindite în deferite surse denotă că pe lângă spectrul de metale de fond prezente în straturile superioare ale litosferei sunt prezente și cele de origine antropică, care se caracterizează ca metale grele. Cele mai răspândite elemente poluante în solurile or. Tiraspol sunt Pb, Cu, Ni, As, Zn, Cr. Prezența metalelor în solurile urbane determină următorul segment de migrație a lor, și anume – plantele. Investigațiile efectuate asupra elementelor arborilor care înverzesc spațiul urban au arătat prezența lor în scoarța copacilor și în litiera din preajma lor.

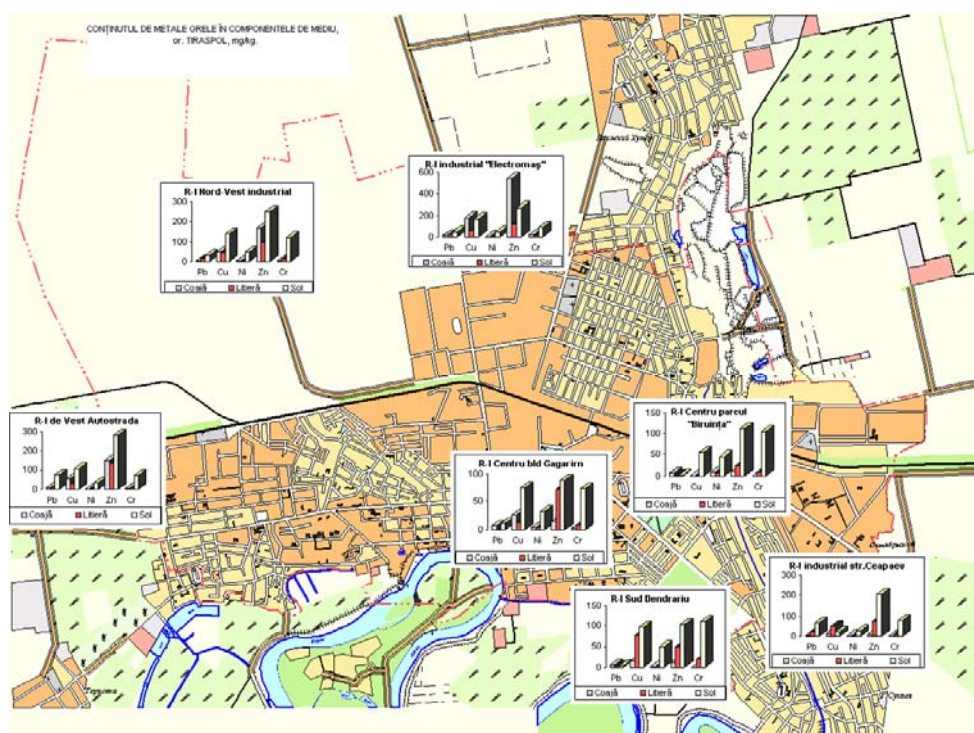


Fig.1. Conținutul de metale în scoarță copacilor, literă și în solurile or. Tiraspol.

Investigații multianuale privind starea radio-ecologică a mediului ambient al Republicii Moldova au fost efectuate de Secția Radiologie a Filialei Chișinău a Institutului Central de Deservire Agrochimică (or. Moscova), actualmente Centrul Republican de Radiologie Aplicată, de către savanți, inclusiv de către profesorul Stasiev [7,8]. Pentru aceasta, ne-am propus determinarea poluării cu radionuclidul Cs-137 a solului din regiunea or. Tiraspol și a consecințelor difuziei acestui radionuclid asupra vegetației. În vederea determinării concentrației de Cs-137 a fost utilizată metoda gama-spectrometrie. Rezultatele investigațiilor sunt prezentate în Tabelul 3.

Tabelul 3

Conținutul de Cs-137 (Bq/kg) din probele de sol colectate din două zone selectate ale or. Tiraspol și acumularea lor în vegetație

| Nr. crt. | Zona 1 | | Zona 2 | |
|----------|------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | Proba studiată | Conținutul de Cs-137, Bq/kg | Proba studiată | Conținutul de Cs-137, Bq/kg |
| 1 | Sol colectat de la suprafață | 160,36 ± 16,04 | Sol colectat de la suprafață | 24,68 ± 2,47 |
| 2 | Sol colectat de la 15 cm | 60,42 ± 6,04 | Sol colectat de la 15 cm | 11,96 ± 1,19 |
| 3 | Sol colectat de la 30 cm | 6,16 ± 0,62 | Sol colectat de la 30 cm | 4,56 ± 0,46 |
| 4 | Cenușa din pais | 13,64 ± 1,36 | Cenușa din plantă ierboasă | 11,64 ± 1,16 |
| 5 | Cenușa din tulpina uscată de arțar | 32,88 ± 3,29 | Cenușa din lemn de arțar | 0,34 ± 0,03 |
| 6 | Cenușa din frunze de arțar | 7,18 ± 0,72 | Cenușa din frunze de arțar | 1,30 ± 0,13 |
| 7 | Cenușa din copac de frasin | 3,13 ± 0,31 | Cenușa din tulpina de arbore | 7,19 ± 0,72 |
| 8 | Cenușa din frunze de frasin | 0,22 ± 0,02 | Cenușa din frunze de tei | 1,77 ± 0,18 |

În Republica Moldova sunt cca 40 000 bolnavi de maladii oncologice și numărul acestora se mărește anual cu 7-7,5 mii. Ajutor medical deplin primesc doar 58,6% din numărul total de bolnavi [9,10].

Numărul de bolnavi de maladii oncologice în UAT din stânga Nistrului este de 6 cazuri la 1000 de locuitori. Investigațiile sistematice arată că în ultimii ani morbiditatea oncologică stabil crește (Tab.4).

Tabelul 4

Dinamica creșterii oncopatologiilor în Transnistria

| Indice | 2000 | | 2001 | | 2002 | |
|--------------|---------------|---------------------------------|---------------|---------------------------------|---------------|---------------------------------|
| | Numărul total | Numărul la 100 mii de locuitori | Numărul total | Numărul la 100 mii de locuitori | Numărul total | Numărul la 100 mii de locuitori |
| Morbiditatea | 1441 | 221,1 | 1533 | 238,6 | 1553 | 245,1 |
| Bolnavi | 7571 | 1161,6 | 7789 | 1212,3 | 7937 | 1252,7 |

Un important indice de apreciere a desfășurării proceselor de morbiditate, dar și a stării oncopatologice din regiune este indicele mortalității provocat de tumorile oncologice. Datele din Tabelul 5 arată un nivel înalt al mortalității și tendința de creștere a numărului de decesuri [11].

Tabelul 5

Apreciere comparativă a mortalității oncologice în UAT din stânga Nistrului

| Indice | Numărul de decesuri la 1000 de locuitori | | | | | | | |
|----------------------------------|--|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1995 | 1996 | 1997 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 |
| Numărul total de decesuri | 11,8 | 11,9 | 12,2 | 11,6 | 11,4 | 11,8 | 12,0 | 12,7 |
| Decesuri de la tumori oncologice | 1,6 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,6 | 1,6 | 1,8 | 1,9 |

Rezultate și discuții

De rând cu Oceanul Mondial, bazinul aerian mult timp a servit ca mediu de emisii ale substanțelor nocive atât prin intermediul coșurilor de dejecție, cât și în mod direct. În ultimele decenii au apărut și pe larg se utilizează instalații de captare a substanțelor poluante. Cu toate acestea, până în prezent în atmosferă sunt degajate cantități enorme de substanțe improprii componenței aerului atmosferic. Principalii furnizori de poluanți ai aerului atmosferic sunt centrele urbane industrializate. Substanțele poluante din aerul atmosferic sunt adsorbite de particulele de praf și sedimentate pe suprafața subiacentă, continuând migrarea în ciclurile vitale. Componentele mediului posedă capacitate diferită de absorbție și depozitare a metalelor grele. Investițiile noastre din ultimul timp privind acumularea metalelor grele în sol și plante arată că, sumar, mai poluat este solul. În țesuturile și frunzele plantelor a fost înregistrat un conținut mai mic de aceste elemente. Din punctul de vedere al efectului asupra componentelor de mediu sunt substanțele toxice în stare gazoasă și lichidă. De rând cu ele se apreciază și efectul radionuclizilor, care tot mai frecvent pătrund în mediul înconjurător în rezultatul avariilor la stațiile atomo-electrice. Măsurările de față au avut ca scop evaluarea, la 30 de ani de la cea mai mare catastrofă ecologică din istoria recentă a Europei, a situației radioecologice a regiunii orașului Tiraspol. Datele obținute privind conținutul de Cs-137 (Bq/kg) din probele de sol colectate din două zone selectate din regiunea orașului Tiraspol și acumularea lor în vegetație sunt prezentate în Tabelul 3. Rezultatele obținute privind conținutul de Cs-137 din probele de sol colectate din zona 1, care se află în afara orașului, sunt de aproximativ 6 ori mai ridicate decât în zona 2 din limitele lui. Valoarea ridicată a conținutului de Cs-137 – de 160,36 Bq/kg, găsită în solul colectat de la suprafață din zona 1, este peste limita așteptată. Deși în zona 2 s-a găsit o valoare mică de Cs-137 (de 24,68 Bq/kg), totuși această valoare este de două ori mai mare față de valorile conținutului de Cs-137 (sub 14,8 Bq/kg) din sol, măsurate anterior accidentului de la Cernobâl [7,8]. Datele prezentate în această lucrare arată gradul înalt de poluare a mediului cu metale grele și radionuclizi, care are tendința de a spori.

Principalul indicator al stării ecologice a mediului ambiant este starea de sănătate a populației. Calitatea mediului ecourban influențează starea sănătății nu doar a populației orașului, dar și a celor din localitățile mai îndepărtate. În lumea contemporană se poate evidenția un vector al progresului tehnico-științific – apropierea de un echilibru optimal al calității condițiilor de viață. El este unul dintre criteriile de bază ale contemporaneității, deoarece de realizarea lui depinde soarta întregii civilizații umane. Până în prezent în Republica

Moldova și în UAT din stânga Nistrului rămâne înaltă morbiditatea oncologică. În Republica Moldova sunt cca 40 000 bolnavi de maladii oncologice și numărul acestora se mărește anual cu 7-7,5 mii [9-11].

De-a lungul perioadei de investigație a stării ecologice în or. Tiraspol unul dintre principalii ingredientii poluanți ai aerului atmosferic rămâne praful adus de pe câmpurile agricole care îl înconjoară. O modalitate de diminuare a poluării orașului cu praf ar fi sădirea fâșiilor forestiere la nord-vest de oraș, care ar servi ca o barieră în calea maselor de aer predominante și un filtru de stopare a particulelor de praf. Raionul nord-vest este cel mai poluat din oraș.

O altă modalitate de reducere a poluării urbelor este organizarea teritoriului, care ar prevedea măsuri tehnice și economice în scopul utilizării raționale a capacităților ecologice. Măsurile de reorganizare a teritoriilor municipale în scopuri ecologice pot fi realizate în două etape:

- 1) schimbări curente;
- 2) organizare realizată în cadrul planului general de reconstrucție a orașului.

Schimbările curente includ așa măsuri ca: organizarea suprafețelor înverzite între zona industrială și zona locativă; aplicarea tehnologiilor moderne în procesul de producere industrială; aplicarea tehnologiilor nepoluante; aplicarea mecanismelor de filtrare și purificare a aerului și a apelor uzate etc.

Organizarea teritoriului urbei, conform planurilor generale de reconstrucție, ține cont de caracterul întreprinderilor industriale din sectorul economic, gama de ingredientii poluatori ai mediului urban și de efectele negative în legătură cu elementele climatice, aplicarea tehnologiilor moderne, amplasarea favorabilă a întreprinderilor din punct de vedere ecologic. Organizarea teritoriului are tangențe directe cu reconstrucția ecologică, ambele fiind niște modalități de reducere a poluării mediului ecourban.

Concluzii

Analiza comparativă a concentrației ingredientilor poluanți în ultimii doi ani cu datele investigațiilor efectuate în perioada 1988-2014 denotă că schimbări esențiale în procesul de formare a calității mediului în or. Tiraspol nu au avut loc. Și în prezent rămân, în ansamblu, aceleași surse de poluare și aceiași ingredientii poluatori. În anul 2015 față de anul 2014 emisiile de substanțe poluante în UTA din stânga Nistrului au sporit și au alcătuit 11 127 tone în primul trimestru, dintre care 72,6% proveneau de la sursele mobile. Ca și în anii precedenți, în aerul atmosferic rămâne înaltă concentrația de praf, fenol și CO. În perioada de primăvară-vară în aer se înregistrează conținut sporit de fenol și praf.

Referințe:

1. DEDIU, I. *Enciclopedie de ecologie*. Academia de Științe a Moldovei. Chișinău: Știința, 2010. 836 p.
2. AȘEVȘCHI, V., DUDNICENCO, T., ROȘCOVAN, D. *Ecologie și protecția mediului*. Chișinău: ULIM, 2007. 399 p.
3. MORRIS, P. Dans la jungle des villes. En: *La Recherche*, 2000, no.333, p.31-33.
4. CRISTEA, V., BACIU, C. Orașul privit ca ecosistem. În: *Materialele Simpozionului „Mediul – Cercetare, Protecție și Gestiune”* din 25-26 octombrie, 2002, p.145-148.
5. КИРИЛЮК, В.П. *Микроэлементы в компонентах биосферы Молдовы*. Кишинёв: Pontos, 2006. 155 с.
6. *Atlasul geochimic al metalelor grele din solurile municipiului Iași și împrejurimi* / Editori responsabili Ovidiu Gabriel Iancu, Nicolae Buzgar. Iași: Editura Universității „Alexandru Ioan Cuza”, 2008.
7. STASIEV, GR., NEDEALCOV, S., BURLACU, I. *Starea radioecologică a mediului Republicii Moldova*. Chișinău, 1998. 78 p.
8. СТАСЬЕВ, Г.Я., КАРАБАДЖАК, И.Г., НЕДЯЛКОВ, С.И. и др. Содержание и миграция радиоактивных микроэлементов в системе удобрения – почва – растения. В: *Почвы Молдовы и их изменение в условиях интенсивного земледелия*. Кишинёв: Штиинца, 1991.
9. ГУЦУЛЯК, А.И. Принципы противораковой борьбы в Приднестровье в контексте устойчивого развития. В: *Материалы Международной конференции „Quality of life and sustainable development”*. Тирасполь: ЦСПИ „Перспектива”, 2007, с.22-28.
10. ГУЦУ, В.Ф., БРАДИК, Г.М. Проблмы взаимодействия человека с окружающей средой в образовательной деятельности. В: *Материалы Международной конференции „Quality of life and sustainable development”*. Тирасполь: ЦСПИ „Перспектива”, 2007, с.42-45.
11. МЕРЕУЦЭ, И.Е., ЧЕРНАТ, В.Ф., УНТУ, Б.П. *Реабилитация и паллеативная помощь онкологическим больным*. Кишинёв, 1999. 55 с.

Prezentat la 23.06.2016

CZU: 661.1: 157.164

EFICIENTIZAREA OBȚINERII SEDIMENTELOR FURAJERE B₁₂-VITAMINIZATE DIN APE REZIDUALE AGROINDUSTRIALE: 2. MODIFICĂRI ALE UTILAJULUI

*Victor COVALIOV, Valentin BOBEICĂ,
Olga COVALIOVA, Vladimir NENNO*

Universitatea de Stat din Moldova

Prin modificări constructive ale dispozitivelor bioreactorului și soluții noi: separarea zonelor acetogenă și metanogenă în interiorul bioreactorului, recircularea CO₂ și suplimentarea acestuia cu H₂ exogen, adsorbția vitaminei B₁₂ din lichidul postfermentare cu diatomită s-a obținut ridicarea conținutului de vitamina B₁₂ în sedimentele epurării fermentativ-metanogene (anaerobe) a borhotului postalcoolic până la calitatea de concentrat furajer B₁₂-vitaminizat, concomitent cu intensificarea producerii biometanului, ca elemente ale ridicării eficienței ecologo-economice a epurării anaerobe a borhotului.

Cuvinte-cheie: bioreactor, producerea biometanului, vitamina B₁₂, concentrat furajer B₁₂-vitaminizat, H₂ exogen, metanogeneză, recircularea CO₂.

MORE EFFICIENT PRODUCITON OF VITAMINIZED FORAGE SLUDGE CONTAINING B₁₂ FROM AGRO-INDUSTRIAL WASTES: 2. EQUIPMENT MODIFICAITON

The increase in vitamin B₁₂ contents in the sludge was obtained resulted from the methanogenic (anaerobic) digestion of post-distillery vinasse, through the design modifications of bioreactor interior, CO₂ re-circulation and its interaction with additionally dosed exogenic hydrogen. Vitamin B₁₂ was further adsorbed on diatomite surface from the post-digestion liquid, which made it possible to produce the cattle forage concentrate enriched with vitamin B₁₂. At the same time, biomethane production was intensified, being the element of ecologically-economic efficiency of anaerobic treatment of vinasse (agro-industrial waste).

Keywords: bioreactor, biomethane production, vitamin B₁₂, forage concentrate vitaminized with B₁₂, exogenic H₂, methanogenesis, CO₂ re-circulation.

Introducere

Importanța aplicativă a producerii preparatelor B₁₂-vitaminizate. Vitamina B₁₂ este un cuplu de cobalamine, compuși biochimici naturali, esențiali pentru organismele uman și animal, dintre care cel mai activ compus este ciancobalamina. Vitamina B₁₂ este deosebit de importantă ca factor activ al hematopoezei și dezvoltării speciilor de mamifere și a multor specii de microorganisme. Aceasta stimulează schimbul de proteine, participă la optimizarea conținutului de aminoacizi (metionină, valină, treonină, leicină) în organismul animal și uman. Datorită acestor funcții, preparatele de vitamina B₁₂ se utilizează atât în medicina umană, pentru tratarea diferitelor maladii, inclusiv a diferitelor forme de anemie și cancer al sângelui, bolilor ficatului și al., cât și pentru prevenirea și tratarea unui șir de maladii la animale, care scad cantitatea și calitatea produselor animaliere. Diferite adaosuri nutritive, îmbogățite cu vitamina B₁₂, introduse în hrana acestora sunt factor important al formării productivității vităritului și aviculturii. Asemenea preparate sunt un ingredient indispensabil al hranei vitelor și păsărilor crescute în mod industrial, obligatoriu pentru prevenirea unui șir de maladii ale acestora și pentru menținerea productivității și calității produselor animaliere și avicole, în special produse la nivelul industrial.

În scopul asigurării vităritului în lume, se produc, prin procedee microbiologice, preparate furajere cu diferite conținuturi de vitamina B₁₂, de la câteva zeci până la câteva sute de mg vitamină la kg preparat. Este răspândită producerea industrială a unor asemenea preparate pe baza utilizării în calitate de substrat pentru microorganismele metanogene a borhotului postalcoolic de la distilarea vinului [1-4]. În urma tratării anaerobe a acestuia cu biocenoze de bacterii anaerobe, metanogene, care includ microorganisme glucidfermentatoare, metanproducătoare, amonificatoare, sulfatreducătoare, se produce metan, alte gaze și o cantitate anumită de ciancobalamina.

Procedeele cunoscute și aplicate de obținere a adaosurilor nutritive vitamino-proteice în calitate de concentrat furajer de vitamina B₁₂ din borhot postalcoolic au la bază fermentarea metanogenă a borhotului în condiții

termofile la 53-55°C, evaporarea și uscarea produsului [5]. Concentrația de vitamina B₁₂ (ciancobalamina și alte cobalamine) în produsul obținut este de 20-30 mg/kg. În același timp, gazele formate în urma fermentării conțin până la 60-70% metan, având o valoare energetică de 6200 - 6500 kkal/m³. Epurarea biologică prin fermentare microbiologică poate fi aerobă și anaerobă. Ultima variantă deschide și perspectivele de a obține biogaz cu conținut de metan și produse (nămol, faza lichidă) cu conținut de vitamina B₁₂. Aceste perspective potențiale transformă deșeurile în cauză în sursă energetică regenerabilă și în materie primă pentru diferite produse cu destinație agricolă: nămol – fertilizant pentru sol, adaos furajer vitaminizat, apă pentru irigare. Astfel, utilizând acest procedeu de epurare a deșeurilor lichide, industria bioalcoolului poate deveni o producere conformă principiilor dezvoltării durabile, fără deșeuri, cu funcționare în ciclul închis. Însă, pentru sporirea eficienței procesului, dezvoltarea domeniului pe o astfel de direcție are de depășit câteva bariere, asociate atât cu viteza în timp, cât și cu ridicarea conținutului de metan în biogaz, ceea ce concomitent ridică și conținutul vitaminei B₁₂ în sedimentul format și în lichidul epurat. Există diferite abordări privind depășirea acestor bariere. În lucrarea noastră anterioară [6] au fost prezentate anumite abordări tehnologice cu elemente principial noi. În prezenta lucrare propunem anumite modificări ale utilajului liniei tehnologice, care conduc la eficientizarea procesului de formare a vitaminei B₁₂ concomitent cu creșterea conținutului de metan în biogazul care se formează la epurarea borhotului în condițiile intensificării procesului de fermentare.

Rezultate și discuții

1. Descrierea generală a cercetării

Urmând scopul propus, ridicarea conținutului de vitamina B₁₂ în sedimentul fermentării anaerobe a borhotului cu transformarea acestuia din deșeu în concentrat furajer B₁₂-vitaminizat este privită ca una dintre modificările procesului, care pot transforma distilarea industrială a bioetanolului într-un ciclu tehnologic închis, fără deșeuri, de înaltă eficacitate energetică, cu impact minim asupra mediului înconjurător în corespundere cu principiile ecologiei industriale. În prezenta lucrare examinării sunt supuse elaborarea, modificarea și combinarea optimă a unor utilaje noi de epurare a apelor reziduale postdistilare alcoolică în scopul conjugării activităților de intensificare a metanogenezei, ca condiție fundamentală a formării vitaminei B₁₂ în procesul tratării anaerobe a borhotului postdistilare alcoolică. Astfel, sedimentul de la epurarea lichidului se transformă într-un produs B₁₂-vitaminizat, care poate fi utilizat în calitate de concentrat furajer vitaminizat. Totodată, asemenea abordare are și avantaje de mediu – prevenirea eliminării în mediu a unui deșeu, și avantaje economice – asigurarea sectorului zootehnic cu adaos B₁₂ - vitaminic ieftin.

Sarcina reiese din premisa că prin anumite modifiicări ale bioreactorului și utilajului auxiliar pot fi îmbunătățite condițiile optime pentru fermentarea metanogenă la maximum a substratului organic din borhot, condiție care poate conduce real la creșterea cantității de compuși cu activitate B₁₂-vitaminică în produsele epurării anaerobe a borhotului postalcoolic.

În cadrul prezentei cercetări s-a recurs la cuplarea a două abordări privind obținerea sedimentului cu nivel ridicat al conținutului de compuși cu activitate B₁₂-vitaminică ca produs al procesului de epurare a apelor postdistilare a bioetanolului: optimizarea constructiv-funcțională a bioreactorului și reducerea pierderilor de vitamină în procesul de izolare a produselor fermentării. În cazul fiecărei abordări au fost elaborate soluții noi cu eficiență economico-ecologică ridicată.

În calitate de substrat supus epurării a fost utilizat lichidul rezidual de la distilarea bioetanolului din material oenologic, numit în cele ce urmează borhot. Înainte de a fi deversat în mediul natural acesta este supus epurării. Una dintre caracteristicile acestui deșeu este aciditatea. Datorită conținutului de acizi organici, aciditatea borhotului variază între valorile pH = 3,5–5,5, mediu în care bacteriile metanogene nu funcționează, ceea ce solicită neutralizarea prealabilă a borhotului. La ora actuală sunt propuse diferite procedee de neutralizare electrochimică cu adaos de substanțe bazice, în special hidroxid de sodiu. Acestea ridică substanțial cheltuielile de energie (tot aici trebuie luate în considerare și costurile producerii de NaOH), materiale și volumul de muncă. În cadrul prezentei cercetări a fost elaborat un procedeu nou, mai avantajos, de neutralizare prealabilă a borhotului până la valorile pH = 6-7, bazat pe tratarea borhotului fierbinte, la ieșirea de la distilare, cu meluză măcinată, un reziduu de la carierele de piatră calcaroasă. După neutralizare urmează sedimentarea produsului solid, care poate fi utilizat în scopuri agricole: tratarea solurilor acide, adaos în hrana păsărilor, vitelor. Făina calcaroasă este un reactiv ecologic pur, se utilizează pentru neutralizarea diferitelor lichide cu mediu acid și ca supliment mineral în hrana animalelor și păsărilor agricole, ca adaos la producerea nutrețurilor combinate (GOST 26826-86).

2. Modificări constructive ale utilajului pentru stimularea fermentării anaerobe a borhotului cu acumularea vitaminei B₁₂

Modificările propuse în acest compartiment țin de prima abordare, din cele două preconizate de scopul lucrării, și anume: de optimizările constructiv-funcționale ale bioreactorului. Aici sunt prevăzute, în special, modificări ale bioreactorului propriu-zis și ale conectării la bioreactor a unui electrolizor special pentru saturarea mediului cu hidrogen, necesar aprofundării procesului de metanogeneză.

a. Bioreactorul combinat pentru obținerea adaosului nutritiv B₁₂-vitaminizat

Sarcina elaborării unui bioreactor modificat pentru fermentarea anaerobă a fost pusă în scopul îmbunătățirii unor caracteristici ale eficienței joase a bioreactoarelor cunoscute, cum ar fi: funcționarea în regim ciclic, gabaritele mari, condițiile termofile de funcționare, posibilități reduse de reglare a calității produsului finit.

Noua soluție constructivă a bioreactorului [7] a fost concepută astfel, încât să asigure compactitatea construcției, reducerea energointensității, ridicarea productivității procesului din contul trecerii funcționării bioreactorului în regim continuu cu sporirea concomitentă a calității și cantității sedimentului finit cu conținut de vitamina B₁₂, decurgerea procesului de fermentare în condiții mezofile, aprofundând gradul de epurare a apei reziduale și măbind cantitatea biometanului obținut și conținutul acestuia în biogaz.

Esența bioreactorului combinat elaborat pentru obținerea adaosului nutritiv B₁₂-vitaminizat (Fig.1) în procesul epurării apei reziduale postdistilare alcoolică are la bază, în principiu, elementele constructive caracteristice bioreactoarelor cunoscute: blocul cilindric cu garnisaj pentru fixarea microflorei, dotat cu tuburi de intrare și ieșire a lichidului supus procesării, precum și pentru evacuarea biogazului și sedimentului, senzor de presiune și electrolizor cu electrozi separați printr-o diafragmă și instalați în interior [8]. Modificările țin de următoarele: bioreactorul este executat cu fund conic, suplimentar dotat cu agitator fixat la tubul de intrare a borhotului pentru dozarea microadaosurilor (stimulenți ai fermentării, compuși intermediari pentru biosinteza vitaminei ș.a.) necesare formării suplimentare de vitamină, tubul de evacuare a lichidului este unit cu o cameră curgătoare, inelară, externă, umplută cu adsorbant pentru adsorbția vitaminei din lichidul fermentat. În interiorul corpului este montată o membrană înclinată, care separă zonele acetogenă și metanogenă ale fermentării anaerobe. Membrana asigură scurgerea între aceste zone prin partea de jos, faza gazoasă din partea acetogenă se dă în barbotor printr-un zăvor hidraulic cu conductă în partea de jos a zonei metanogene, sub care este instalat blocul tubular cu scurgere al electrolizorului – sursă de hidrogen pentru suplimentarea amestecului reactant cu acest gaz necesar intensificării metanogenezei, fapt care indirect stimulează producerea vitaminei B₁₂ de către microorganisme.

Necesitatea conectării în construcția bioreactorului a unui electrolizor pentru cazul ridicării conținutului de vitamină B₁₂ în sediment a fost dedusă în urma examinării mecanismului biochimic al formării metanului. Este cunoscut faptul că fermentarea anaerobă a biomasei decurge printr-o serie de faze, cele principale fiind hidroliza, fermentarea acetogenă și fermentarea metanogenă, fiecare dintre aceste procese având mecanisme destul de complexe. Printre diferiții compuși intermediari care se formează în primele două dintre aceste faze sunt dioxidul de carbon și o anumită cantitate de hidrogen în diferite forme. Cu toate acestea, pentru procesul vital al bacteriilor metanogene este nevoie și de oxigen liber, care în condiții anaerobe este practic absent. În această situație, o sursă de oxigen este molecula de CO₂. La faza metanogenă a procesului biochimic, CO₂ prin interacțiunea cu hidrogenul generează oxigen, prin reacția biochimică generală: $CO_2 + 2H_2 \rightarrow CH_4 + 2O^*$. Oxigenul format în acest mod este sursa de viață a microorganismelor, iar metanul (CH₄) este un rezultat al acestui proces biochimic. Însă, la faza metanogenă se consumă numai o parte din CO₂ format la fazele anterioare. Efectul este cauzat de insuficiența hidrogenului, format în primele două faze ale fermentării biochimice, pentru transformarea completă a CO₂ în metan. Prin aceasta se explică prezența unor cantități reziduale mari, de 30-40%, de dioxid de carbon în biogazul obținut prin tehnologiile cunoscute. În consecință, dozarea suplimentară de hidrogen poate intensifica faza metanogenă a fermentării. Concomitent, intensificarea activității microorganismelor metanogene va duce la creșterea cantității produse de vitamină B₁₂. Soluția propusă pentru compensarea deficitului de hidrogen în cazul dat a și fost dotarea bioreactorului cu un electrolizor modificat, cu eficiență energetică mărită, în calitate de sursă de hidrogen suplimentar.

Astfel, modelul propus de bioreactor combinat se caracterizează printr-o serie de avantaje, atât în aspectul obținerii concentratului vitaminizat, cât și al obținerii biogazului și eficienței economice a epurării apei reziduale postdistilare alcoolică:

- prezența agitatorului instalat la tubul de intrare permite reglarea cantității de microadaosuri și dirijarea calității produsului obținut care conține vitamina B₁₂;

– separarea zonei acetogene a bioreactorului, în care preponderent se elimină oxizi de carbon (CO , CO_2) cu ajutorul diafragmei înclinate, de zona unde se produce formarea biochimică a metanului (CH_4) permite direcționarea prealabilă a acestor oxizi gazoși în zona de amestecare a lor cu hidrogenul obținut prin electroliză, și mai apoi – în zona metanogenezei, fapt ce contribuie la intensificarea fermentării cu impact pozitiv asupra formării vitaminei B_{12} ;

– energointensivitatea și consumul energetic mai reduse ale procesului, consecință a decurgerii procesului de fermentare în regim mezofil la temperatura optimală de $33 \pm 2^\circ\text{C}$ și nu la temperaturi mai mari.

În afara acestora, consumul de energie externă poate fi redus sau exclus datorită posibilității cogenerării în baza biogazului format a energiilor termică și electrică și utilizării parțiale a acestora pentru menținerea regimului termic al bioreactorului și pentru alimentarea electrolizorului.

b. Modificarea constructivă și eficientizarea funcționării electrolizorului

În scopul eficientizării, sporirii posibilităților de manevrare în dozarea hidrogenului și al echilibrării lejere a cantității acestuia în raport cu CO_2 unor modificări constructive a fost supus și electrolizorul [8]. Noua schemă constructivă a blocului de electrozi cu scurgere prevede separarea spațiilor anodului și catodului printr-o membrană tubulară poroasă de ceramică, care îmbunătățește transferul de masă în volumul electrolitului alcalin, care are conductibilitatea electrică maximă și rezistență internă joasă. Consumul de energie electrică pentru electroliză W este proporțional tensiunii V și cantității de electricitate U , adică $W = V \cdot U$. În acest caz, cantitatea teoretică de energie necesară emisiei 1m^3 de hidrogen și a 1m^3 de oxigen din apă constituie $2,95\text{ kWh/h}$. Practic, această cantitate este determinată de mărimea tensiunii la electrozi, care, conform legii lui Ohm, depinde de pierderile de la rezistența internă a sistemului de electrozi. Prezența catodului tubular perforat care contactează cu suprafața diafragmei poroase de ceramică și coaxial dispus în ceramica tubulară a anodului cilindric permite a micșora la maximum distanța dintre electrozi (până la 5 mm), ceea ce și mai mult reduce pierderile ohmice și, respectiv, consumul de energie electrică la electroliză (Fig.2).

Material și metode

Bioreactorul combinat

Bioreactorul modificat și combinat cu electrolizor include corpul cilindric 1, executat cu fund conic, încălzire internă și garnisajul 2 pentru imobilizarea microflorei, dotat cu tubul 3 de intrare cu agitatorul 4 fixat pe el și tubul 5 de evacuare a lichidului, unit cu camera curgătoare, inelară, externă 6, umplută cu diatomită 7, membrana înclinată 8 cu batardoul curgător de jos 9, care separă zona acetogenă 10 cu zăvorul hidraulic 11 și țava 12 cu barbotorul 13 din zona metanogenă 14, în partea de sus a căreia este instalat zăvorul hidraulic 15 pentru evacuarea biometanului și manometrul 16, iar în partea de jos a acesteia se situează blocul tubular 17 al electrolizorului în formă de țevă de ceramică 18 (Fig.2) în calitate de diafragmă cu intrarea 19 și ieșirea 20 a electrolitului care circulă forțat de pompa 21 prin rezervorul intermediar 22 dotat cu dozatorul apei de compensare 23 și nivelometrul 24. În interiorul țevii de ceramică 18 coaxial este instalat anodul 25, iar în exteriorul țevii – catodul cilindric perforat 26 și cu fascicule de electrozi din sârmă (filament) 27, care formează zona 28 de amestecare a gazelor. De asemenea, în partea de jos a fundului conic 29 al corpului 1 este instalat tubul 30 cu supapă pentru evacuarea periodică a sedimentului.

Bioreactorul funcționează astfel: borhotul de la producerea spirtului se dă prin tubul 3 în agitatorul 4, unde concomitent se pot da dozat microadaosurile care stimulează creșterea productivității procesului de fermentare anaerobă și de obținere a metanului, adaos care include stimulenți ai creșterii plantelor și compuși

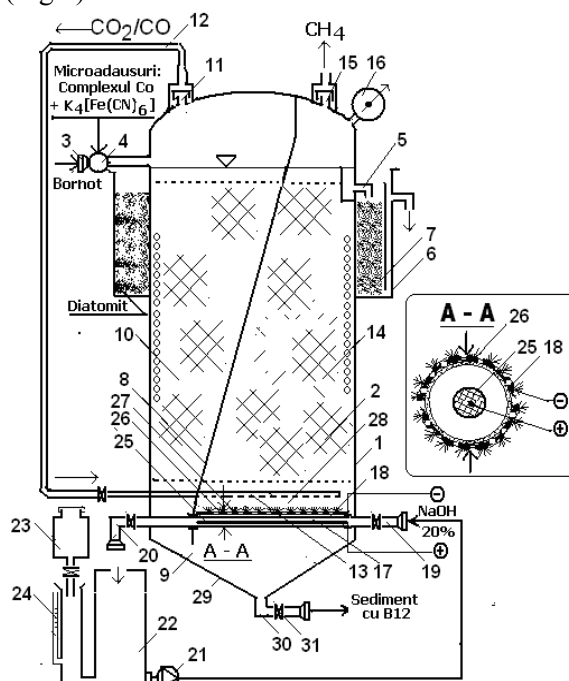
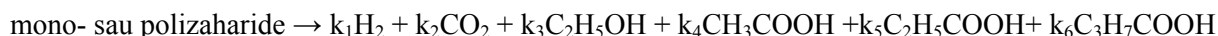


Fig.1. Schema tehnologică a bioreactorului combinat pentru intensificarea producerii anaerobe a sedimentelor cu conținut de vitamina B_{12} și schema (profilul «A-A») secțiunii transversale a electrolizorului (indicate în text) [Brevet MD de invenție nr.4156].

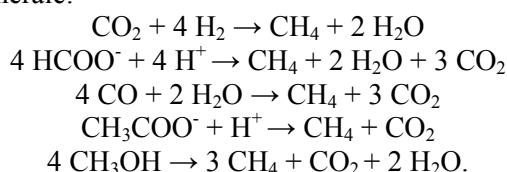
care ridică eficacitatea sintezei vitaminei B₁₂ în condițiile metanogenezei și care reprezintă compuși complecși ai cobaltului și ferocianuri. După care acest amestec se introduce în corpul 1 al bioreactorului umplut cu garnisaj pentru imobilizarea microflorei, care servește pentru stabilizarea condițiilor fermentării anaerobe. Datorită încălzirii interne în reactor se menține regimul optim mezofil în limitele 33±2°C.

Separarea spațiului intern al bioreactorului cu ajutorul membranei înclinată 8 contribuie la localizarea fazelor procesului biochimic de fermentare anaerobă și îmbunătățește condițiile decurgerii acestora. Prima fază, cea acidogenă, și hidroliza substanțelor organice se realizează în zona 10, produsele acestora fiind hidrogenul, bioxidul de carbon, etanolul, acizii acetic, propionic și butilic conform ecuației generale:



Produsele gazoase eliminate (CO₂, H₂ și CO), sub presiunea proprie, excesivă, se transferă prin zăvorul hidraulic 11 și țeava 12 în barbotorul 13, care se află în zona metanogenă de jos. Concomitent cu aceasta, lichidul prelucrat în faza acetogenă se scurge prin puntea de conexiune (batardoul) 9 în zona metanogenă.

La faza metanogenă a fermentării finalizează procesul complex de scindare a compușilor organici în condiții anaerobe, în care metanobacteriile utilizează pentru vitalitatea lor substratul care se formează la stadiile inițiale conform următoarelor ecuații generale:



Faza primară a acestui proces este interacțiunea CO₂ cu H₂. Prezența unei cantități mari de CO₂ (30-40% și mai mult) în compoziția biogazului obținut prin procedeele cunoscute poate fi datorată insuficienței de hidrogen pentru asigurarea raportului componentelor reactante necesar transformării complete a acestora cu obținere de metan. În acest timp se include în funcțiune blocul de electrozi 17 al electrolizorului prin transmiterea de curent continuu la anodul cilindric 25 și catodul cilindric perforat 26 cu fascicule de electrozi din sârmă 27, separați prin diafragma tubulară din ceramică. Prin această diafragmă, cu ajutorul pompei 21, circulă electrolitul alcalin, care se dă prin intrarea 19 și se evacuează prin ieșirea 20 în rezervorul intermediar 22, dotat cu rezervorul de dozare 23 și nivelometrul 24, unde la soluția alcalină de electrolit se adaugă apă proaspătă, a cărei cantitate scade în procesul de electroliză.

7. Electrolizorul

Electrolizorul (Fig.2) conține o țeavă din metal poros cu modificarea suprafeței electrozilor cu aliajul Ni-Re prin metoda chimico-catalitică. Electrolitul este circulator, în interiorul căruia coaxial este instalat anodul cilindric, iar în exteriorul țevii – catodul perforat. Între catod și barbotor se formează zona de amestecare a gazelor, pentru ce catodul este executat în formă de țeavă perforată cu fascicule de electrozi din sârmă (filament) fixați pe ea. Țeava de ceramică poroasă este conectată cu rezervorul intermediar pentru circulația electrolitului, dotat cu nivelometru și dozator pentru apa de completare. În calitate de electrolit pentru obținerea hidrogenului în blocul cu scurgere a electrozilor se utilizează soluție de 25-29% KOH sau de 16-18% NaOH.

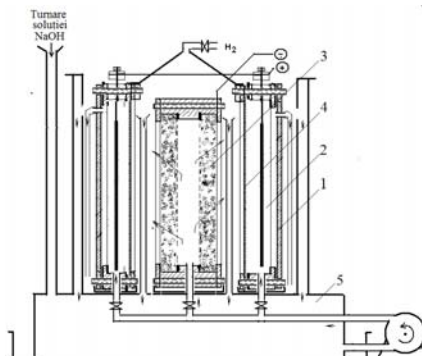
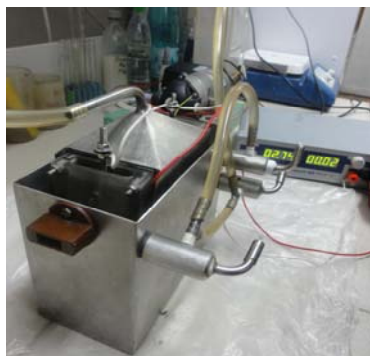


Fig.2. Vederea și schema generală a electrolizorului pilot de hidrogen (variante de laborator) cu electrozi poroși tridimensionali și suprafața modificată cu aliaj Ni-Re : 1 – corp; 2 – camere anodice; 3 – catoade tridimensionale cu scurgere; 4 – diafragmă; 5 – cameră auxiliară pentru electrolitul recirculator (Brevete MD Nr.3660, 4087, 4109).

Concluzii

1. În scopul eficientizării ecologo-economice a producerii sedimentelor B₁₂-vitaminizate concomitent cu producerea biometanului a fost elaborat un nou tip de bioreactor modificat – „Bioreactorul combinat”, prevăzut cu dispozitiv de separare a fazelor acetogenă și metanogenă ale fermentării anaerobe, cu dispozitiv de introducere în fazele fermentării a microadaosurilor, cu filtru inelar cu diatomită și scurgere pentru izolarea adsorbivă a vitaminei B₁₂, fund emisferic pentru a facilita îndepărtarea nămolului, conectat cu sursă de hidrogen (electrolizor) și dispozitive pentru recircularea CO₂, amestecarea acestuia cu hidrogen și introducerea amestecului gazos în faza metanogenă a fermentării.

2. Pentru obținerea electrolitică a hidrogenului din soluții de NaOH și KOH a fost elaborat un electrolizor modificat, dotat cu catod poros cu suprafața placată cu aliaje speciale, cu spațiile anodului și catodului separate printr-o diafragmă specială, cu productivitate mare de hidrogen și consum specific de energie mic.

3. Utilizarea utilajului elaborat, destinat eficientizării purificării apelor uzate ale industriei vinicole și distilării spiritului prin fermentarea anaerobă cu formarea unui sediment B₁₂-vitaminizat, a redus în condițiile de experiment timpul de fermentare cu cca 30%, a ridicat cantitatea de vitamină B₁₂ în produsele fermentării cu 20%, față de condițiile variantei de control, ridicând calitatea nămolului nativ și a adsorbantului de diatomită până la starea de adaosuri furagere B₁₂-vitaminizate.

Referințe:

1. BORIES, A. Methanization des eaux reziduales de distilleries vinicoles. In: *Ind. Alim. Agric.*, 1982, vol.99, p.215-225.
2. BELTRAN, F.J., GARCIA-ARAYA, J.F., ALVAREZ, P.M. Wine distillery wastewater degradation. În: *J. Agric. Food. Chem.*, 1999, vol.47, no.9, p.3919-3924.
3. BORJA, R., MARTIN, A. LUQUE, M., DURAN, M.M. Kinetic study of anaerobic digestion of wine distillery wastewater. In: *Process Biochem.*, 1993, vol.28, p.83-90.
4. GARCIA-BERNET, D. et al. Application of the down-flow fluidized bed to the anaerobic treatment of wine distillery wastewater. In: *Wat. Sci. Tech.*, 1998, vol.8, no.9, p.393-399.
5. ТУРОВСКИЙ, И.С. *Обработка осадков сточных вод*. Москва: Стройиздат, 1982. с.196-197.
6. COVALIOV, V., BOBEICĂ, V., COVALIOVA, O. Procedul modificat de producere biochimică a ciancobalaminei (vitamina B₁₂) din deșeuri agroindustriale. 1. Modificări tehnologice privind intensificarea procesului de obținere a adausului furager. În: *Studia Universitas Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2015, nr.6 (86), p.25-32.
7. UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA. *Electrolizor compact pentru obținerea hidrogenului*: Brevet MD nr. 322Y. Inventatori: COVALIOV V., COVALIOVA O., DUCA GH. Publ. 2011, BOPI, nr.1.
8. UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA. *Bloc modular electrochimic pentru generarea hidrogenului*. Brevet MD Nr.4109. Inventatori: COVALIOV V., COVALIOVA O. Publ. 2011, BOPI, nr.4.

Notă: Studiul este finanțat și realizat în cadrul Proiectului cu cifrul 15.820.18.03.09.STCU/5998 „Obținerea biogazului cu valoare calorică înaltă ca sursă de „energie verde” din deșeuri agroindustriale: tehnologia intensivă și bioreactorul complex”.

Prezentat la 22.09.2016

CZU: 541.49: 597: 574.64

BIOTESTAREA ȘI ESTIMAREA TOXICITĂȚII COMPUȘILOR METALLOORAGNICI ASUPRA POPULAȚIEI DE *PARAMECIUM CAUDATUM*

*Ion TODERAȘ**, Aurelian GULEA, Elena ROȘCOV, Olga GARBUZ

Universitatea de Stat din Moldova

*Institutul de Zoologie al AȘM

În articol este studiată influența unor grupuri de substanțe metaloorganice asupra microorganismelor acvatice. Este utilizată metoda de biotestare toxicologică a compușilor coordinațivi CMT-28 și CMA-18 asupra ciliatelor *Paramecium caudatum* Ehrnbg, în concentrații de 100, 10, 1, 0,1, 0,01 uM/L, comparativ cu prototipul. Metoda de biotestare ne permite să formulăm rapid concluzii în plan comparat, evitând riscul unei erori înalte.

Proprietățile compușilor metaloorganici au fost cercetate prin metoda diluărilor în serie, în mediul nutritiv lichid (1 g soluție nutritivă/1 l apă). În calitate de culturi de referință au fost folosite ciliatele *Paramecium caudatum*.

Infuzoriile, ca obiecte de cercetare, sunt foarte comode, se reproduc destul de rapid, fiind cele mai convenabile test-obiecte pentru investigații în condiții de laborator, în care factorul timp joacă un rol decisiv, inclusiv pentru elucidarea impactului unor factori abiotici (substanțelor metaloorganice) asupra procesului de reproducere asexuată la *Paramecium caudatum*.

Activitatea substanțelor a fost evaluată după caracterul toxicității preparatelor (LT₅₀ și LC₅₀), iar activitatea ciliatelor a fost studiată după caracterul viabilității și parametrii reproductivi (creșterea sau diminuarea efectivului numeric și a ratei lor de reproducere).

Toxicitatea acută (LT₅₀ și LC₅₀) a compușilor a fost cercetată (conform recomandărilor metodice privind studierea toxicității generale a remediilor farmaceutice).

LC₅₀ (concentrația letală, 50%) – concentrația care cauzează moartea a 50% din test-organisme într-o anumită perioadă de timp.

LT₅₀ (timpul letal, 50%) – timpul în care concentrația utilizată a compusului testat cauzează moartea a 50% din organismele testate.

Cuvinte-cheie: *Paramecium caudatum*, ciliate, compuși coordinațivi, reproducere, toxicitate, efectiv numeric, rată de reproducere, concentrație letală, timp letal.

THE BIOASSAY AND ESTIMATION OF THE TOXICITY OF METALLOORGANIC COMPOUNDS IMPACTING THE POPULATION OF *PARAMECIUM CAUDATUM*

This work will focus on the study of groups of metalloorganic substances on aquatic organisms. Toxicological testing method of coordination compounds CMT-28 and CMA-18 is used on *Paramecium caudatum* Ehrnbg ciliates, at concentrations of 100, 10, 1, 0,1, 0,01 uM/L, compared to the prototype. Bioassay method allows us to develop fast and comparative conclusions, avoiding a high risk of errors.

The investigation of metalloorganic compounds was performed by the method of serial dilutions in the liquid nutrient medium (1 g nutrient solution / 1 l water). As a reference cultures were used ciliates *Paramecium caudatum*.

Infusorians, as objects of research are very comfortable, they reproduce quickly enough, being the most convenient test-objects for study in the laboratory conditions, because of time factor which plays a decisive role and also is more simple to elucidate the impact of abiotic factors (metalloorganic substances) on the process of asexual reproduction of *Paramecium caudatum*.

The activity of substances was evaluated according to the character of the toxicity of the preparations (LT₅₀ and LC₅₀), while the activity of ciliates was studied according to the character of viability and reproductive parameters (increasing or decreasing of numbers and their reproductive rate).

The acute toxicity study (LC₅₀ and LT₅₀) of the compounds was performed according to the methodical recommendations on overall toxicity of pharmaceutical remedies.

LC₅₀ (lethal concentration, 50%) – concentration which causes death of 50% of test-organisms in a given period of time.

LT₅₀ (lethal time, 50%) – time, during which the used concentration of the test compound causes the death of 50% of the test organisms.

Keywords: *Paramecium caudatum*, ciliates, coordination compounds, reproduction, toxicity, numbers, reproduction rate, lethal concentration, lethal time.

Introducere

La momentul actual infuzoriile prezintă unul dintre cele mai importante obiecte în biotehnologie. Ele pot fi utilizate în calitate de obiecte biotestabile în laboratoarele ecologice și toxicologice; în afară de aceasta, cultura de infuzorii poate servi ca hrană de bază pentru puietii de pești și este o sursă de proteine animale [1].

Infuzoriile sunt cele mai superior organizate organisme monocelulare. Datorită sensibilității lor specifice și dezvoltării ultrastructurii celulare, în particular – aparatului ciliar, ele sunt în stare să reacționeze la orice schimbare a mediului extern. În rândul acestor reacții se înscrie acțiunea compușilor chimici s.a. [2].

Din acest considerent, cercetarea evoluției și influenței acestor substanțe asupra grupelor dominante de hidrobionți are o importanță incontestabilă în soluționarea problemelor ce țin de determinarea toxicității unor compuși metaloorganici [3,4].

Așadar, scopul cercetărilor noastre a fost de a determina influența preparatelor coordinative asupra principalilor indici reproductivi (viabilitatea, efectivul numeric și rata de reproducere) ai organismelor monocelulare, precum evaluarea concentrației și a timpului letal al compușilor metaloorganici utilizați.

Diversitatea indivizilor asigură populației capacități mai mari de adaptare, comparativ cu cele ale unui individ luat în parte. Eficientizarea adaptării populației se realizează pe contul eliminării celor mai sensibili indivizi față de substanța toxică dată. Labilitatea populației asigură stabilitatea speciei, deoarece în populație este asigurată realizarea adaptărilor la noile condiții de mediu, inclusiv până la formarea de noi specii.

Material și metode

Proprietățile compușilor coordinativi CMT-28 și CMA-18 au fost cercetate prin metoda neîntreruptă de cultivare a ciliatelor propusă de E.Maupas (1887) [5] și B.Кокובה (1989) [6], și prin metoda diluărilor în mediul nutritiv al compușilor coordinativi (ca substanță nutritivă au servit drojdiile de panificație (masă uscată) *Saccharomyces cerevisiae* (1 g soluție nutritivă/1 l apă)). Substanțele inițiale sunt dizolvate până la concentrațiile necesare de 100, 10, 1, 0,1, 0,01 uM/L. În calitate de material biologic experimental a servit cultura de *Paramecium caudatum* Ehrnb.

Speciile menționate au fost studiate prin utilizarea metodologiei hidrobiologice clasice pentru cercetarea parametrilor reproductivi ai populațiilor, a prolificității. Materialul protozoologic a fost prelucrat conform metodelor uzuale standard, propuse de T.Sonnenborn (1970) [7], K.Суханова (1968) [8], C.Curds, J.Vandyke (1966) [9], K.Хаусман (1988) [10], J.Dragesco (1979) [11].

Activitatea substanțelor a fost evaluată după caracterul inofensivității preparatelor, iar activitatea ciliatelor a fost studiată prin utilizarea metodologiei hidrobiologice clasice pentru cercetarea parametrilor reproductivi ai populației (parametrii reproductivi – creșterea sau diminuarea efectivului numeric și a ratei lor de reproducere) [12].

Evaluarea rezultatelor s-a efectuat vizual, cu ajutorul binocularului. Activitatea compușilor coordinativi CMT-28 și CMA-18 a fost apreciată în cazul schimbării cantitative a organismelor monocelulare și incapacității celulelor de a se înmulți în mediul nutritiv lichid timp de 8 zile.

Toxicitatea acută (LT_{50} și LC_{50}) a compușilor a fost cercetată în conformitate cu recomandările metodice privind studierea toxicității generale a remediilor CMT-28 și CMA-18 [13,14], prin introducerea în soluția nutritivă a substanțelor supuse investigației.

Rezultate și discuții

Substanțele CMT-28 și CMA-18 prezintă compuși coordinativi sintetizați la Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică a USM, Departamentul Chimie, de către academicianul A.Gulea.

Pentru evaluarea inofensivității s-a recurs la cercetarea acțiunii toxice generale și a toxicității reproductivă: determinarea concentrațiilor letale (LC_{50}), a timpului letal (LT_{50}) [3] și a sensibilității organismelor ciliate *Paramecium caudatum* (Fig.1) [15] la acțiunea preparatelor CMT-28 și CMA-18.



Fig.1. *Paramecium caudatum* Ehrnb.

La etapa inițială a fost determinat caracterul influenței CMT-28 asupra populației de ciliate, după criteriul viabilității culturii, în condiții concrete de cultivare. S-a stabilit că efectul preparatului coordinativ asupra viabilității ciliatelor, ce presupune capacitatea celulelor de a-și mări efectivul numeric, depinde de doza de administrare. Preparatul CMT-28 diminuează particularitățile reproductive în doze extremale (100-10 uM/L), termeni în care inhibă complet dezvoltarea organismelor acvatice. O tendință de creștere a efectivului numeric la dozele de 0,01-1 uM/L se observă în ziua a 7-a; totuși, această creștere se exprimă în valori mai joase (252,9-714,6) față de lotul martor (483,2-907,2), fapt ce denotă că mecanismul de acțiune a preparatului dat este toxic pentru paramecii (Fig.2).

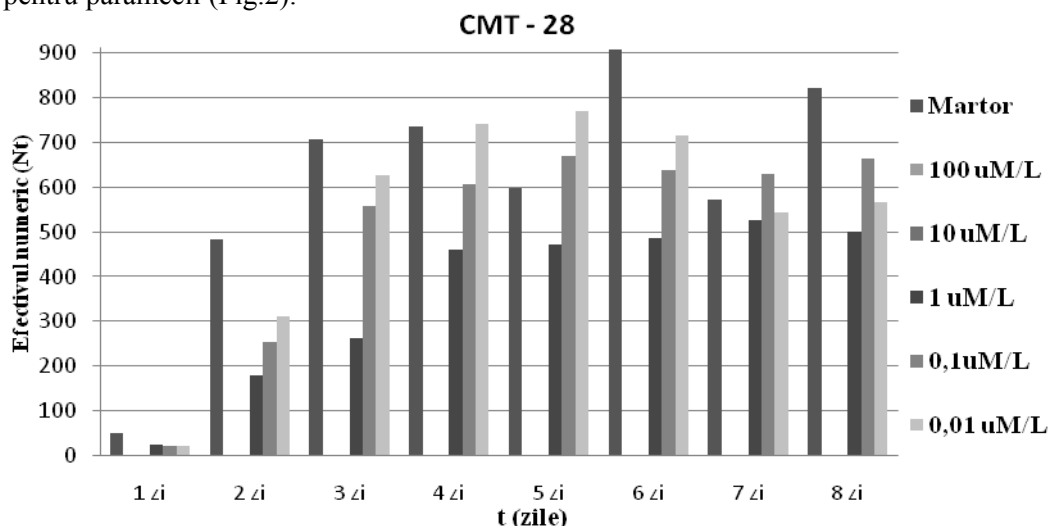


Fig.2. Variația efectivului numeric (Nt) al *P. caudatum* în funcție de condițiile trofice (CMT-28).

Valorile ratei de reproducere Cw la martor variază între 3,863 (prima zi) și 0,84 (a 8-a zi), cu o scădere treptată în următoarele zile. Pe când la concentrațiile joase de 1-0,01 uM/L valorile sunt mult mai joase: în prima zi Cw este de cca 2,9, iar în cea de a 8-a este cca 0,8. Așadar, se observă o diminuare a ratei de reproducere la acțiunea preparatului CMT-28.

În continuare, pentru a completa valoarea testului analizat, a fost determinată și intensitatea activității preparatului coordinativ CMA-18 asupra potențialului reproductiv la *P. caudatum* (Fig.3). S-a demonstrat clar, prin studii, că în primele zile de acțiune a acestuia cele mai eficiente s-au dovedit a fi concentrațiile de 0,1 și 0,01 uM/L.

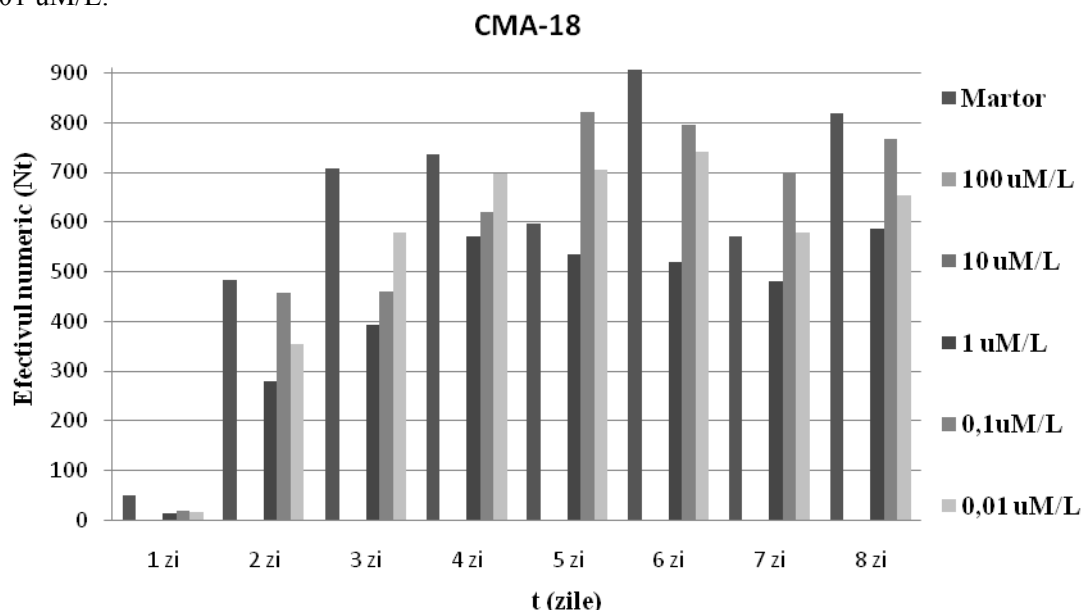


Fig.3. Variația efectivului numeric (Nt) al *P. caudatum* în funcție de condițiile trofice (CMA-18).

Coeficientul Nt are tendința de creștere în ziua a 5-a (valorile fiind 705,7-819,9) și a 7-a (cu valorile 652,4-768), dar valorile efectivului numeric nu depășește cu mult valorile prototipului (cu valorile 597,7-570,6). La concentrațiile de 100 și 10 uM/L crește toxicitatea preparatului, care este însoțită de eliminarea substanțială a infuzoriilor.

În fine, cu diminuarea efectivului numeric scade, respectiv, și rata lor de reproducere. La acțiunea preparatului CMA-18, în prezența dozelor 1-0,01 uM/L, are loc procesul de reținere a ratei de reproducere, fără eliminări decisive. Rata de reproducere constituie 3,86 - 0,84 (martor), 2,6-0,79 (1 uM/L), 2,95-0,82 (0,1 uM/L) și 2,64-0,79 (0,01 uM/L).

În cercetările efectuate au fost determinați parametrii toxicologici LT_{50} și LC_{50} după criteriul viabilității infuzoriilor *P. caudatum*.

LT_{50} (timpul letal) – timpul în care concentrația utilizată a compusului testat cauzează moartea a 50% din organismele testate.

LC_{50} (concentrația letală) – media concentrației letale, care provoacă moartea a 50% din infuzorii în perioada efectuării cercetărilor.

Metoda este bazată pe determinarea reacției infuzoriilor la adaosul în mediul nutritiv a substanțelor toxice [16]. Criteriul de acțiune toxică a substanțelor este apreciat după criteriul viabilității și densității indivizilor în cultură. Rezultatele biotestate privind determinarea acțiunii toxice asupra culturii *P. Caudatum* au fost prelucrate conform programei GraphPad.

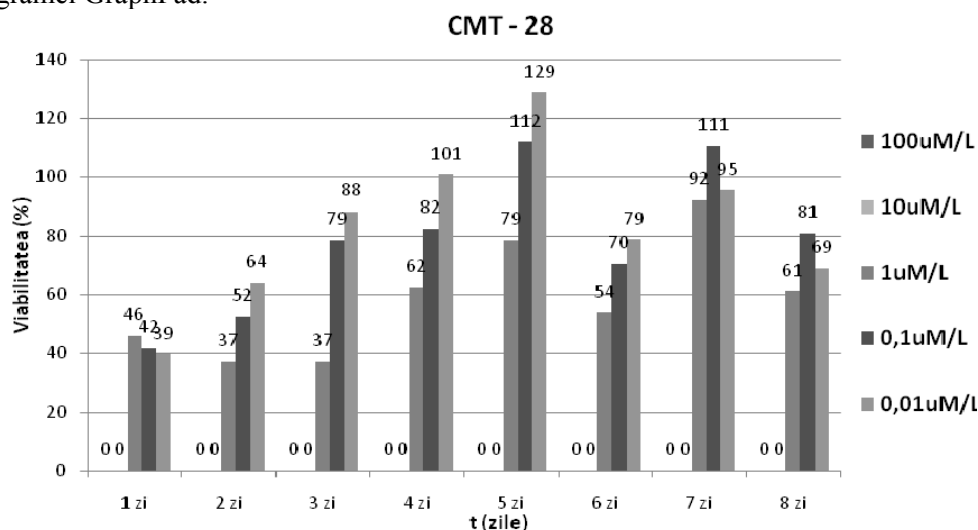


Fig.4. Dinamica creșterii populației *Paramecium caudatum* la acțiunea compusului CMT-28 în diferite concentrații.

Rezultatele experimentale privind activitatea compușilor metaloorganici sunt prezentate în Figura 4, din care reiese că compusul CMT-28 posedă activitate toxică în limitele concentrațiilor de 100 și 10 uM/L față de prototip.

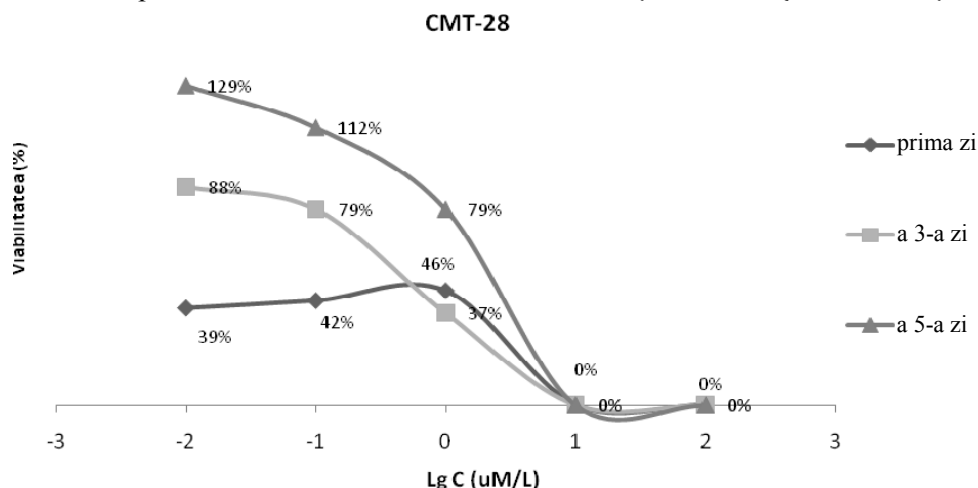


Fig.5. Inhibarea viabilității culturii de *P. caudatum* la acțiunea substanței coordinative CMT-28.

Rezultatele obținute demonstrează că LT_{50} al compusului investigat la concentrația de 100 și 10 $\mu\text{M/L}$ \leq în prima zi. La concentrația de 1 $\mu\text{M/L}$ LT_{50} este egal în cea de a 3-a zi, iar la concentrațiile de 0,1-0,01 $\mu\text{M/L}$, LT_{50} este egal în prima zi, față de lotul martor.

În ceea ce privește indicele LC_{50} , în prima zi de prelucrare este $\leq 0,01$ $\mu\text{M/L}$. În ziua a 2-a LC_{50} este egal cu 0,085 $\mu\text{M/L}$, în a 3-a zi = 0,46 $\mu\text{M/L}$, în a 4-a zi = 1,28 $\mu\text{M/L}$, în a 5-a zi = 1,3 $\mu\text{M/L}$, în a 6-a zi = 0,49 $\mu\text{M/L}$, în a 7-a zi = 1,56 $\mu\text{M/L}$ și în a 8-a zi = 0,86 $\mu\text{M/L}$ (Fig.5).

Rezultatele studiului activității complexului CMA-18 sunt prezentate în Figura 6, din care se vede că preparatul dat posedă activitate puțin toxică în limitele concentrațiilor de 1-0,01 $\mu\text{M/L}$ față de indivizii de microorganisme.

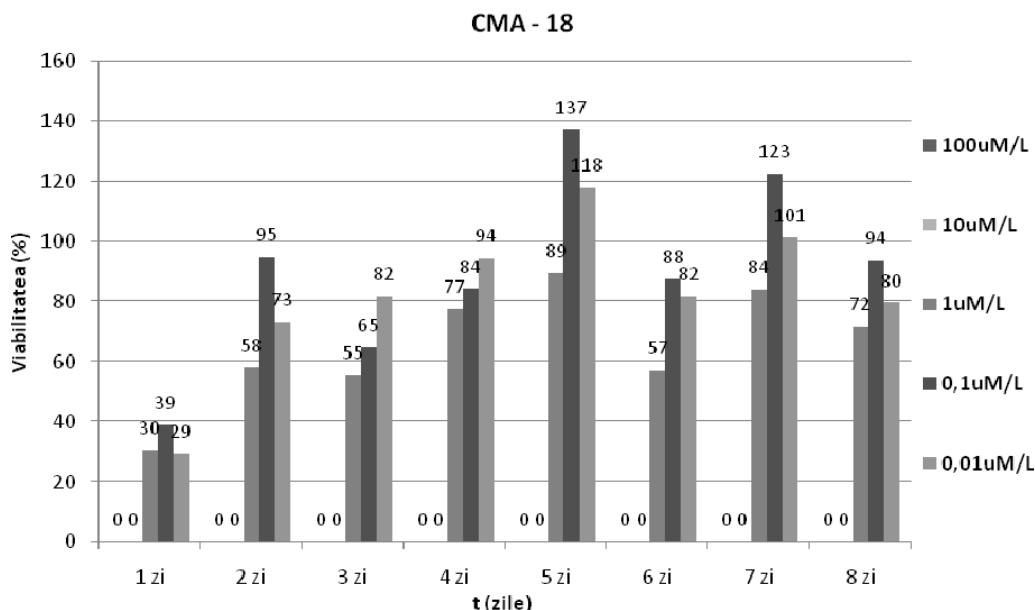


Fig.6. Dinamica creșterii populației *Paramecium caudatum* la acțiunea compusului CMA-18, în diferite concentrații.

La concentrația de 1 $\mu\text{M/L}$, LT_{50} este egal în a doua zi, iar la concentrația de 0,1 și 0,01 $\mu\text{M/L}$, LT_{50} este egal în prima zi. S-a stabilit că complexul studiat manifestă activitate toxică la concentrația de 100 și 10 $\mu\text{M/L}$, când valorile $LT_{50} \leq$ în prima zi.

În ceea ce privește indicele LC_{50} la acțiunea compusului coordonativ CMA-18, în prima zi ea este $\leq 0,01$ $\mu\text{M/L}$. În a 2-a zi $LC_{50} = 1,19$ $\mu\text{M/L}$, în a 3-a zi = 0,45 $\mu\text{M/L}$, în a 4-a zi = 1,67 $\mu\text{M/L}$, în a 5-a zi = 1,5 $\mu\text{M/L}$, în a 6-a zi = 1,13 $\mu\text{M/L}$, în a 7-a zi = 1,32 $\mu\text{M/L}$, iar în cea de a 8-a zi $LC_{50} = 1,47$ $\mu\text{M/L}$ (Fig.7).

Datele experimentale obținute demonstrează că compușii CMT-28 și CMA-18 posedă o activitate toxică în limitele concentrațiilor de 1-0,01 $\mu\text{M/L}$ față de microorganismele de laborator *Paramecium caudatum*, inhibând parțial parametrii reproductivi ai ciliatelor.

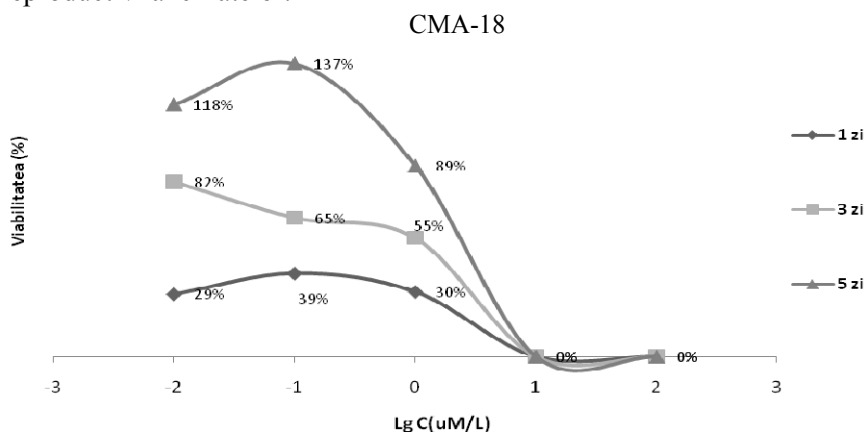


Fig.7. Inhibarea viabilității culturii de *P. caudatum* la acțiunea substanței coordonative CMA-18.

La concentrațiile mari de 100-10 uM/L s-a stabilit că complexii studiați manifestă activitate toxică asupra parametrilor reproductivi (viabilitatea, efectivul numeric și rata de reproducere) la populația dată.

Concluzii

1. S-a demonstrat că compușii coordinativi CMT-28 și CMA-18 la concentrațiile de 100 și 10 uM/L inhibă total creșterea și diviziunea infuzoriilor.

2. În diapazonul de concentrații 0,01-10 uM/L au fost calculate valorile LC₅₀ (concentrația letală, 50%) și LT₅₀ (timpul letal, 50%) pentru substanțele CMT-28 și CMA-18. Astfel, pentru CMT-28 LC₅₀= 0,46 uM/L, iar pentru CMA-18 LC₅₀= 1,19 uM/L. De aici rezultă că CMA-18 este mai puțin toxic în raport cu CMT-28.

3. Timpul letal (LT₅₀) pentru CMA-18, la concentrația de 1 uM/L, este cea de a 3-a zi, iar LT₅₀ pentru CMT-28, la concentrația de 1 uM/L, este ziua a 2-a.

4. Rezultatele raportate mai sus atestă stabilitatea activă a substanțelor și absența rezistenței la test-obiectul *Paramecium caudatum*.

Referințe:

1. ЧУБИК, П.С., НЕЧАЕВА, Л.Н., БРЫЛИН, В.И. *Способ определения токсичности химических веществ в водной среде*. Томский политехнический университет, 1998.
2. ЛОТОВА, Н.С. *Определение качества вод хемотоксическим методом на примере водных объектов Санкт-Петербурга и Ленинградской области*. Ишимский педагогический институт им. П.П.Ершова, ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет», г.Ишим, Тюменская область.
3. ВИДИНЕЕВА, Т.И. Сравнительная оценка методов определения токсичности природных и сточных вод. В: *XXXIV Неделя науки СпбГПУ*: Материалы межвузовской научно-технической конференции (Электронный ресурс) - Режим доступа: <http://elib.spbstu.ru/dl/006634.pdf/download/006634.pdf?Lang=en> (Accesat: 25.03.2015)
4. *Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств*. Москва, МЗ РФ, 1997.
5. МАУПАС, Е. La rajeunissement karyogamique chez les cilies. En: *Arch. Zool. Exp. et Gen.* (2), 1889, vol.7, p.149-517.
6. КОКОВА, В. *Непрерывное культивирование*. Москва: Наука, 1989, с.113-137.
7. SOMEORN, T. Methods in *Paramecium* research. In: *Methods in cell physiology*. Vol.4. / Ed. D.M Prescott. N.Y.: Acad.presp. 1970, vol.4, p.241-339.
8. СУХАНОВА, К. *Температурные адаптации у простейших*. Ленинград: Наука, 1968. 234 с.
9. CURDS, C., VANDYKE, J. The feeding habits and growth rates of some fresh – water ciliates found in activated - sludge plant. In: *J. appl. ecol.*, 1966, vol.3, no.1, p.121-137.
10. ХАУСМАН, К. *Протозология*. Москва: Мир, 1988. 334 с.
11. DRAGESCO, J., DRAGESCO-KERNEIS, A. Ciliés muscicoles nouveaux ou peu connus. In: *Acta. Protozool.*, 1979, vol.13, p.231-232.
12. ЗАЙКА, В. *Сравнительная продуктивность гидробионтов*. Киев, 1983, с.11-14.
13. *Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств*. Москва, МЗ РФ, 1977.
14. PRISACARI, V., BURACIOV, S., DIZDARI, A., STOLEICOV, S. Izohidrafural – remediu nou antibacterian. Comunicare II. Studiul toxicității, proprietăților dermato-rezorbitive, iritante și acțiuni terapeutice. În: *Analele Științifice ale USMF „N.Testemițanu”*, Chișinău, 2003, p.243-247.
15. <http://fineartamerica.com/featured/3-paramecium-caudatum-m-i-walker.html>
16. PRISACARI, V., BURACIOV, S., ȚAPCOV, V., GULEA, A. *Efectul antibacterian al unor compuși organici noi din rândul sulfanilamidelor*. Chișinău: Laboratorul „Infecții intraspitalicești” USMF „N.Testemițanu”; Catedra Chimie Anorganică și Fizică a USM.

Prezentat la 01.11.2016

CZU: 621.3.035: 665.7

STABILIREA PROPRIETĂȚILOR ACIDO-BAZICE ALE CĂRBUNILOR ACTIVI

Raisa NASTAS, Vasile RUSU, Tudor LUPAȘCU

Institutul de Chimie al AȘM

Au fost precizate unele aspecte metodologice ale tehnicilor de titrare vizuală (metoda Boehm) și electrometrică (titrări alcalimetrice și acidimetrice) pentru stabilirea proprietăților acido-bazice ale adsorbanților carbonici. Pe suprafața cărbunilor activi obținuți prin metoda fizico-chimică predomină grupările funcționale bazice, pentru determinarea conținutului lor fiind recomandată metoda titrării conductometrice acidimetrice. De rând cu grupările bazice, pe suprafața acestor cărbuni există și grupări funcționale acide, pentru determinarea lor fiind recomandată metoda titrării pH-metrice indirecte. Pe suprafața cărbunilor activi obținuți prin metoda chimică predomină grupările funcționale acide, pentru determinarea conținutului lor fiind recomandată metoda titrării conductometrice alcalimetrice. Pentru determinarea grupărilor bazice pe suprafața acestor cărbuni se recomandă metoda titrării pH-metrice indirecte.

Cuvinte-cheie: cărbuni activi, grupări funcționale, chimia suprafeței, titrare electrochimică.

EVALUATION OF ACTIVE CARBONS ACID-BASIC PROPERTIES

The methodological peculiarities of visual titration method (Boehm method) and electrometric (alkalimetric and acidimetric titrations) for researching of acid-basic properties of carbonaceous adsorbents have been specified. On the surface of active carbons obtained by physical-chemical method of activation the basic sites predominate being recommended acidimetric conductometric titration for their determination. Besides of such groups there are also acidic sites being recommended alkalimetric pH-metric back titration for their determination. On the surface of active carbons obtained by chemical activation the acidic groups predominate being recommended alkalimetric conductometric titration for their determination. Besides of such groups there are also basic sites being recommended acidimetric pH-metric back titration for their determination.

Keywords: active carbons, functional group, surface chemistry, electrochemical titration.

Introducere

Grație structurii poroase foarte dezvoltate, cărbunii activi manifestă proprietăți sorbtive pronunțate, având un spectru foarte larg de aplicare în calitate de adsorbanți carbonici. De rând cu cercetările structurii poroase și privind proprietățile „clasice” de suprafață ale acestor adsorbanți, în ultimele decenii se înregistrează concentrarea atenției cercetătorilor asupra studierii chimiei suprafeței acestor solide, constatându-se noi proprietăți, specifice, de suprafață, de exemplu: proprietăți catalitice sau de schimbători de ioni [1]. Reactivitatea chimică a cărbunilor este cauza prezenței valențelor nesaturate (pozițiilor active) pe marginile planurilor aromatice sau a „straturilor grafitice”. Raportul acestor poziții active la totalul de atomi de carbon inerti în straturile de grafit crește pe măsura majorării suprafeței solidului. Prezența heteroatomilor (de exemplu, a oxigenului, hidrogenului sau azotului) și a diferitelor grupări funcționale acido-bazice de asemenea influențează proprietățile de suprafață ale cărbunilor activi.

Pe suprafața cărbunilor activi pot fi prezente atât grupări acide, cât și bazice, în proporții diferite, în funcție de materia primă și metoda de activare. Prezența grupărilor funcționale pe suprafață (de exemplu, carboxilice, fenolice, lactonice etc.) este considerată sursa centrelor (pozițiilor) acide, în vreme ce pozițiile bazice sunt postulate ca fiind centre bazice de tip *Lewis* asociate structurii însăși a cărbunilor [2].

De fapt, există încă anumite incertitudini în interpretările proprietăților acido-bazice ale cărbunilor. Grupările funcționale pe suprafața cărbunilor microporoși sunt supuse, foarte probabil, unei game largi de interacțiuni inter- și intramoleculare, incluzând efecte inductive, mezomerice, tautomerice, sterice, inclusiv prin formarea legăturilor de hidrogen [3]. Asemenea interacțiuni pot modifica atât de puternic caracterul acido-bazic *Brønsted* al grupărilor funcționale, încât ele propriu-zis pierd asemănarea grupărilor din compușii chimici corespunzători. În consecință, este de presupus o distribuție continuă a proprietăților acido-bazice ale suprafeței pentru fiecare tip de grupări funcționale și în majoritatea cazurilor domeniile mărimilor pK ale diferitelor grupări pot fi parțial suprapuse.

Un rol aparte aparține efectului inductiv. Tăria acidică a grupărilor carboxilice pe suprafața cărbunilor este afectată în mare măsură de natura grupărilor vecine [4]. În general, grupările cu o afinitate (electronegativitate)

mai mare pentru electroni (electron-acceptoare, de exemplu: grupările hidroxilice, carbonilice) măresc aciditatea grupărilor carboxilice. Astfel, mărimile pK în șirul acizilor acetic – hidroxiacetic – oxoacetic sunt clasate în șirul 4,75 – 3,83 – 3,30; altfel spus, se modifică tăria grupărilor carboxilice spre un grad mai puternic acid.

Tradițional, pentru determinarea grupărilor funcționale acide pe suprafața cărbunilor activi se folosește metoda de titrare Boehm, care constă în contactarea mostrelor de cărbune cu soluții bazice de diferită tărie [5-9]. În linii generale, soluția bazică neutralizează complet doar acele grupări acide, care sunt mai puternic disociate decât acidul conjugat al bazei utilizate. Se presupune că bicarbonatul de sodiu (pK 6,37) neutralizează doar grupele acide puternice, fiindu-le atribuite grupările carboxilice în general, uneori specificându-se ca fiind grupări carboxilice „puternic acide” [10]. Carbonatul de sodiu (pK 10,25) neutralizează primele grupări și grupările acide mai slabe, fiind atribuite în general grupărilor carboxilice și lactonice sau specificându-se ca fiind grupări carboxilice „puternic acide și slab acide”. Definiția „puternic sau slab acide” este în sens relativ, în contextul, cum s-a menționat, modificării tăriei grupărilor carboxilice spre un grad mai puternic acid, de exemplu, grație efectului inductiv al grupărilor vecine. Hidroxidul de sodiu (pK 15,74) neutralizează primele două grupări acide, precum și grupările acide fenolice, cele mai slabe. Utilizând etilat de sodiu, pot fi determinate și grupările carbonilice. În ansamblu, prin metoda Boehm pot fi determinate 4 tipuri de grupări acide, schematic fiind divizate în grupări carboxilice „puternic acide”, carboxilice „moderat acide”, hidroxi-fenolice și carbonilice (Fig.1). Grupările de tipul 2 sunt prezente, de regulă, sub formă de hidroxi-lactone, astfel că între grupările de tipul 2 și 4 se presupune existența unei relații strânse. În cazul insuficienței apei la oxidarea cărbunilor activi, mai probabil, se formează grupările de tipul 1. În rezultatul hidratării, gruparea de tipul 1 se transformă în structura de tipul 2, incluzând grupări carboxilice, hidroxi-fenolice și inelul tetragonic lactonic. Ultimul, în anumite condiții (de exemplu, sub acțiunea soluției bazice (Na_2CO_3)), se poate regrupa în structură chinonică, formându-se încă o grupare carboxilică, ceea ce explică, conform [6], aciditatea diferită a grupărilor carboxilice pe suprafața cărbunilor activi oxidați.

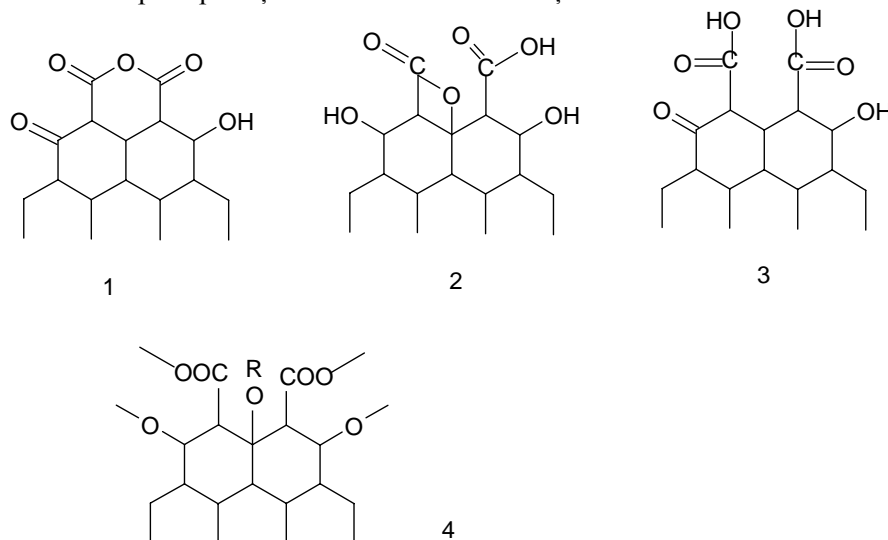


Fig.1. Grupări funcționale acide pe suprafața cărbunilor activi, conform Boehm [6].

1 – grupări carbonilice, 2 – grupări hidroxi-fenolice și lactonice, 3 – grupări carboxilice și hidroxi-fenolice, 4 – grupări carboxilice „puternic acide”.

De rând cu titrările efectuate în mod obișnuit, vizuale cu diferite baze în prezența indicatorilor, au fost întreprinse numeroase cercetări în vederea utilizării metodelor fizice și fizico-chimice pentru determinarea proprietăților acido-bazice ale cărbunilor activi [11]. Tentativele de aplicare a titrărilor pH-metrice directe pentru determinarea grupărilor acide au dus, până nu demult, la rezultate nesatisfăcătoare, cauza considerându-se stabilirea foarte lentă a echilibrului de schimb ionic. Cercetările în această direcție s-au intensificat în ultimele decenii, mai cu seamă grație dezvoltării tehnicilor instrumentale și implicării tehnicilor computerizate.

Prezintă interes, de asemenea, aplicarea titrărilor conductimetrice pentru determinarea grupărilor acide pe suprafața cărbunilor activi. Mai frecvent, titrările conductimetrice se dovedesc a fi mai eficiente, curbele de titrare având puncte de flexiune distinctive, spre deosebire de titrările pH-metrice. Rezultate mai reușite, în

concordanță cu titrările după Boehm, au fost obținute titrând conductometric cu soluție de NaOCH_3 în alcool metilic [5,10].

Scopul prezentei lucrări a fost precizarea unor aspecte metodologice ale tehnicilor de titrare vizuală (metoda Boehm) și electrometrică (titrări alcalimetrice și acidimetrice) pentru stabilirea proprietăților acido-bazice ale adsorbanților carbonici.

Material și metode

Material

În cercetare au fost folosiți cărbuni activi obținuți din diferite materii vegetale (sâmburi de prune și piersici, coji de nuci), prin metoda fizico-chimică (cu vapori de apă, anhidridă sulfuroasă sau soluție amoniacală), prin metoda chimică (cu acid fosforic), de asemenea modificați prin oxidare cu acid azotic [12,13].

Metode

Aplicarea metodei Boehm

Pentru determinarea grupărilor acide pe suprafața adsorbanților carbonici sunt utilizate soluțiile bazice propuse în metoda Boehm, cu anumite precizări metodologice referitor la condițiile de contactare și procedeul de analiză a soluțiilor de echilibru.

Procedura determinării grupărilor funcționale acide pe suprafața cărbunilor activi prin metoda Boehm include contactarea mostrelor cu soluții bazice de 0,05 N de NaHCO_3 , Na_2CO_3 sau NaOH , separarea supranatantului și titrarea lui. Titrarea se efectuează indirect, în alicote de supranatant adăugând surplus de soluție 0,05 N HCl . În continuare soluția se fierbe sau se barbotează azot sau argon pentru eliminarea CO_2 și se titrează surplusul de acid cu soluție 0,05 N NaOH în prezența fenolftaleinei ca indicator [5-7,14]. Folosind pentru titrarea grupărilor funcționale acide etilatul de sodiu în alcool etilic (bază mai puternică decât NaOH) se titrează și grupările carbonilice (grupări aprotonice) cu formare de săruri de sodiu ale hemiacetalilor. Boehm și col. au găsit că în reacția dintre etilatul de sodiu și grupările carbonilice pe suprafața cărbunilor activi se leagă cantități echivalente de ioni de sodiu și etilat [5]. Deși Boehm și col. au propus determinarea grupărilor carbonilice prin neutralizare cu etilat de sodiu, nu au prezentat detalii experimentale.

Etapa de neutralizare cu surplus de acid a cantității reziduale din surplusul de bază adăugată inițial prezintă, propriu-zis, o operațiune de estimare a alcalinității supranatantului, care însă în metoda Boehm va fi elucidată indirect la etapele corespunzătoare de calcul. Prin urmare, mai rezonabilă pare varianta de determinare directă a alcalinității totale a supranatantului după contactare cu mostra de cărbune. În acest mod se evidențiază semnificația fizico-chimică a mărimii alcalinității totale și capacitatea proton-acceptor a speciilor rezultante la contactarea adsorbanților carbonici cu soluții bazice. Alcalinitatea unei soluții apoase prezintă capacitatea speciilor componente de a accepta protoni, altfel spus – de a lega cantități echivalente de acid tare [15]. Asemenea componente în soluție sunt ionii de hidroxil și anionii acizilor slabi, de exemplu: bicarbonați, carbonați, fosfați, silicați. Cantitatea de acid tare necesară pentru neutralizarea acestor ioni prezintă alcalinitatea totală.

Procedura determinării grupărilor acide pe suprafața adsorbanților carbonici prin metoda Boehm în varianta propusă este următoarea. Mostrele de cărbuni activi sunt mărunțite și cernute prin site, pentru prelevarea fracțiunilor granulometrice supuse cercetărilor. Pentru evaluarea grupărilor carboxilice „puternic acide”, într-o serie de probe paralele a câte 0,1 g se adaugă 5 mL soluție de 0,05 N NaHCO_3 și 50 mL de apă distilată. Contactarea se efectuează la agitare pe agitator cu platformă timp de mai multe zile, până la stabilirea echilibrului de neutralizare a grupărilor acide pe suprafața cărbunilor. Prima probă se agită timp de 2-3 ore, se lasă static peste noapte, continuând agitarea încă 2-3 ore a doua zi, considerând în linii generale timpul de contactare de 24 ore. Proba a doua se contactează în modul descris deja 48 de ore, proba a treia 36 de ore ș.a.m.d., pentru a estima timpul optim de neutralizare a grupărilor acide pe suprafața cărbunilor. După contactare, suspensiile sunt centrifugate, analizând în supranatant concentrația de echilibru a soluției bazice prin determinarea alcalinității ei totale. Paralel, se efectuează determinarea alcalinității totale a soluției bazice inițiale, folosite pentru contactare cu mostrele de adsorbant. Determinarea alcalinității totale se efectuează conform procedurii recomandat de Organizația Mondială a Sănătății pentru stabilirea alcalinității apelor naturale, prin titrare directă cu soluție 0,05 N HCl în prezența indicatorului fenolftaleină (determinând la această etapă alcalinitatea carbonată), continuând apoi titrarea în prezența indicatorului metiloranj (virarea culorii de la galben la oranj, la pH-ul 4,5), determinând astfel alcalinitatea totală [15].

Cantitatea grupărilor acide pe suprafața cărbunilor ($C\alpha$, mechiv/g), neutralizate cu soluție de NaHCO_3 , se calculează conform expresiei aplicate în cazul cercetării adsorbției din soluții [16]:

$$C\alpha = \frac{(Alc_o - Alc_e) \cdot V}{m}, \quad (1)$$

unde: Alc_o reprezintă alcalinitatea totală a soluției bazice inițiale (mechiv/L), Alc_e – alcalinitatea totală a soluției bazice de echilibru în supranatant după contactare (mechiv/L), V – volumul soluției pentru contactare (0,055 L), m – masa cărbunelui cercetat (g).

Pentru evaluarea grupărilor carboxilice și lactonice (sau a grupărilor carboxilice „puternic acide și slab acide”), într-o serie de probe paralele a câte 0,1 g se adaugă 10 mL soluție 0,1 N Na_2CO_3 și 50 mL de apă distilată. Contactarea și determinarea alcalinității totale se efectuează în modul descris, calculând cantitatea grupărilor acide neutralizate cu soluție de Na_2CO_3 conform expresiei (1), volumul soluției pentru contactare în acest caz fiind 0,06 L.

Pentru evaluarea cantității totale a grupărilor carboxilice, lactonice și fenolice, într-o serie de probe paralele a câte 0,1 g se adaugă 20 mL soluție 0,05 N NaOH și 50 mL de apă distilată. Contactarea și determinarea alcalinității totale se efectuează în modul descris, calculând cantitatea grupărilor acide neutralizate cu soluție de NaOH conform expresiei (1), volumul soluției în acest caz fiind 0,07 L.

Pentru evaluarea conținutului de grupări carbonilice (aprotonice), într-o serie de probe paralele a câte 0,1 g se adaugă soluție alcoolică de etilat de sodiu NaOEt (de diferite concentrații: 0,02; 0,05; 0,07; 0,09 N), volumul total fiind 0,05 L. După stabilirea echilibrului (contactare-agitare) se determină concentrația etilatului de sodiu la echilibru prin titrare directă cu soluție 0,05 N HCl în prezența indicatorilor fenolftealeină și metiloranj.

Aplicarea titrărilor electrometrice

Titările potențiometrice (pH-metrice) se efectuează, de regulă, în soluții de suport în prezența electroliților indiferenți, pentru menținerea tăriei ionice constante. În aceste scopuri, titrările se efectuează, mai frecvent, în prezența NaNO_3 sau NaCl în concentrații de la 0,01 M până la 1 M [12,16]. De fapt, prezența diferitelor concentrații ale electroliților și posibilele influențe asupra sistemului sunt încă insuficient elucidate [17]. Cercetările efectuate evidențiază condițiile optime de efectuare a titrărilor electrometrice, în vederea stabilirii proprietăților acido-bazice ale cărbunilor activi.

Pentru titrări alcalimetrice (cu NaOH în cazul determinării grupărilor acide) sau acidimetrice (cu HCl sau HNO_3 în cazul determinării grupărilor bazice pe suprafața cărbunilor) sunt preparate suspensii apoase cu un conținut de 0,1-0,2 g probă în 50-60 mL suspensie, în prezența electrolițului de suport NaNO_3 0,1 M. Mostrele de cărbune sunt amestecate pe agitator cu platformă timp de două zile, pentru umectarea granulelor cărbunelui și stabilirea echilibrului la interfața solid-lichid. Titrarea se efectuează în atmosferă inertă, barbotând argon prin suspensie timp de 1 oră înainte de titrare și în timpul titrării, pentru diminuarea influenței CO_2 . A fost utilizată instalația de titrare T-108 (St. Petersburg, Rusia), perfectată pentru titrări conductimetrice sau pH-metrice, dotată cu dozator automat (viteza de dozare a titrantului fiind de 0,23 mL/min) și recordere electronice pentru înregistrarea curbelor conductimetrice sau, în cazul titrărilor potențiometrice, a curbelor de pH integrale și, paralel, a curbelor diferențiale de titrare. Condițiile de titrare alese sunt asemănătoare celor folosite la cercetarea proprietăților acido-bazice ale mineralelor argiloase, solurilor și ale sedimentelor sistemelor acvatică [18]. Exactitatea măsurării curbei de pH în așa mod crește esențial. În plus, curbele diferențiale dau posibilitatea de a obține unele informații suplimentare, de exemplu: de a determina capacitatea de tamponare a analitului (cărbunilor activi) [18,19]. Aparatura: conductometru OK/102 (Ungaria), pH-metru EV-74 (Gomely, Bielorusia).

Rezultate și discuții

O etapă importantă, ce precede etapa de determinare a grupelor funcționale prin metode de titrare vizuală și electrometrică, este selectarea fracțiunii granulometrice de lucru, cât mai reprezentativă și omogenă pentru mostra de cărbune activ studiat [16,20].

Aplicarea metodei Boehm

Timpul optim pentru stabilirea echilibrului de neutralizare a grupărilor acide pe suprafața cărbunilor activi trebuie determinat individual pentru fiecare mostră în parte, deoarece acest parametru depinde atât de fracțiunea granulometrică selectată, cât și de tipul porozității adsorbantului. Timpul de neutralizare a grupărilor acide depinde în mare măsură de difuzia agenților bazici în microporii cărbunelui activ [20]. În Figura 2 este prezentată cinetica procesului de neutralizare cu soluții bazice a grupărilor funcționale acide pe suprafața cărbunelui

activ (două fracțiuni granulometrice: 0,14-0,31 mm și 0,63-1,25 mm), obținut din sâmburi de prune prin activare fizico-chimică cu vapori de apă și oxidat în continuare cu acid azotic, prin metoda Boehm în varianta propusă [16]. Timpul optim pentru stabilirea echilibrului de neutralizare a grupărilor acide pe suprafața acestui cărbune constituie circa 5 zile.

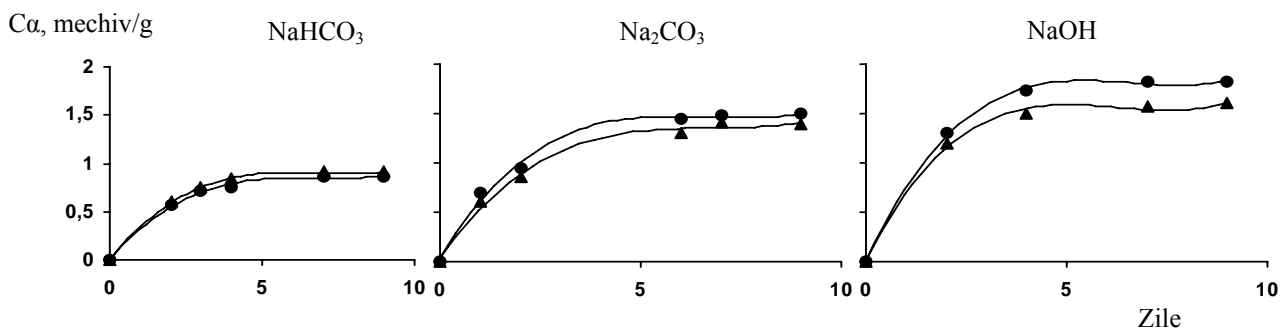


Fig.2. Cinetica procesului de neutralizare cu soluții bazice a grupărilor funcționale acide pe suprafața cărbunelui activ oxidat, obținut din sâmburi de prune:

- ▲ – fracțiunea granulometrică 0,14-0,31 mm;
- – fracțiunea granulometrică 0,63-1,25 mm.

În Tabel sunt prezentate cantitatea și caracterul grupărilor funcționale acide pe suprafața cărbunelui activ obținut din sâmburi de piersici prin activare fizico-chimică cu vapori de apă și oxidat în continuare cu acid azotic. Frațiunea granulometrică a fost 0,63-1,00 mm, iar echilibrul de neutralizare s-a stabilit după 7 zile de contactare-agitare. Conținutul total de grupări acide (titrate cu NaOH) atinge 2,33 mechiv/g, dintre care 0,97 mechiv/g sau 42% din totalul grupărilor acide constituie grupările carboxilice „puternic acide” (titrate cu soluție de NaHCO₃) (*a se vedea* Tabelul). Conținutul grupărilor lactonice și/sau carboxilice „slab acide”, determinate din diferența titrărilor [Na₂CO₃-NaHCO₃], atinge 0,40 mechiv/g sau 17% din totalul grupărilor acide. Astfel, cca 60% din totalul de grupări funcționale acide, formate în procesul oxidării pe suprafața cărbunelui activ, sunt grupări carboxilice de diferită tărie, restul aparține grupărilor fenolice (0,96 mechiv/g, determinate din diferența titrărilor [NaOH-Na₂CO₃]). Folosind pentru titrarea grupărilor funcționale acide etilatul de sodiu (NaOEt) în alcool etilic (bază mai puternică decât NaOH) se titrează și grupările carbonilice (grupări aprotonice (Fig.3)). Pe suprafața acestui cărbune se găsesc cca 2,3 mechiv/g grupări protonogene (titrate cu soluție NaOH) și cca 1,5 mechiv/g grupări aprotonice (determinate din diferența [NaOEt–NaOH]) (*a se vedea* Tabelul).

Tabel

Determinarea grupărilor funcționale pe suprafața cărbunelui activ obținut din sâmburi de piersici prin activare fizico-chimică cu vapori de apă și oxidat cu acid azotic (fracțiunea 0,63-1,00 mm). Metoda Boehm modificată

| Cantitatea grupărilor funcționale, mechiv/g | | | | Caracterul grupărilor acide, mechiv/g | | | | |
|---|---------------------------------|-----------|-----------|---------------------------------------|------------|------|----------|-------------|
| Titrant | | | | Carboxilice | | | Fenolice | Carbonilice |
| NaHCO ₃ | Na ₂ CO ₃ | NaOH | NaOEt | Puternic acide | Slab acide | Suma | | |
| 0,97±0,01 | 1,37±0,07 | 2,33±0,07 | 3,80±0,03 | 0,97 | 0,40 | 1,37 | 0,96 | 1,47 |

În cazul folosirii soluției de etilat de sodiu în calitate de titrant, trebuie de remarcat că, pe măsura măririi concentrației inițiale de contactare, aparent se majorează valoarea conținutului grupărilor acide determinate, din cauza denaturării raportului echivalenților. Pentru titrări se recomandă a folosi soluții alcoolice de etilat de sodiu (0,025 N) în concentrații mici, deoarece concentrația mică favorizează disocierea moleculelor de etilat de sodiu.

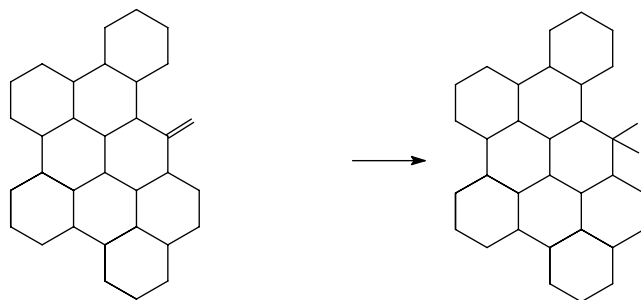


Fig.3. Prezentarea schematică a interacțiunii dintre etilatul de sodiu și grupările carbonilice de pe suprafața cărbunilor activi.

Aplicarea titrărilor electrometrice

Pe suprafața cărbunilor activi pot fi prezente atât grupări acide, cât și baze, în proporții diferite, în funcție de materia primă și metoda de activare [12,13]. Prin metoda fizico-chimică de activare cu vapori de apă, anhidridă sulfuroasă sau soluție amoniacală se obțin cărbuni activi cu suprafața bazică, iar prin metoda de activare chimică cu acid fosforic sau acid sulfuric se obțin cărbuni activi cu suprafața acidă [12,13].

Titrările electrometrice, efectuate în diferite variante, se dovedesc a fi destul de eficiente pentru evaluarea conținutului grupărilor funcționale (acide sau bazice). Pentru determinarea grupărilor funcționale bazice pe suprafața cărbunilor activi bazici se propune a utiliza titrări conductometrice acidimetrice în condițiile descrise. În Figura 4 este prezentată curba de titrare conductometrică cu HCl a cărbunelui activ obținut din sămburi de piersici prin activare fizico-chimică cu anhidridă sulfuroasă [16]. Curba de titrare indică un singur punct de flexiune, sugerând prezența pe suprafața adsorbantului cercetat a grupărilor bazice având natură chimică destul de apropiată. Pentru determinarea grupărilor acide pe suprafața acestor cărbuni, se propune efectuarea titrărilor pH-metrice indirecte cu NaOH. În acest scop, se adaugă surplus de soluție de HCl, pentru neutralizarea grupărilor bazice pe suprafața cărbunelui și, după stabilirea echilibrului timp de 2-3 ore, suspensia este titrată pH-metric cu soluție de NaOH. Curba de pH indică distinct titrarea surplusului de acid tare (prima flexiune), în continuare urmând titrarea grupărilor acide pe suprafața cărbunelui activ (Fig.4).

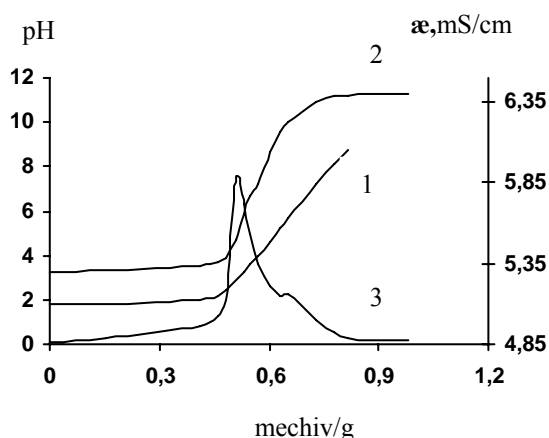


Fig.4. Titrare conductometrică cu HCl (curba 1) a cărbunelui activ obținut din sămburi de piersici prin activare cu anhidridă sulfuroasă.
Titrare pH-metrică indirectă cu NaOH (2 – curba integrală, 3 – curba diferențială).

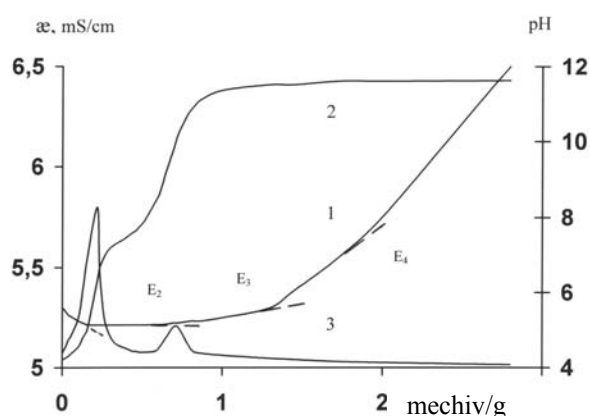


Fig.5. Titrare alcalimetrică cu NaOH a cărbunelui activ obținut din coji de nuci prin activare chimică cu acid fosforic.
Curbele conductometrică (1) și pH-metrice (2 – curba integrală, 3 – curba diferențială).

Pentru determinarea conținutului de grupări funcționale acide pe suprafața cărbunilor activați acizi (obținuți prin metoda chimică) se propune efectuarea titrărilor conductometrice alcalimetrice. În Figura 5 este prezentată curba de titrare conductometrică a cărbunelui activ, obținut din coji de nuci prin activare chimică cu acid fosforic [16]. Curba de pH indică prezența a două tipuri de grupări funcționale acide, în vreme ce din curba

conductometrică se disting 4 tipuri de grupări funcționale acide pe suprafața cărbunelui activ. Se constată o concordanță bună a cantităților primelor două tipuri de grupări acide pe suprafața adsorbantului, determinate din titrări conductometrice și pH-metrice.

Însă, de rând cu prezența grupărilor acide, pe suprafața cărbunilor activați prin metoda chimică există și anumite cantități de grupări funcționale bazice. Pentru determinarea conținutului lor, se propune efectuarea titrărilor pH-metrice indirecte cu HCl. În acest scop, se adaugă surplus de soluție de NaOH, pentru neutralizarea grupărilor acide și, după stabilirea echilibrului timp de 2-3 ore, suspensia este titrată pH-metric cu soluție de HCl. Curba de pH indică distinct titrarea surplusului de bază tare (prima flexiune), în continuare urmând titrarea grupărilor bazice pe suprafața cărbunelui activ (Fig.5) [16].

Concluzii

1. Au fost precizate unele aspecte metodologice ale tehnicii de titrare Boehm: (i) prin determinarea timpului optim pentru stabilirea echilibrului de neutralizare a grupărilor acide pentru fiecare mostră de cărbune activ cercetat; (ii) prin determinarea directă a alcalinității totale a supranatantului; (iii) prin folosirea etilatului de sodiu pentru determinarea grupărilor carbonilice pe suprafața cărbunilor.

2. Au fost evidențiate particularitățile metodologice, fiind recomandate modificări și perfecționarea metodelor instrumentale electrometrice, incluzând titrări pH-metrice și conductometrice, pentru determinarea grupărilor funcționale acide și bazice pe suprafața cărbunilor activi.

3. Pe suprafața cărbunilor activi obținuți prin metoda fizico-chimică predomină grupările funcționale bazice, pentru determinarea conținutului lor fiind recomandată metoda titrării conductometrice acidimetrice. De rând cu grupările bazice, pe suprafața acestor cărbuni există și grupări funcționale acide, pentru determinarea lor fiind recomandată metoda titrării pH-metrice indirecte, titrând alcalimetric surplusul de acid adăugat pentru neutralizarea grupărilor bazice.

4. Pe suprafața cărbunilor activi obținuți prin metoda chimică predomină grupările funcționale acide, pentru determinarea conținutului lor fiind recomandată metoda titrării conductometrice alcalimetrice. Pentru determinarea grupărilor bazice pe suprafața acestor cărbuni, se recomandă metoda titrării pH-metrice indirecte, titrând acidimetric surplusul de bază adăugat pentru neutralizarea grupărilor acide.

Referințe:

- BENADI, H., BANDOSZ, T.J., JAGIELLO, J., SCHWARZ, J.A., ROUZAUD, J.N., LEGRAS, D., BEGUIN, F. Surface functionality and porosity of activated carbons obtained from chemical activation of wood. In: *Carbon*, 2000, vol.38, p.669-674.
- BARTON, S.S., EVANS, M.J., HALLIOP, E., MACDONALD, J.A.F. Acidic and basic sites on the surface of porous carbon. In: *Carbon*, 1997, vol.35, p.1361-1366.
- CONTESCU, A., CONTESCU, C., PUTYERA, K., SCHWART, J.A. Surface acidity of carbons characterized by their continuous pK distribution and Boehm titration. In: *Carbon*, 1997, vol.35, p.83-94.
- MORENO-CASTILLA, C., LOPEZ-RAMON, M.V., CARRASCO-MARIN, F. Changes in surface chemistry of activated carbons by wet oxidation. In: *Carbon*, 2000, vol.38, p.1995-2001.
- BOEHM, H.P. Some aspects of the surface-chemistry of carbon-blacks and other carbons. In: *Carbon*, 1994, vol.32, p.759-769.
- BOEHM, H.P., DIEL, E., HECK, W., SAPPOK, R. Surface oxides of carbon. In: *Angewante Chemie International Edition*, 1964, vol.3, p.669-677.
- BOEHM, H.P. Chemical Identification of Superficial Groups. In: *Advances in Catalysis*, New York: Academic Press, 1966, p.179-274.
- BOEHM, H. Surface chemical characterization of carbons from adsorption studies. In: *Adsorption by carbons*. BOTTANI EDUARDO, J., TASCÓN JUAN, M.D. (eds). Amsterdam: Elsevier, 2008. p.301-27.
- SEREDYCH, M., HULICOVA-JURCAKOVA, D., LU, G.Q., BANDOSZ, T.J. Surface functional groups of carbons and the effects of their chemical character, density and accessibility to ions on electrochemical performance. In: *Carbon*, 2008, vol.46, p.1475-88.
- SALAME, I.I., BANDOSZ, T.J. Surface chemistry of activated carbons: combining the results of temperature-programmed desorption, Boehm, and potentiometric titrations. In: *Journal of Colloid and Interface Science*, 2001, vol.240, p.252-8.
- MENENDEZ, J.A., XIA, B., PHILLIPS, J., RADOVIC, L.R. On the modification and characterization of chemical surface properties of active carbon: Microcalorimetric, electrochemical, and thermal desorption probes. In: *Langmuir*, 1997, vol.13, p.3414-3421.

12. NASTAS, R., RUSU, V., GIURGINCA, M., MEGHEA, A., LUPAȘCU, T. Modificarea structurii chimice a suprafeței cărbunilor activi vegetali. În: *Revista de Chimie* (București), 2008, vol.59, p.159-164.
13. LUPASCU, T., PETUKHOVA, G.A., NASTAS, R., POLYAKOV, N.S. Pore structure and adsorption properties of stone active carbons prepared by physicochemical and chemical activation methods. In: *Rus. Chem. Bull.*, 2006, vol.55, p.770-775.
14. GOERTZEN, S.L., THERIAULT, K.D., OICKLE, A.M., TARASUK, A.C., ANDREAS. H.A. Standardization of the Boehm titration: Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination. In: *Carbon*, 2010, vol.48, p.1252-1261.
15. MADERA, V., ALLEN, H.E., MINEAR, R.A. Non-metallic Constituents. In: *Examination of Water for Pollution Control*, A Reference Handbook, M. J. Sues, World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark (Eds.), 1st Edition, Oxford-New York-Toronto-Sydney-Paris-Frankfurt: Pergamon Press, 1982. 310 p.
16. RUSU, V., NASTAS, R., GIURGINCA, M., MEGHEA, A., LUPAȘCU, T. Chimia suprafeței adsorbanților carbonici. În: *Materialele Simpozionului internațional „Mediul și Industria”*, București, 2007, p.140-145.
17. ADAMSON, A.W. *Physical chemistry of surfaces*. Third edition. New York: John Wiley and Sons, Inc., 1976. 700 p.
18. RUSU, V., LUPAȘCU, T. *Chimia sedimentelor sistemelor acvatice. Proprietăți de suprafață. Modele fizico-chimice*. Chișinău: Elena VI, 2004. 272 p.
19. STUMM, W., MORGAN, J.J. *Aquatic chemistry. Chemical equilibria and rates in natural waters*. Third edition. New York: John Wiley and Sons, Inc., 1996. 1024 p.
20. OICKLE, A.M., GOERTZEN, S.L., HOPPER, K.R., ABDALLA, Y.O., ANDREAS. H.A. Standardization of the Boehm titration: Part II. Method of agitation, effect of filtering and dilute titrant. In: *Carbon*, 2010, vol.48, p.3313-3322.

Prezentat la 16.10.2016

CZU: 541.49: 546.72: 537.67

SINTEZA, STRUCTURA ȘI PROPRIETĂȚILE COMPUȘILOR COORDINATIVI AI FIERULUI CU 4-FENILTIOSEMICARBAZONA ȘI 4-FENIL-S-METILTIOSEMICARBAZONA 2-ACETILPIRIDINEI

Tatiana PALAMARCIUC, Angela ȘÎRBU, Oleg PALAMARCIUC

Universitatea de Stat din Moldova

În acest articol este realizată sinteza compușilor Fe(III) cu 4-feniltiosemicarbazona și 4-fenil-S-metiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei, fiind propus studiul cristalografic și magnetic al acestor compuși cât și studiul spectrofotometric în soluție pentru ionii Fe(II) cu aceiași liganzi. Compușii coordinativi $[\text{Fe}(\text{L}_1)_2]\text{BF}_4 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ (**1**) și $[\text{Fe}(\text{L}_2)_2]\text{FeCl}_4$ (**2**) au fost obținuți în soluții alcoolice. Analiza cu raze X relevă faptul că metilarea atomului de sulf influențează asupra modului de coordinare a liganzilor la ionul de Fe(III). Compușii **1** și **2** manifestă proprietăți magnetice diferite.

Cuvinte-cheie: compus coordinativ, fier, proprietăți magnetice.

SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES OF IRON COORDINATION COMPOUNDS WITH 2-ACETILPYRIDINE 4-PHENYLTHIOSEMICARBAZONE AND DERIVATIVES

The synthesis, crystallographic and magnetic studies of Fe(III) compounds with 4-phenylthiosemicarbazone and 4-phenylthiosemicarbazone 2-acetylpyridine are presented. The spectrophotometric studies in solution were realized for Fe(II) ions with the same ligands. The coordination compounds $[\text{Fe}(\text{L}_1)_2]\text{BF}_4 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ (**1**) and $[\text{Fe}(\text{L}_2)_2]\text{FeCl}_4$ (**2**) were obtained from alcoholic solutions. Crystallographic studies reveal that the methylation of sulfur atom influence the coordination set on the Fe(III) ion. Compounds **1** and **2** shows different magnetic properties in function of temperature.

Keywords: coordination compound, iron, magnetic properties.

Introducere

Tiosemicarbazonele sunt o clasă de compuși intens studiate datorită modului diferit de coordinare și proprietăților chimice ale compușilor coordinativi cu metalele de tranziție. Interesul față de compușii coordinativi ai acestor liganzi este stimulat de proprietățile fizico-chimice [1] și activitatea biologică [2] semnificativă. Studiile efectuate în literatura de specialitate arată că în funcție de metal și de condițiile de reacție acești liganzi pot coordina diferit [3] și formează compuși cu nuclearitate diversă [4]. Compușii fierului cu liganzi derivați ai tiosemicarbazonei prezintă interes datorită proprietăților antitumorale relate în literatură [5,6]. Studiul acestor liganzi a fost direcționat și în domeniul magnetismului molecular. Începând cu anii 60 ai sec. XX au fost descoperiți pentru prima dată și apoi studiați din ce în ce mai profund compușii fierului cu tiosemicarbazonele ce prezintă proprietăți cu tranziție de spin [7]. Sub acțiunea temperaturii, câmpului magnetic, luminii compușii cu tranziție de spin oscilează de la stare paramagnetică la diamagnetică, și invers [7]. Atât compușii Fe(II), cât și ai Fe(III) pot prezenta tranziție de spin în funcție de tăria ligandului [8]. La momentul actual, numărul compușilor cu tranziție de spin în baza liganzilor derivați ai tiosemicarbazonei rămâne încă mic. Aceasta se datorează faptului că procesul de tranziție de spin este unul complex și este influențat de mai mulți factori, ca: natura ligandului, modul de coordinare a ligandului, natura substituenților din liganzi, împachetarea compusului în cristal, natura solventului, tipul interacțiunilor intermoleculare prezente în cristal. Din acest motiv, obținerea liganzilor noi în baza tiosemicarbazonei pentru obținerea compușilor cu tranziție de spin este primordială.

În această lucrare este realizată sinteza și propus studiul compușilor coordinativi ai fierului(III) cu 4-feniltiosemicarbazona-2-acetilpiridinei (L_1) și 4-fenil-S-metiltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei (L_2) cu formulele $[\text{Fe}(\text{L}_1)_2]\text{BF}_4 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ (**1**) și $[\text{Fe}(\text{L}_2)_2]\text{FeCl}_4$ (**2**).

Partea experimentală

1.1. Reactivi și metode de cercetare

Reactivii organici și anorganici de calitate superioară (97 - 99,99%) au fost procurați de la companiile „Sigma-Aldrich”, „Acros Organics” sau „Alfa Aesar”, fiind folosiți în sinteză fără o purificare prealabilă.

Determinarea elementelor C, H, N

Pentru analiza elementală a substanțelor studiate a fost utilizat analizatorul de elemente automat FlashEATM 1112 de la Institutul de Chimie a Materiei Condensate (Bordeaux, Franța).

Determinarea Fe

Pentru analiza fierului a fost utilizată metoda titrării complexonometrice [9]

Analiza cu raze X

Investigația cristalografică prin difracție cu raze X pe monocristal a fost efectuată la difractometrul Bruker Apex II în laboratorul „Centrul de Cercetări Paul Pascal”. Probele au fost supuse iradierii cu o sursă de Mo-K α pe monocromator de grafit ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Pentru integrarea datelor a fost utilizat programul SAITN, iar pentru omiterea efectelor de polarizare Lorentz – programul SADABS (Sheldrick G.M., 2000). Structurile au fost determinate și confirmate prin metoda directă, iar apoi rafinate prin metoda semipătratică F^2 utilizând programul SHELXTL-97 (Sheldrick G.M., 2008). Toți atomii, cu excepția celor de hidrogen, au fost rafinați anizotropic. Atomii de hidrogen au fost atribuiți în pozițiile ideale cu ajutorul comenzii HFIX din programul SHELXL-97. Datele cristalografice sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1**Datele cristalografice și parametrii structurali pentru compușii 1 și 2**

| Formula empirică | C ₂₉ H ₃₀ BF ₄ FeN ₈ OS ₂ (1) | C ₃₀ H ₃₀ Cl ₄ Fe ₂ N ₈ S ₂ (2) |
|--|--|---|
| Masa moleculară | 713.39 | 820.24 |
| Temperatura, K | 293(2) | 293(2) |
| Sistemul cristalin | orthorhombic | monoclinic |
| Grupul de spațiu | <i>Pna</i> 2 ₁ | <i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i> |
| Parametrii celulei elementare | | |
| <i>a</i> , Å | 15.333(5) | 9.6395(3) |
| <i>b</i> , Å | 22.630(5) | 17.2209(6) |
| <i>c</i> , Å | 9.127(5) | 21.1777(7) |
| α , deg | 90.000(5) | 90 |
| β | 90.000(5) | 95.095(2) |
| γ | 90.000(5) | 90 |
| <i>V</i> , Å ³ | 3167(2) | 3501.6(2) |
| <i>Z</i> , | 4 | 4 |
| ρ_{calc} , g/cm ³ | 1.496 | 1.558 |
| μ_{Mo} , mm ⁻¹ | 0.67 | 1.288 |
| <i>F</i> (000) | 1468.0 | 1676.0 |
| dimensiunea cristalului, mm | 0.1 × 0.1 × 0.1 | 0.1 × 0.1 × 0.1 |
| θ , grade | 3.6 - 43.68 | 3.06 to 58.3 |
| Index de colectare a datelor | -16 ≤ <i>h</i> ≤ 15, -23 ≤ <i>k</i> ≤ 23, -9 ≤ <i>l</i> ≤ 9 | 10 ≤ <i>h</i> ≤ 13, -23 ≤ <i>k</i> ≤ 23, -29 ≤ <i>l</i> ≤ 27 |
| Reflecții colectate/unice | 61173/3782 | 33213/9430 |
| Integralitatea $\theta = 27.05$, % | 98.6 | 97.3 |
| Reflecții cu $I > 2\sigma(I)$ | 3782 | 9430 |
| Numărul de parametri reînnoiți | 425 | 419 |
| GOOF | 1.140 | 1.090 |
| <i>R</i> (pentru $I > 2\sigma(I)$) | $R_1 = 0.0546$, $wR_2 = 0.1399$ | $R_1 = 0.0367$, $wR_2 = 0.0900$ |
| <i>R</i> (pentru toate reflecțiile) | $R_1 = 0.0554$, $wR_2 = 0.1404$ | $R_1 = 0.0499$, $wR_2 = 0.1041$ |
| $\Delta\rho_{\text{max}} / \Delta\rho_{\text{min}}$, e ⁻ Å ⁻³ | 0.71/-0.59 | 0.94/-1.29 |

Studiul proprietăților magnetice

Proprietățile magnetice au fost măsurate la magnetometrul SQUID Quantum Design (MPMS-XL) și susceptometrul PPMS-9 în laboratorul „Centrul de Cercetări Paul Pascal” CRPP, CNRS (Bordeaux, Franța). Probele au fost preparate în formă policristalină cu masa cuprinsă între 5 și 30 mg. Datele experimentale au fost corectate ținându-se cont de contribuțiile diamagnetice ale port probei și ale compușilor.

Studiul spectrofotometric

Spectrele electronice de absorbție au fost înregistrate la spectrofotometrul Cary 300 UV-Vis, în domeniul 200 ÷ 800 nm și cuve de cuarț cu $l=1$ cm.

II.2. Procedee de sinteză

Liganzii **4-Ph-TSC-2AcPy** și **4-Ph-S-CH₃-TSC-2AcPy** au fost obținuți în urma reacțiilor de condensare a 2-acetilpiridinei cu tiosemicarbazidele respective în alcool etilic.

[Fe(4-Ph-TSC-2AcPy)₂]·BF₄·CH₃OH (1)

La o soluție metanolică fierbinte ce conține 2 mmol (0.54 g) de ligand (4-fenil tiosemicarbazona-2-acetilpiridinei) a fost adăugată cu picătura, la agitare, o soluție metanolică ce conține 1 mmol (0.337 g) de tetrafluorborat de fier(II). Soluția brună-verzuie rezultată a fost agitată timp de 5 minute, după care a fost lăsată la temperatura camerei. Cristalele de culoare *brună-închis* au fost obținute în urma difuziei lente cu eter dietilic. Cristalele reprezintă plachete romboidale de culoare brună-închis, care au fost separate prin filtrare, spălate cu eter dietilic și uscate la temperatura camerei. Randament 68-75%. Anal. Element. Calc. pentru C₂₉H₃₀BF₄FeN₈OS₂ (M=713.38 g/mol): C, 48.83; H, 4.24; N, 15.71; Fe, 7.83%. Găsit: C, 48.74; H, 4.18; N, 15.87; Fe, 7.77%.

[Fe(4-Ph-S-CH₃-TSC-2AcPy)₂]·FeCl₄ (2)

La o soluție metanolică fierbinte ce conține 2 mmol (0.56 g) de ligand (4-fenil-S-metil tiosemicarbazona-2-acetilpiridinei) a fost adăugat cu picătura, la agitare, 1 mmol (0.199 g) de clorură de fier(II) dizolvată în metanol. Soluția brună-verzuie rezultată a fost agitată timp de 5 minute, după care a fost lăsată la temperatura camerei. Aglomerații de cristale de culoare *roșie-închis* au fost obținute în urma difuziei lente cu eter dietilic. Solidul format a fost separat prin filtrare, spălat cu eter dietilic și uscat la temperatura camerei. Cristalele reprezintă plachete romboidale de culoare roșie-închis. Randament 70-72%. Anal. Element. Calc. pentru C₃₀H₃₀Cl₄Fe₂N₈S₂ (M=820.24 g/mol): C, 43.93; H, 3.69; N, 13.66; Fe, 13.62%. Găsit: C, 43.71; H, 3.41; N, 13.77; Fe, 13.55%.

Rezultate și discuții**II.1. Sinteza și caracterizarea structurală**

Ambii complecși **1** și **2** au fost obținuți la interacțiunea în metanol a ligandului L₁ cu tetrafluorboratul de fier(II) pentru **1** și a ligandului L₂ cu clorura de fier(II) pentru **2**, respectiv. În ambele cazuri are loc oxidarea Fe(II) cu oxigenul din aer la Fe(III) rezultând complecși cu raportul de combinare metal:ligand de 1:2. În ambele cazuri au fost obținute monocristale de calitate înaltă pentru studiul cu raze X pe monocristal.

Pentru a demonstra procesul și raportul de coordinare al liganzilor L₁ și L₂ la ionii de fier(II), care au servit ca precursori pentru complecșii finali cu fier(III), a fost realizat studiul spectrofotometric UV-VIS în soluție. Spectrul electronic al soluției alcoolice de L₁ prezintă două maximuri de absorbție localizate la lungimile de undă 252 și 327 nm (Fig. 1). Adăugarea ionilor de fier(II) la soluția de ligand L₁ provoacă formarea unui produs de culoare galbenă în soluție, care modifică spectrul electronic prin apariția unei benzi noi de absorbție la lungimea de undă 398 nm și intensificarea absorbției la 266 nm (Fig.1). Înregistrarea spectrului electronic în varianta diferențială ((Ligand + Fe)/Ligand) demonstrează formarea unui compus coordinativ al fierului cu L₁.

În condiții identice au fost cercetate soluțiile alcoolice ale L₂ și ale compusului coordinativ cu fier(II). Din acest studiu se observă că soluția de L₂ se caracterizează spectral prin absorbanta maximă la lungimea de undă $\lambda = 307, 403$ nm (Fig.2). La adăugarea ionilor de fier(II) are loc modificarea spectrului electronic al ligandului prin micșorarea absorbției la 304 nm și apariția unei benzi noi la 370 nm și a unei benzi late de absorbție la $\lambda = 500 - 565$ nm (Fig. 2). Atât spectrul electronic al compusului coordinativ al fierului cu L₂, cât și spectrul electronic în varianta diferențială ((Ligand + Fe)/Ligand) denotă formarea compusului coordinativ.

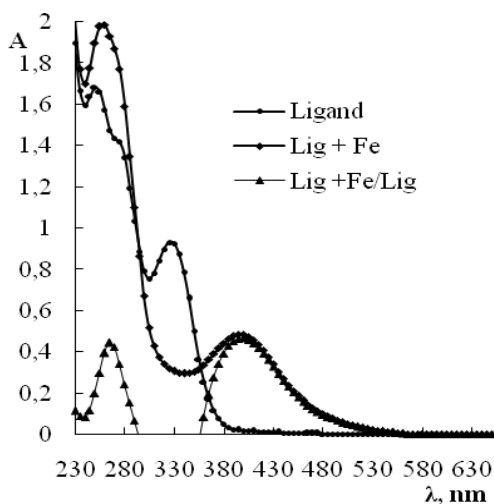


Fig.1. Modificarea spectrului electronic al soluției alcoolice de 4PhTSC2AcPy la adăugarea sărurilor de fier(II) ($C(4\text{PhTSC2AcPy})=1\cdot 10^{-4}\text{M}$, $C(\text{Fe}^{2+})=5\cdot 10^{-5}\text{M}$).

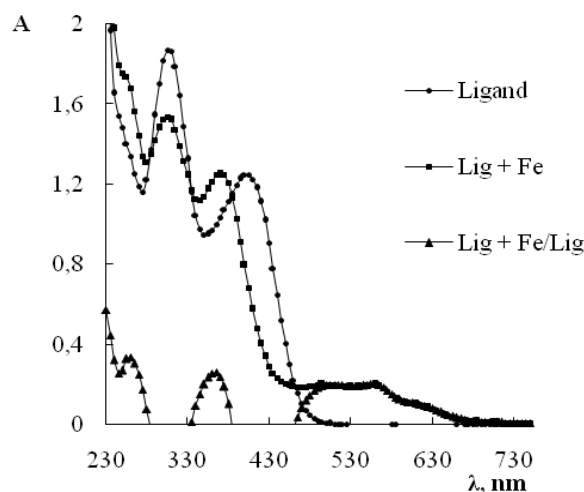


Fig.2. Modificarea spectrului electronic al soluției alcoolice de 4PhSCH3TSC2AcPy la adăugarea sărurilor de fier(II) ($C(4\text{PhSCH3TSC2AcPy})=2\cdot 10^{-4}\text{M}$, $C(\text{Fe}^{2+})=1\cdot 10^{-4}\text{M}$).

De menționat că studiul spectrofotometric realizat relevă formarea compusului coordinativ pentru ambii liganzi L_1 și L_2 cu sărurile de fier corespunzătoare în soluție. Raportul de coordinare metal:ligand și starea de oxidare a atomului de fier a fost studiată detaliat pe compușii solizi în monocristal.

Compusul **1** cristalizează într-un sistem cristalin *ortorombic*, grupul spațial de simetrie $Pna2_1$, și are 4 molecule în celula elementară (Fig. 3). Analiza prin difracție de raze X a relevat prezența unei unități mononucleare, în care unitatea asimetrică conține doi liganzi anionici L_1 coordinați la ionul de fier (III), anionul tetrafluorborat și o moleculă de solvent – metanol. Stereochimia ionului metallic reprezintă un octaedru distorsionat, liganzii organici fiind situați în două planuri perpendiculare unul față de altul (Fig. 3).

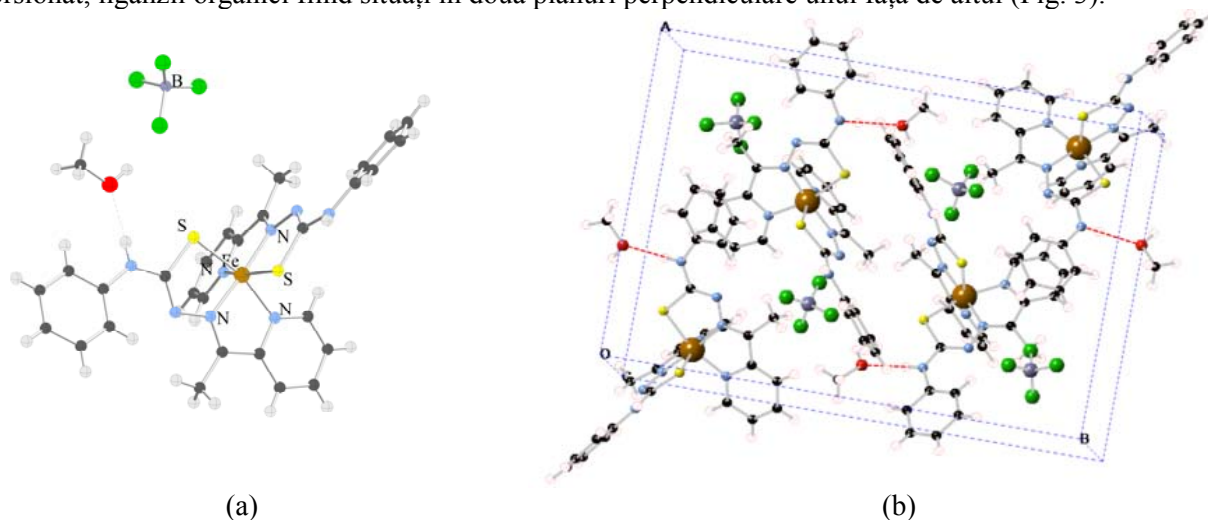


Fig.3. a) Reprezentarea ORTEP a structurii moleculare a compusului **1**; b) Structura cristalină a compusului **1** și interacțiunile intermoleculare O...H-N (reprezentate cu linie întreruptă roșie).

Ligandul L_1 coordonează la ionul de fier(III) prin setul de atomi NNS. Atomii donori aflați în planul ecuatorial N,N,S,N sunt furnizați de către atomii de azot piridinic ($\text{Fe1-N2} = 1.985\text{\AA}$), azot azometinic ($\text{Fe1-N1} = 1.925\text{\AA}$), atomul de sulf de la gruparea tiolică ($\text{Fe1-S2} = 2.225\text{\AA}$) a primului ligand și azotul azometinic ($\text{Fe1-N6} = 1.916\text{\AA}$) al celui de-al doilea ligand, în timp ce pozițiile axiale sunt ocupate de restul atomilor donori N,S ai celui de-al doilea ligand furnizat de azotul piridinic ($\text{Fe1-N5}=1.925\text{\AA}$) și sulf de la gruparea tiolică ($\text{Fe1-S1}=2.222\text{\AA}$). Deviarea de la o geometrie octaedrică ideală este redată prin distanțele (Fe-N , Fe-S) din jurul centrului metallic și de unghiurile (N-Fe-N , S-Fe-S , N-Fe-S) de legătură din jurul acestuia (Tab. 2).

Rețeaua cristalină este formată prin intermediul legăturilor de hidrogen intermoleculare O...H-N (Fig. 3b) dintre moleculele de metanol și atomul de N4 din ligandul organic.

Tabelul 2

Valorile lungimilor legăturilor (Å) și ale unghiurilor (°) pentru compușii 1 și 2

| Compusul 1 | | | | Compusul 2 | | | |
|------------|--------------|-----------|--------------|------------|--------------|-----------|--------------|
| Legături | Valoarea (Å) | Unghiuri | Valoarea (°) | Legături | Valoarea (Å) | Unghiuri | Valoarea (°) |
| Fe1-N1 | 1.925(5) | S2-Fe1-S1 | 97.45(8) | Fe1-N2 | 1.959(5) | N2-Fe1-N3 | 80.49(8) |
| Fe1-N2 | 1.985(6) | S2-Fe1-N2 | 163.0(2) | Fe1-N3 | 1.875(6) | N2-Fe1-N4 | 160.52(2) |
| Fe1-S2 | 2.225(2) | S2-Fe1-N6 | 96.4(2) | Fe1-N4 | 1.972(2) | N2-Fe1-N6 | 102.86(2) |
| Fe1-N6 | 1.916(6) | S2-Fe1-N1 | 84.5(2) | Fe1-N5 | 1.966(6) | N2-Fe1-N8 | 92.17(2) |
| Fe1-N5 | 1.982(7) | S2-Fe1-N5 | 88.9(2) | Fe1-N6 | 1.877(7) | N2-Fe1-N5 | 92.60(2) |
| Fe1-S1 | 2.222(2) | S1-Fe1-N2 | 91.6(2) | Fe1-N8 | 1.986(2) | N4-Fe1-N2 | 160.57(2) |
| | | S1-Fe1-N6 | 84.5(2) | Fe2-Cl1 | 2.329(4) | N4-Fe1-N6 | 96.57(2) |
| | | S1-Fe1-N1 | 91.8(2) | Fe2-Cl2 | 2.303(8) | N4-Fe1-N3 | 80.13(2) |
| | | S1-Fe1-N5 | 165.3(2) | Fe2-Cl3 | 2.323(2) | N4-Fe1-N5 | 90.54(2) |
| | | N2-Fe1-N6 | 98.7(2) | Fe2-Cl4 | 2.279(3) | N4-Fe1-N8 | 91.34(2) |
| | | | 80.9(2) | | | N5-Fe1-N6 | 79.87(2) |
| | | | 85.8(2) | | | N5-Fe1-N2 | 92.60(2) |
| | | | 176.2(2) | | | N6-Fe1-N3 | 175.16(2) |
| | | | 81.6(3) | | | N8-Fe1-N5 | 160.14(3) |
| | | | 102.1(2) | | | N8-Fe1-N2 | 92.47(2) |

Spre deosebire de L₁, ligandul L₂ coordonează la ionul de fier(III) prin setul de atomi NNN (Fig. 4). Compusul 2 cristalizează în sistemul cristalin *monoclinic*, grupul de simetrie P2₁/n, având 4 molecule în celula elementară. Analiza prin difracție de raze X a relevat prezența unei unități mononucleare, unde unitatea asimetrică conține doi liganzi anionici L₂ și anionul de tetraclorură de fier(III). Stereochimia ionului metalic este la fel un octaedru distorsionat, cu liganzii organici situați în două planuri perpendiculare unul față de altul (Fig. 4). O particularitate caracteristică acestui compus este rotirea inelului benzenic perpendicular axei ligandului (Fig. 4).

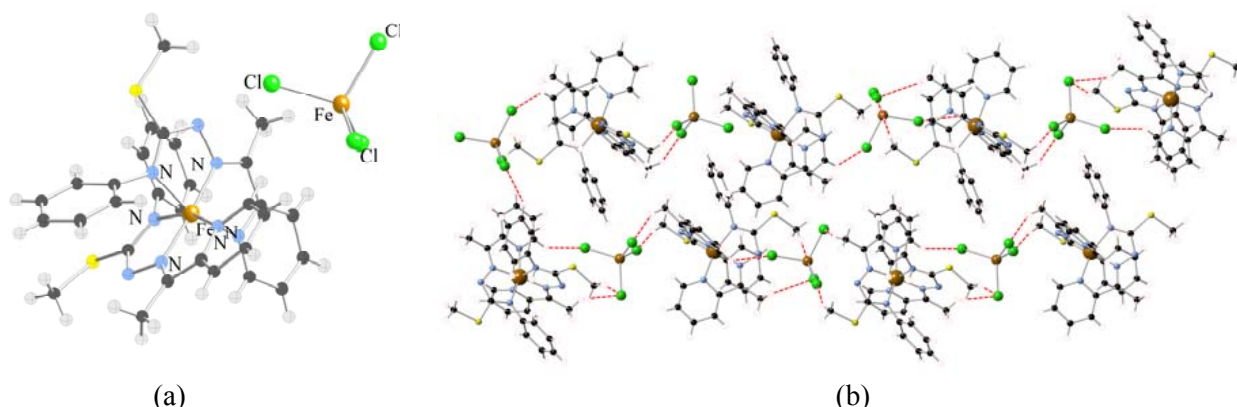


Fig.4. a) Reprezentarea ORTEP a structurii moleculare a compusului 2; b) Structura cristalină a compusului 2 și interacțiunile intermoleculare Cl...H (reprezentate cu linie întreruptă roșie).

Atomii donori N,N,N aflați în planul ecuatorial sunt furnizați de către atomii de azot piridinic (Fe1-N2 = 1.959 Å), azot azometinic (Fe1-N3 = 1.875 Å), azot tioamidic (Fe1-N4 = 1.972 Å) ai primului ligand și azot azometinic (Fe1-N6 = 1.877 Å) al celui de-al doilea ligand, în timp ce pozițiile axiale sunt ocupate de restul atomilor donori N,N, azotul piridinic (Fe1-N5 = 1.966 Å) ai primului ligand și azotul tioamidic (Fe1-N8 = 1.986 Å) al celui de-al doilea ligand. Devierea de la o geometrie octaedrică ideală este redată de distanțele (Fe-N) din jurul centrului metalic și de unghiurile de legătură (N-Fe-N) din jurul acestuia (Tab. 2).

Anionul $[\text{FeCl}_4]^-$ formează legături slabe de hidrogen cu unități asimetrice FeL_2 prin tot setul de atomi de clor Cl1, Cl2, Cl3 și Cl4 formând sisteme bidimensionale (Fig. 4b). Valorile unghiurilor N-Fe-N sunt redată în Tabelul 2.

II.2. Proprietățile magnetice

Studiul proprietăților magnetice în funcție de temperatură au fost efectuate pe un interval de temperaturi 10-350 K cu viteza de măsurare 2 K/min, în modul dc și ac.

Compusul **1** manifestă un comportament paramagnetic pe domeniul de temperaturi 10-350 K, caracteristic compușilor Fe(III) cu starea de spin înalt 5/2 (Fig. 5a). Cu micșorarea temperaturii această stare se menține, fapt demonstrat prin valoarea constantă a produsului χT până la temperaturi joase de 10 K. Prin urmare, pentru compusul **1** nu se înregistrează o tranziție de spin de la $S=5/2$ la un spin mai mic $S=3/2$ sau $S=1/2$, compusul **1** rămânând paramagnetic pe toată gama de temperaturi studiate.

Compusul **2** are un comportament magnetic diferit față de cel înregistrat pentru compusul **1**. La temperatura camerei compusul **2** (Fig. 5b) manifestă un comportament paramagnetic cu un produs χT mai mic pentru starea $S=5/2$, dar mai mare pentru $S=3/2$. Această stare poate fi explicată printr-o tranziție de spin de la 3/2 la 5/2 la o temperatură mai superioară decât posibilitățile de înregistrare a utilajului.

Analiza aspectului dependenței produsului χT în funcție de temperatură arată că la temperaturi mai mari de 350 K valoarea χT este mai mare și curba coboară dintr-o stare cu spinul mai mare la una intermediară. Aceasta poate fi interpretat ca sfârșitul tranziției de spin de la starea $S = 5/2$ la cea intermediară cu $S = 3/2$. Pentru această stare de spin ($S = 3/2$) valoarea calculată pentru χT este $1,876 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$. O valoare mai mare pentru compusul **2** (~2,3) rezultă din faptul că în compus există două centre paramagnetice: ionul de fier(III) din cationul complex cu ($S = 3/2$) și ionul de fier(III) din anionul (FeCl_4^-). Valoarea susceptibilității magnetice molare teoretic calculată este $2,251 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$, apropiată de cea observată experimental. Cu reducerea temperaturii valoarea produsului χT rămâne constantă până la $\sim 100^\circ\text{K}$, după ce urmează o reducere evidentă. Această reducere ar putea avea două motive: o interacțiune de schimb antiferomagnetic între centrele paramagnetice sau începutul unei tranziții de spin de la 3/2 la 1/2. Deoarece, conform datelor structurale, distanțele dintre ionii de fier sunt destul de mari pentru a condiționa o acțiune de schimb magnetic, mai viabilă este ideea unei tranziții electronice de la starea cu $S = 3/2$ la $S = 1/2$, care urmează să se producă la o temperatură mai mică de 10 K (Fig. 5b).

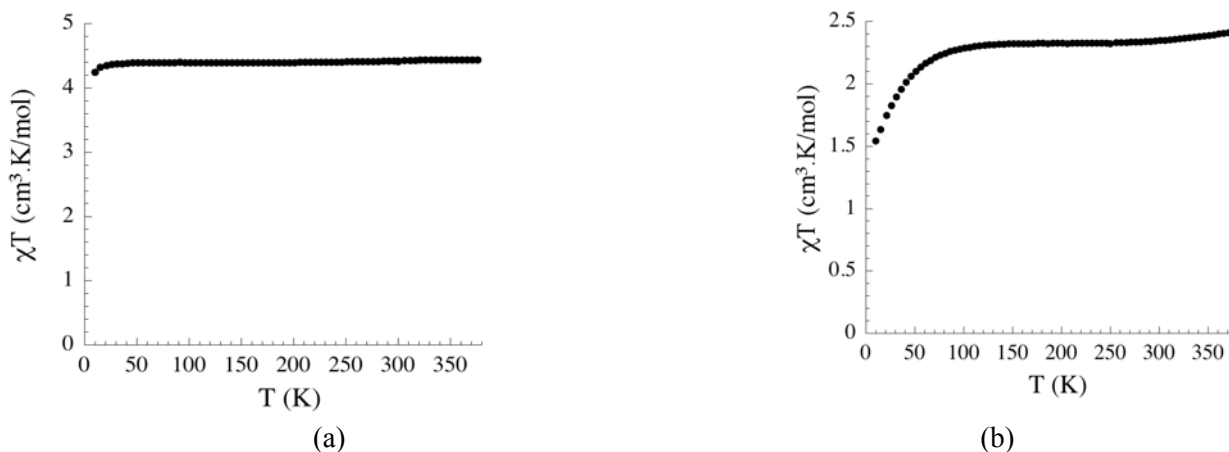


Fig.5. Dependența de temperatură a produsului χT pentru compușii **1** – (a) și **2** – (b).

Concluzii

Thiosemicarbazonele utilizate în acest studiu formează compuși coordinativi mononucleari octaedrici de tipul $[\text{Fe}(\text{L})_2] \cdot \text{A} \cdot \text{solv}$ ($\text{A} = \text{anion}$, $\text{solv} = \text{solvent}$), cu structură ionică. În ambii compuși **1** și **2** ionul de fier se stabilizează în starea de oxidare +3. În compusul **2** alchilarea thiosemicarbazidei duce la coordinarea atomului de fier(III) prin setul de atomi donori NNN față de NNS pentru compusul **1**. Proprietățile magnetice studiate în funcție de temperatură demonstrează că compușii au comportament magnetic diferit. Comportamentul magnetic diferit al acestor compuși poate fi explicat prin sfera de coordonare diferită a compușilor și, respectiv, influența anionului FeCl_4^- în compusul **2**.

Referințe:

- PANDIARAJAN, D., RAMESH, R., LIU, Y., SURESH, R. Palladium(II) thiosemicarbazone-catalyzed Suzuki–Miyaura cross-coupling reactions of aryl halides. In: *Inorg. Chem. Commun.*, 2013, vol.33, p.33-37.
 - YOUSEF, T. A., EL-REASH, G.M. A., EL-GAMMAL, O.A., BEDIER, R.A. Co(II), Cu(II), Cd(II), Fe(III) and U(VI) complexes containing a NSNO donor ligand: Synthesis, characterization, optical band gap, in vitro antimicrobial and DNA cleavage studies. In: *J. Mol. Struct.*, 2012, vol.1029, p.149-160.
 - WANG, X.M.; YAN, H., FENG, X.L., CHEN, Y. 1-Pyrenecarboxaldehyde thiosemicarbazone: A novel fluorescent molecular sensor towards mercury (II) ion. In: *Chinese Chemical Letters*, 2010, vol.21, p.1124-1128.
 - TIAN, Y.-P., DUAN, C.-Y., ZHAO, C.-Y., YOU, X.-Z., MAK, T.C.W., ZHANG, Z.Y. Synthesis, Crystal Structure, and Second-Order Optical Nonlinearity of Bis(2-chlorobenzaldehyde thiosemicarbazone)cadmium Halides (CdL₂X₂; X = Br, I) In: *Inorg. Chem.*, 1997, no.36, p.1247-1252.
 - LIU, Z.H., DUAN, C.Y., HU, J., YOU, X.Z. Design, Synthesis, and Crystal Structure of a cis-Configuration N₂S₂-Coordinated Palladium(II) Complex: Role of the Intra- and Intermolecular Aromatic-Ring Stacking Interaction. In: *J. Inorg. Chem.*, 1999, vol.38, p.1719-1724.
- DEMORO, B., de ALMEIDA, R.F.M., MARQUES, F., MATOS, C.P., OTERO, L., PESSOA, J.C., SANTOS, I., RODRIGUEZ, A., MORENO, V., LORENZO, J., GAMBINO, D., TOMAZ, A.I. Screening organometallic binuclear thiosemicarbazone ruthenium complexes as potential anti-tumour agents: cytotoxic activity and human serum albumin binding mechanism. In: *Dalton Trans.*, 2013, vol.42, p.7131-7146.
 - MATESANZ, A.I., LEITAO, I., SOUZA, P. Palladium(II) and platinum(II) bis(thiosemicarbazone) complexes of the 2,6-diacetylpyridine series with high cytotoxic activity in cisplatin resistant A2780cisR tumor cells and reduced toxicity. In: *J. Inorg. Biochem.*, 2013, vol.125, p.26-31.
 - PANJA, A., EICHHORN, D.M. Mono- and di-nuclear nickel(II) complexes with mixed N/S-donor ligands: Syntheses, structures and physical properties. In: *Inorg. Chim. Acta*, 2012, vol.391, p.88-92.
 - GENOVA, P., VARADINOVA, T., MATESANZ, A. I., MARINOVA, D., SOUZA, P. Toxic effects of bis(thiosemicarbazone) compounds and its palladium(II) complexes on herpes simplex virus growth. In: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2004, vol.197, p.107-112.
 - FERRARI, M.B., BISCEGLIE, F., PELOSI, G., TARASCONI, P., ALBERTINI, A., DALL'AGLIO, P.P., PINELLI, S., BERGAMO, A., SAVA, G. Synthesis, characterization and biological activity of copper complexes with pyridoxal thiosemicarbazone derivatives. X-ray crystal structure of three dimeric complexes. In: *J. Inorg. Biochem.*, 2004, vol.98, p.301-312.
- PADHYE, S., KAUFFMAN, G.B. Transition metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. In: *Coord. Chem. Reviews*, 1985, vol.63, p.127-160.
 - CASAS, J. S., GARCIA-TASENDE, M.S., SORDO, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. In: *Coord. Chem. Reviews*, 2000, vol.209, p.197-261.
- KOLOTILOV, S.V. et al. Synthesis, structure, sorption and magnetic properties of Ni(II) and Cu(II) complexes with thiosemicarbazone of 2-hydroxybenzaldehyde, bridged by 4,4'-bipyridine. In: *Inorg. Chim. Acta*, 2007, vol.360, p.1883-1889.
 - SCHULTE, G. et al. Functional Modeling of Ni, Fe Hydrogenases: A Nickel Complex in an N,O,S Environment. In: *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1991, vol.30, p.193-194.
 - JIN, L., CHENG, L. Synthesis, characterization and bioactivity of a novel iron(III) 18-metallacrown-6 complex with S-donor ligands. In: *Inorg. Chim. Acta*, 2008, vol.361, p.2109-2114.
- YU, Y., GUTIERREZ, E., KOVACEVIC, Z., SALETTA, F., OBEIDY, P., RAHMANTO, Y.S., RICHARDSON, D.R. Iron Chelators for the Treatment of Cancer. In: *Curr. Med. Chem.*, 2012, vol.19, p.2689-2702.
- RICHARDSON, D.R., KALINOWSKI, D.S., RICHARDSON, V., SHARPE, P.C., LOVEJOY, D.B., ISLAM, M., BERNHARDT, P.V. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones are Potent Iron Chelators and Antiproliferative Agents: Redox Activity, Iron Complexation and Characterization of their Antitumor Activity. In: *J. Med. Chem.*, 2009, vol.52, p.1459-1470.
- KONINGSBRUGGEN, P.J., MAEDA Y., OSHIO H. Iron(III) Spin Crossover Compounds. In: *Top. Curr. Chem.*, 2004, vol.233, p.259-324.
- GUTLICH P., GOODWIN H.A. Ligand field theoretical considerations. In: *Top. Curr. Chem.*, 2004, vol.233, p.49-58.
- REVENCO, M., SÎRGHIE, I., CHETRUȘ, P. In: *Titrimetrie*, 1998.

Notă: Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului pentru tinerii cercetători 15.819.02.04F.

Prezentat la 14.11.2016

CZU: 547.491.4: 535.371

INVESTIGAREA METODELOR DE SINTEZĂ PENTRU 3-(ANTRACEN-9-IL)-1-(4-IZOTIOCIANATOFENIL)-PROP-2-EN-1-ONĂ

Ana POPUȘOI

Universitatea de Stat din Moldova

Lucrarea prezintă o descriere succintă a izotiocianatochalconelor fluorescente și redă unele metode de obținere a lor. În aspect mai detaliat sunt cercetate metodele de obținere a izotiocianatochalconelor ce conțin fragmentul antracenic. Rezultate bune atestă metoda ce include condensarea 3-(4-acetilfenil)-1,1-dimetiltioureei cu antracene-9-carbaldehidă, urmată de eliminarea dimetilaminei din chalconele corespunzătoare la tratare cu anhidridă acetică sau cu clorură de acetyl.

Cuvinte-cheie: chalcone, izotiocianatochalcone, antracene-9-carbaldehidă, chalcone fluorescente.

THE INVESTIGATION OF SYNTHESIS METHODS FOR 3-(ANTHRACEN-9-YL)-1-(4-ISOTHIOCYANATOPHENYL)PROP-2-EN-1-ONE

The paper presents a review of the isothiocyanatochalcones fluorescents and their methods of synthesis. Various methods were investigated for obtaining anthracene moiety containing isothiocyanatochalcones. Good results give the method which includes condensation of 3-(4-acetylphenyl)-1,1-dimethylamine with anthracene-9-carbaldehyde flowed by elimination of dimethylamine in the treatment of corresponding chalcones with acetyl anhydride or acetyl chloride.

Keywords: chalcone, isothiocyanatochalcone, anthracene-9-carbaldehyde, fluorescent chalcones.

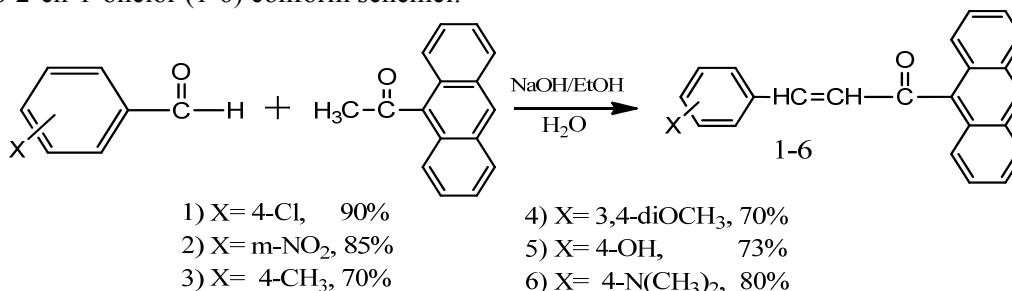
Introducere

În ultimii ani urmărim o incidență tot mai mare a infecțiilor microbiene cauzate de diverse bacterii care conduc la crearea microorganismelor multirezistente. Aproape toate aceste infecții afectează frecvent persoanele cu imunitate scăzută, pacienții cu afecțiuni maligne și beneficiarii de transplant. Numărul sporit al deceselor din cauza unor maladii grave impune o necesitate categorică de a găsi noi compuși biologic activi pentru a menține și a îmbunătăți în ansamblu gestionarea și prevenirea acestor infecții. Rezultatele investigațiilor citologice cu laser demonstrează utilitatea substanțelor fluorescente drept sensibilizatori. Astfel, fluoresceina și alți produși ce manifestă proprietăți luminescente asigură lezarea selectivă a nucleului sau a membranei celulare și acest fapt asigură strict localizarea unui substrat ce absoarbe selectiv radiația monocromatică. Proprietățile luminescente existente permit utilizarea acestor compuși în terapia fotodinamică a cancerului. O atenție deosebită pentru diagnosticarea cancerului prezintă și derivații chalconici, compuși care prezintă un vast spectru de activități biologice.

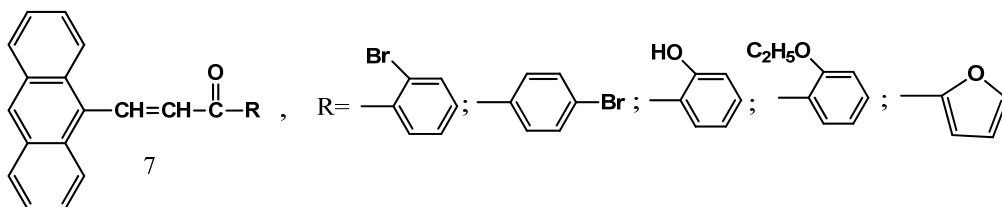
Chalconele cuprind o clasă importantă de produși naturali aparținând familiei flavonoidelor, care prezintă activități biologice ca antiinflamatoare [1], antibacteriene [2], antioxidante [3], antimalarie [4] și anticancer [5]. Datorită faptului că chalconele se găsesc în plante și ușor pot fi sintetizate, această clasă de compuși a trezit un mare interes pentru posibile utilizări terapeutice. Ele sunt, de asemenea, eficiente *in vivo* ca celule proliferante, inhibitori și ca agenți de chimioprevenire [6].

Extinderea domeniului de utilizare a pigmentilor luminiferi în elaborarea laserului color, a tehnicii de fotografiere și de fotocopiare în crearea elementelor de memorie și de înregistrare pentru calculatoare, precum și la marcarea proteinelor în vederea descifrării structurii celulare, a condus la intensificarea cercetărilor în domeniul chalconelor fluorescente [7,8].

Investigațiile literare [9] indică o modalitate de obținere a derivaților chalconici de tipul 3-(antracene-9-il)-1-fenilprop-2-en-1-onelor (1-6) conform schemei:



Chalconele **1-6** au fost obținute prin reacțiile de condensare în mediul bazic a 1-(antracen-9-il)etanonei cu diferite benzaldehide substituite. Compușii obținuți sunt folosiți pentru sinteza unor sulfonamide – compuși care posedă diferite proprietăți farmacologice mai avansate comparativ cu produșii **1-6**. Se cunosc o serie de derivați ai 3-(antracen-9-il)-1-fenilprop-2-en-1-onei cu structura E și Z:



Partea experimentală

1. Reactivi și metode de cercetare

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost de puritate analitică, procurați de la firma „Aldrich”. Structura produșilor a fost demonstrată cu ajutorul spectroscopiei de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) ^1H și ^{13}C efectuată la temperatura camerei utilizând spectrometrul Bruker DRX-400. Toate datele (^1H , ^{13}C) sunt prezentate în ppm față de SiMe_4 . În calitate de solvent a fost utilizat dimetilsulfoxidul, DMSO-d_6 .

2. Procedee de sinteză

Sinteza 3-(4-(3-(antracen-9-il)acriloil)fenil)-1,1-dimetiltioureei (**8**)

La soluția formată din 2,22 g (0,01 mol) 3-(4-acetilfenil)-1,1-dimetiltiouree (b) și 6 ml dimetilformamidă se adaugă la agitare 1 g (0,02 mol) hidroxid de potasiu, dizolvat în 4 ml etanol, apoi se adaugă în rate soluția de 2,47 g (0,012 mol) de antracen-9-carbaldehidă (a) în 4 ml de dimetilformamidă, la temperatura de 5-10°C. Amestecul reactant se lasă la temperatura camerei timp de 24 h, apoi soluția se filtrează de impurități și se acidulează cu acid clorhidric până la mediul slab acid (pH=6). Se obțin 3,4 g (83%) de tioureidochalconă (**8**) cu p.t.=169-170°C. R_f = 0,31 (eluent benzen:acetonă 2:1). Spectrul ^1H -RMN (DMSO-d_6), ppm: 3.03 (s, 6 H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 3.30 (s, 6 H, $\text{SCN}(\text{CH}_3)_2$), 6.74-8.07 (m, 15H, antracen, $-\text{C}_6\text{H}_4$ și $=\text{CH}$), 9.29 (s, 1H, NH). Spectrul ^{13}C -RMN (DMSO-d_6), ppm: 187.82 (C=O), 181.39 (C=S), 152.40 (C-N), 146.60 ($-\text{C}_6\text{H}_4-\underline{\text{CH}}=$), 140.14, 135.67, 131.83, 129.24, 128.79, 131.11, 125.84, 122.62, 41.65, 41.67, 40.66, 40.45.

Obținerea 3-(antracen-9-il)-1-(4-izotiocianatofenil)-prop-2-en-1-onei (**9**)

a) Într-un balon prevăzut cu refrigerent cu reflux continuu se introduce amestecul format din 0,41 g (0,001 mol) 3-(4-(3-(antracen-9-il)acriloil)fenil)-1,1-dimetiltiouree (**8**) și 0,12 g (0,001 mol) de clorură de acetyl. Amestecul se încălzește timp de 6 ore în cloroform la 60°C. Sfârșitul reacției se determină cu ajutorul cromatografiei în strat subțire după consumul tioureidochalconei (**8**). Izotiocianatochalcona (**9**) se extrage cu cloroform și se usucă cu sulfat de sodiu anhidru. După răcire și recristalizare se obțin 0,29 g (80%) de produs (**9**). 3-(Antracen-9-il)-1-(4-izotiocianatofenil)-prop-2-en-1-ona (**9**) prezintă cristale de culoare oranj cu p.t 145-147°C. R_f = 0,5 (eluent benzen:acetonă 3:1).

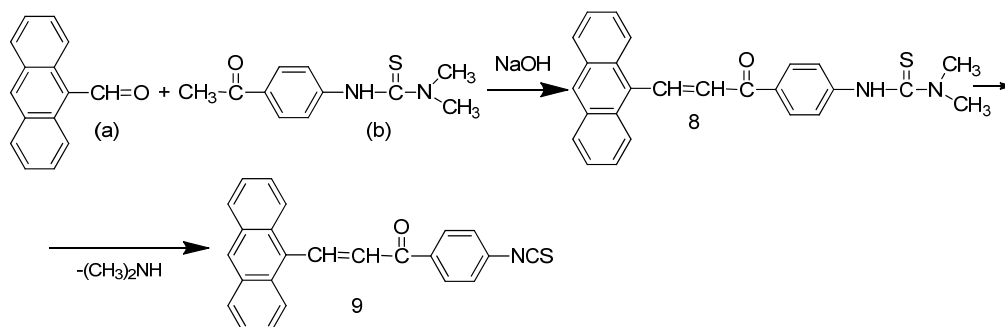
b) Într-un balon prevăzut cu refrigerent cu reflux continuu se introduce amestecul format din 0,41 g (0,001 mol) 3-(4-(3-(antracen-9-il)acriloil)fenil)-1,1-dimetiltiouree (**8**) și 0,10 g (0,001 mol) de anhidridă acetică. Amestecul se încălzește timp de 4 ore în cloroform la 60°C. Sfârșitul reacției se determină cromatografic. După neutralizare, separare și uscare din stratul organic se distilează solvenții, apoi produsul se purifică cromatografic pe coloană cu silicagel. Se obțin 0,34 g izotiocianatochalconă (**9**) cu p.t =146-147°C. Randamentul constituie 94%. Caracteristicile izotiocianatochalconei (**9**) coincid cu produsul final obținut prin metoda a). Spectrul ^1H -NMR (DMSO-d_6), ppm: 8.19-7.39 (9H, antracen), 7.14-7.44 (4H, benzol), 8.09-7.56 (2H, $\text{CH}=\text{CH}$). Spectrul ^{13}C NMR (DMSO-d_6), ppm: 180.2 (C=O), 176.92 (C=S), 145.4 ($\underline{\text{CH}}=\text{CH}$), 137.8 (Ar-NCS), 137.3 (Ar-C=O), 121 ($\text{CH}=\underline{\text{CH}}$), 133.4, 131.2, 128.8, 125.9, 121.5.

Rezultate și discuții

Investigațiile recente redau o amplă informație despre derivații chalconici ce manifestă proprietăți fluorescente [11]. S-a constatat că proprietățile fluorescente ale unor chalcone pot fi influențate de poziția diferiților substituenți din inelul benzenic. Este cunoscut faptul că grupările donore de electroni și sistemele π -conjugate sporesc proprietățile fluorescente ale derivaților chalconici [12].

Studiul de față a fost axat pe influența sistemului π -conjugat existent în fragmentul antracenic asupra proprietăților fluorescente ale derivaților chalconici sintetizați.

Izotiociantochalconele fluorescente și metodele de obținere a lor au prezentat interes, deoarece acestea sunt cercetate insuficient [13,14]. Dawei Huang și colaboratorii săi propun sinteza unor derivați chalconici ai antracen-9-carbaldehidei care posedă proprietăți fluorescente [15]. Într-o varietate de structuri produse vizate, prin introducerea unor substituenți în inelul aromatic, potențial responsabili de activitatea luminiferă, prin cercetările de față au fost optimizate unele metode de obținere a chalconelor cu grupe NHCS sau NCS, pornind de la antracen-9-carbaldehidă (a) după următoarea schemă:



Condensarea aldehidei (a) cu acetofenonă (b) a fost realizată variind condițiile de sinteză. Cercetările selective au demonstrat că varianta cea mai favorabilă este metoda cu cataliză bazică. Astfel, la tratarea antracen-9-carbaldehidei (a) s-a obținut propenona aromatică cu grupări –NHCSN(CH₃)₂ (8), care la tratare termică sau în prezență de agenți cu caracter acid ((CH₃CO)₂O, CH₃COCl) elimină dimetilamină, transformându-se în izotiocianatopropenone (9) cu randamente respective de 83-94%.

Pentru 3-(antracen-9-il)-1-(4-izotiocianatofenil)-prop-2-en-1-ona (4) au fost testate proprietățile fluorescente. S-a demonstrat că izotiociantochalcona obținută manifestă proprietăți fluorescente. De menționat că compusul dat deplasează spectrul de luminescență în domeniul roșu ($\lambda=600-630$ nm) grație prezenței grupelor NCS și CH=CH [16].

Concluzii

În prezenta lucrare a fost sintetizată 3-(antracen-9-il)-1-(4-izotiocianatofenil)-prop-2-en-1-ona prin metode noi, randamentul chalconei atingând 83 și, respectiv, 94%. Puritatea și structura compușilor obținuți au fost demonstrate prin metoda cromatografică, precum și prin spectrele RMN ¹H și ¹³C.

Referințe:

- CHENG, J.H. Synthesis and cytotoxic, anti-inflammatory, and anti-oxidant activities of 2',5'-dialkoxychalcones as cancer chemopreventive agents. In: *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, no.16, p.7270-7276.
- CHIKHALIA, K.H. Design, synthesis and evaluation of novel quinolyl chalcones as antibacterial agents. In: *Arkivoc*, 2008, no.13, p.189-197.
- ZHAN, C. Protective effects of isoliquiritigenin in transient middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia in rats. In: *Pharmacol. Res.*, 2006, no.53, p.303-309.
- MEI-LIN, Go. Antiplasmodial Chalcones Inhibit Sorbitol-Induced Hemolysis of Plasmodium Falciparum-Infected Erythrocytes. In: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, no.48(9), p.3241-3245.
- KAETHIKEYAN, C. Advances in chalcones with anticancer activities. In: *Recent Pat. Anticancer Drug Discov.*, 2015, no.10(1), p.97-115.
- KONENI, V.S., ABDHESH, K. Synthesis and in vitro evaluation of novel coumarin–chalcone hybrids as potential anticancer agents. In: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, no.20, p.7205-7211.
- BOSCORNEA, C., TOMAS, S., HINESCU, L.G., TĂRĂBĂȘANU, C. *Semiconducting Polymers based on Tetraizoindole*, vol. Congr. AMPT-99. Dublin, 1999.
- SAMY, A.H. et al. Photophysical properties laser activity and photoreactivity of heteroaril chalcone. In: *Opt. Laser Tech.*, 2008, no.40, p.528-537.
- AMERA, M.A.R. Synthesis of Some New Heterocyclic Compounds Using Phase Transfer Catalysis Technique (PTC). In: *Raf. Jour. Sci.*, 2008, vol.19, no.1, p.9-17.
- XU, Z., BAI, G., DONG, C. *Spectrochim. Acta. Part A*, 2005, no.62, p.987-990.
- LEE Sung Chan, KANG Nam Young, PARK Sung Jin, YUN Seong Wook. Development of Fluorescent Chalcone Library and its Application in the Discovery of a Mouse Embryonic Stem Cell Probe. In: *Chemical Communications*, 2012, no.48, p.6681-6683.

12. SUWUNWONG, Th., CHANTRAPROMMA, S. et al. Influence of thiomethoxy-substituted positions on fluorescence of heteroaryl chalcones derivatives. In: *Chemical Papers*, 2011, no.65 (6), p.890-897.
13. DRUZILLA, M. and KRISTIAN, P. Isothiocyanates and their synthetic producers. VII. The synthesis, infrared and ultraviolet absorption spectra of 4-substituted 3'- and 4'-isothiocyanatochalcones. In: *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1970, no.35, p.417-429.
14. EL-NAHASS, M.N., FAYED, T.A. Chalcone isothiocyanate-mesoporous silicates: Selective anchoring and toxic metal ions detection. In: *Sens. Act. B: Chem.*, 2015, no.210, p.56-68.
15. DAWEI, H., ZHUPING, G. et al. A facile fluorescent probe based on anthraldehyde for trace Fe(III) ion determination in neutral aqueous solution. In: *Anal. Methods*, 2015, no.7, p.353-358.
16. VERLAN, V., POPUȘOI, A., BARBĂ, N. Photosensible nanocomposites PEPC/ANA-CH. Preparation technique and some optical properties. In: *Moldavian Journal of the Physical Sciences*, 2012, vol.V(II)4, p.346-353.

Prezentat la 10.10.2016

CZU: 547.497: 616

SINTEZA UNOR TIOSEMICARBAZONE ÎN BAZA N-{4-[(HIDRAZINILCARBONOTIOIL)AMINO]FENIL}ACETAMIDEI

Roman RUSNAC, Anna RUSNAC,
Olga GARBUZ, Nicanor BARBĂ, Aurelian GULEA

Universitatea de Stat din Moldova

În articol sunt descrise metodele de sinteză a șase compuși organici, dintre care trei nu sunt cunoscuți în literatura de specialitate. Structura compușilor a fost determinată cu ajutorul spectroscopiei: RMN ^1H , ^{13}C și IR. A fost studiată activitatea anticancer pe celule HeLa (cancer cervical), unde compusul N-[4-({2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoil)amino}fenil]acetamidă a prezentat cea mai mare pondere de inhibiție (84%) la concentrația de 100 $\mu\text{M/L}$.

Cuvinte-cheie: tiosemicarbazone, HeLa, activitate anticancer.

SYNTHESIS OF SOME THIOSEMICARBAZONES IN THE BASE OF N-{4-[(HYDRAZINECARBOTHIOYL)AMINO]PHENYL}ACETAMIDE

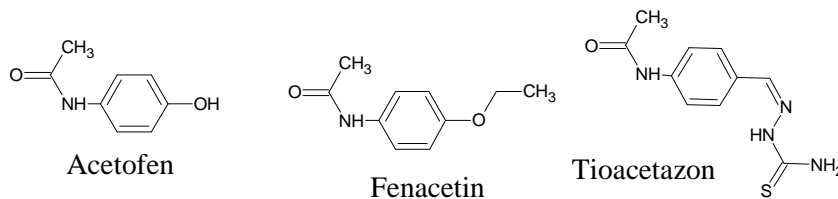
In this paper are described methods of synthesis of six organic compounds, were three of them are unknown. The structure of the compounds was determined by NMR spectroscopy ^1H , ^{13}C and IR spectra. Anticancer activity was studied using cervical cancer cells HeLa, where the compound N-[4-({2-[1-(pyridine-2-yl)ethylidene]hidrazincarbotoil)amino}phenyl]acetamide showed the highest inhibition, about 84% at concentration of 100 $\mu\text{M/L}$.

Keywords: thiosemicarbazone, HeLa, anticancer activity.

Introducere

În ultimul timp o atenție sporită se acordă arilizotioceanaților, tioureelor bisubstituite, tiosemicarbazidelor și tiosemicarbazonelor [1-3], precum și compușilor heterociclici cu grupe tioamidice. La unii dintre acești compuși a fost depistat un spectru larg de activități biologice [4-6]. O atenție deosebită se acordă tiosemicarbazonelor, care manifestă o gamă variată de activități biologice, cum ar fi: antimicrobiene, antifungice [7], antimalarice și antibacteriene [8,9], antivirale și antitumorale [10].

Unii derivați ai acetanilidei sunt cunoscuți ca medicamente cu proprietăți analgezice, antiinflamatorii și antipiretice [11]:



Compusul cu un fragment structural comun tioacetazonul, cu conținut de sulf, se utilizează în medicină la combaterea tuberculozei. S-a constatat că introducerea grupei tioamidice (-NH-CS-) în unii compuși organici conduce la noi activități biologice și lărgeste domeniul de utilizare [12-16].

Scopul acestei lucrări constă în modificarea grupei amine în N-(4-aminofenil)acetamidă pentru a obține noi derivați cu grupe tioamidice în diferite forme structurale, dar cu păstrarea fragmentului $\text{CH}_3\text{CONH-C}_6\text{H}_4-$, pentru a elucida dependența activității biologice de structura compusului.

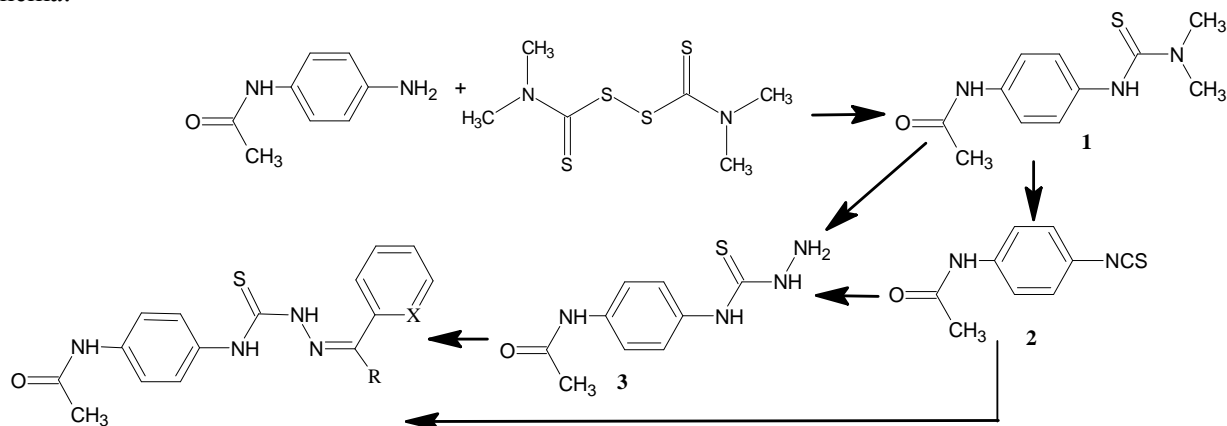
I. Partea experimentală

I.1. Reactivi și metode de cercetare

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost de puritate analitică, procurați de la firma „Aldrich”. Spectrele de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) ^1H și ^{13}C au fost înregistrate la temperatura camerei utilizând spectrometrul Bruker DRX-400. Spectrele IR au fost înregistrate la spectrometrul Bruker ALPHA, $4000-400\text{ cm}^{-1}$. Deplasările chimice sunt măsurate în ppm față de tetrametilsilan (TMS). În calitate de solvent a fost utilizat DMSO- d_6 .

I.2. Metode de sinteză

N-{4-[(Dimetilcarbamotioil)amino]fenil}acetamida (1) și derivații ei au fost obținuți după următoarea schemă:



4(R=H, X=N); 5(R=CH₃, X=N); 6(R=H, X=COH)

Amestecul alcătuit din 3.0 g (20 mmol) *N*-(4-aminofenil)acetamidă, 2.4 g (10 mmol) disulfură de tetrametiluram (DTMT) și 5 mL de dimetilformamidă (DMF) se încălzește timp de o oră la temperatura de 100°C, apoi se distilează solventul la presiune redusă. Restul organic se refluxează 5 minute cu 25 mL de benzen, apoi se răcește la temperatura de 25°C. Sulfurul rămâne în soluție, iar solidul se recrystalizează din butanol. Se obțin: 4.40 g (93%), $R_f = 0.55$ (benzen-izopropanol 3:1), p.t. = 185-186°C, cristale aceforme incolore, corespunde cu datele din literatură [17].

IR (ν_{max} cm^{-1}): $\nu(C=S)$ 1335.8; $\nu(C=O)$ 1671.0; $\nu(NH)$ 3256.1. **RMN** (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz: 2.03, s, 3H(CH₃CO); 3.26, s, 6H{(CH₃)₂N}; 7.16; 7.18; 7.47; 7.49, m, 4H (H-Aril); 8.93, s, 1H {HNC(S)}; 9.91, s, 1H {HNC(O)}. **RMN** (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz: 24.4, (CH₃CO); 41.2, {N(CH₃)₂}; 119.0; 126.9; 136.5; 136.6 (fenil); 168.5, (C=O); 181.8, (C=S).

N-(4-Izotiocianatofenil)acetamida (2)

a) Amestecul cu un conținut de 0.71 g (3 mmol) *N*-{4-[(dimetilcarbamotioil)amino]fenil}-acetamidă (1), 10 mL dioxan și 0.14 g (3.8 mmol) clorură de hidrogen se încălzește într-o fiolă închisă timp de o oră la temperatura de □ 100°C. În fiolă se observă depunerea clorhidratului de *N*-metilmetanamină insolubil în dioxan. După răcire, fiola se deschide, se decantează soluția, precipitatul se spală cu dioxan fierbinte, apoi din soluțiile unite se distilează solventul. Se obțin: 0.52 g (90 %) produs 2, care se recrystalizează din etilacetat; p.t.=193-195°C, cristale aceforme de culoare albă mată; corespunde cu datele din literatură [17].

b) Amestecul cu un conținut de 0.71 g (3 mmol) *N*-{4-[(dimetilcarbamotioil)-amino]fenil}acetamidă (1), 0.31 g (3 mmol) anhidridă acetică și 3 mL dioxan se încălzește timp de o oră la temperatura de □ 100°C. În continuare se distilează o parte din dioxan, iar restul se diluează cu apă și se răcește. Precipitatul se filtrează și se recrystalizează din etilacetat. Se obțin: 0.55 g (95%), $R_f = 0.36$ (benzen-etilacetat 1:2), p.t. = 193-195°C, cristale aceforme de culoare albă mată.

IR (ν_{max} cm^{-1}): $\nu(NCS)$ 2082.7; $\nu(C=O)$ 1663.4; $\nu(NH)$ 3116.5, 3185.1, 3249.2, 3295.3; **RMN** (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz : 2.05, s, 3H(CH₃CO); 7.35; 7.37; 7.62; 7.65, m, 4H (H-Aril); 10.17, s, 1H {HNC(O)}; **RMN** (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz: 24.5, (CH₃CO); 120.1; 124.5; 126.9; 132.9, (fenil); 169.1, (C=O).

N-{4-[(Hidrazinilcarbonotioil)amino]fenil}acetamida (3)

a) Amestecul cu un conținut de 0.95 g (4 mmol) *N*-{4-[(dimetilcarbamotioil)amino]fenil}-acetamidă (1), 0.60 g (12 mmol) hidrat de hidrazină și 5 mL de dioxan se încălzește la temperatura de 90-95°C timp de două ore, apoi se răcește la temperatura camerei. În continuare se diluează cu 5 mL de eter dietilic și se lasă peste noapte în frigider. Produsul solid se filtrează și se recrystalizează din etanol. Se obțin: 0.77 g (86%), $R_f = 0.65$ (etilacetat), p.t.=195-196°C, cristale aceforme de culoare galben pal; corespunde cu datele din literatură [17].

b) În amestecul format din 0.25 g (5 mmol) hidrat de hidrazină și 3 mL benzen se picură, sub agitare, 0.96 g (5 mmol) *N*-(4-izotiocianatofenil)acetamidă (2) dizolvată în 10 mL de benzen și se menține la temperatura

de 20-25°C, timp de o oră. Sedimentul se filtrează și se recrystalizează din etanol. Se obțin: 1.06 g (95 %), p.t.= 195-196°C, cristale aceforme de culoare galbenă pal, $R_f=0.65$ (etilacetat). **IR** (ν_{max} cm^{-1}): $\nu(C=S)$ 1320.3; $\nu(C=O)$ 1655.3; $\nu(NH)$ 3201.1, 3245.5; $\nu(NH_2)$ 1618.6;

RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz: 2.03, s, 3H(CH₃CO); 4.75, s, 2H (NH₂); 7.48, s, 4H (fenil); 9.05, s, 1H {HNC(S)}; 9.91, s, 1H {HNC(O)}; **RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz:** 24.4, (CH₃CO); 119.2; 124.7; 124.8; 134.8, (fenil); 168.6, (C=O); 179.9, (C=S).

N-[4-([2-(Piridin-2-ilmetilidene)hidrazinil]carbonotioil)amino]fenil]acetamida (4)

Amestecul format din 0.45 g (2 mmol) *N*-{4-[(hidrazinilcarbonotioil)amino]fenil}acetamidă (3), 0.22 g (2.1 mmol) piridin-2-carbaldehidă, 2 mL etanol și trei picături de acid acetic glacial se refluxează timp de o oră, apoi se răcește. Cristalele căzute se filtrează și se recrystalizează din etanol. Se obțin: 0.53 g (84 %), $R_f=0.35$ (etilacetat-benzen 2:1), p.t. = 219-220°C, cristale aceforme incolore. **IR** (ν_{max} cm^{-1}): $\nu(C=S)$ 1370.6; $\nu(C=O)$ 1660.1; $\nu(NH)$ 3296.8; $\nu(C=N)$ 1584.2; **RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz:** 2.06, s, 3H(CH₃CO); 7.39; 7.39; 7.40; 7.41 m, 4H (fenil); 8.42; 8.44; 8.57; 8.59, m, 4H (piridin); 10.01, s, 1H {HNC(S)}; 10.22, s, 1H {HNC(O)}; 12.00, s, 1H (NH-N=); **RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz:** 24.4, (CH₃CO); 119.1; 124.6; 134.3; 137.3; 149.8; 150.1, (fenil); 121.1; 127.0; 136.9; 143.3; 153.6, (piridin); 126.2 (azometinic); 168.7, (C=O); 177.0, (C=S).

N-{4-([2-[1-(Piridin-2-il)etilidene]hidrazinil]carbonotioil)amino]fenil}acetamida (5)

a) Amestecul format din 0.45 g (2 mmol) *N*-{4-[(hidrazinilcarbonotioil)amino]fenil}-acetamidă (3), 0.25 g (2.1 mmol) 1-(piridin-2-il)etanonă, 2 mL etanol și trei picături de acid acetic glacial se refluxează timp de 5 ore, apoi se răcește. Cristalele căzute se filtrează și se recrystalizează din etanol. Se obțin: 0.56 g (86%), p.t. = 188-190°C, cristale aceforme de culoare galbenă pal.

b) Amestecul format din 0.96 g (5 mmol) *N*-(4-izotiocianatofenil)acetamidă (2), 0.68 g (5 mmol) 2-[1-hidrazinilidenetil]piridină și 15 mL de THF se agită la temperatura de 50°C, timp de 2 ore. Se distilează solventul, apoi solidul se recrystalizează din etanol. Se obțin: 1.50 g (92%), $R_f=0.5$ (etilacetat-benzen 2:1), p.t. = 188-190°C, cristale aceforme de culoare galbenă pal. **IR** (ν_{max} cm^{-1}): $\nu(C=S)$ 1361.4; $\nu(C=O)$ 1660.9; $\nu(NH)$ 3270.3; $\nu(C=N)$ 1579.3; **RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz:** 2.05, s, 3H(CH₃CO); 2.51, s, 3H (CH₃C=N); 7.41; 7.42; 7.56; 7.58, m, 4H (fenil); 8.52; 8.54; 8.59; 8.60, m, 4H (piridin); 10.00, s, 1H {HNC(S)}; 10.14, s, 1H {HNC(O)}; 10.60, s, 1H (NH-N=); **RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz:** 12.9, (CH₃C=N); 24.4, (CH₃CO); 119.1; 126.1; 132.6; 134.5; 137.4; 144.8 (fenil); 148.9, (azometinic) 121.7; 127.1; 136.9; 149.5; 154.9, (piridin); 168.7, (C=O); 177.8, (C=S).

N-[4-([2-(2-Hidroxibenziliden)hidrazinil]carbonotioil)amino]fenil]acetamida (6)

a) Amestecul format din 0.45 g (2 mmol) *N*-{4-[(hidrazinilcarbonotioil)amino]fenil}-acetamidă (3), 0.26 g (2.1 mmol) 2-hidroxibenzaldehidă și 2 mL etanol se refluxează timp de 2 ore, apoi se răcește. Produsul cristalin se filtrează și se recrystalizează din etanol. Se obțin: 0.53 g (81%), p.t. = 208-210°C, cristale aceforme de culoare albă mată.

b) Amestecul format din 0.96 g (5 mmol) *N*-(4-izotiocianatofenil)acetamidă (2), 0.68 g (5 mmol) 2-[hidrazinilidenetil]fenol și 15 mL etilacetat se agită la temperatura de 60-65°C timp de 1,5 ore. Se distilează solventul, apoi solidul se recrystalizează din etanol. Se obțin: 1.48 g (90%), $R_f=0.85$ (izopropanol-metanol 2:1); p.t.= 208-210°C, cristale aceforme de culoare albă mată. **IR** (ν_{max} cm^{-1}): $\nu(C=S)$ 1370.6; $\nu(C=O)$ 1649.1; $\nu(NH)$ 3125.2; $\nu(C=N)$ 1599.7; $\nu(OH)_{as}$ 3234.7; **RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) 1H , 400 MHz:** 2.05, s, 3H(CH₃CO); 6.81; 6.83; 7.21; 7.22 m, 4H (fenil); 7.41; 7.44; 7.53; 7.55 m, 4H (hidroxifinil); 8.47, s, 1H (OH); 9.98, s, 1H {HNC(S)}; 10.04, s, 1H {HNC(O)}; 11.70, s, 1H (NH-N=); **RMN (DMSO- d_6) δ (ppm) ^{13}C 100 MHz:** 24.4, (CH₃CO); 116.5; 119.1; 120.7; 127.5; 131.8; 137.0, (fenil); 126.2 (azometinic); 119.7; 134.6; 140.5; 140.5; 140.5; 157.0, (hidroxifinil); 168.8, (C=O); 176.3, (C=S).

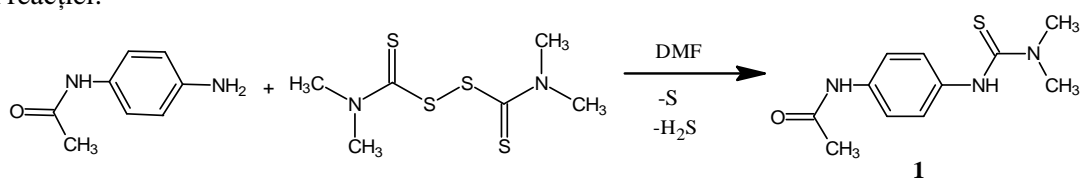
I.3. Metoda de cercetare a activității antiproliferative

Celule de cancer cervical HeLa, de cancer muscular RD și celule „normale” MDCK au fost cultivate în formă de monostraturi în mediul DMEM cu conținut înalt de glucoză, L-glutamină, suplimentat cu (V 7.5%) 0.2 %v/v, soluție tampon HEPES (acidul N-2-hidroxiethylpiperazin-N'-2-etansulfonic) 20 mM, antibiotic: penicilină-streptomicină (concentrația finală de 100 U/mL penicilină și 100 μ g/mL sulfat de streptomicină) și suplimentat cu ser fetal bovin 10%v/v în condiții de cultură (2% CO₂, în atmosferă de 78% umiditate și

temperatura de 37°C). Celulele au fost tratate cu acidul tripsin etilendiaminotetraacetic (tripsină-EDTA) 0.05% și numărate sub un microscop inversat (OLYMPUS). Testul de proliferare celulară a fost realizat folosind resazurin (sarea de sodiu 7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-onă-10-oxid), care permite măsurarea numărului de celule viabile [18]. Celulele de cancer pancreatic BxPC-3 au fost cultivate în mediu RPMI 1640. Compușii studiați au fost dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO) cu concentrația de 10 mM. Compușii studiați și doxorubicina au fost diluați, cu medii de cultură; la fiecare s-a adăugat godeu și au fost incubați timp de 24 de ore. Apoi la fiecare probă se adaugă 20 μL soluție de resazurin și se incubează timp de 4 ore. Ulterior, absorbanta a fost înregistrată la 570 nm și 600 nm cu filtru. Datele au fost prelucrate de către aparatul hibrid imagistic (Synergy H1, BioTek). Rezultatele screeningului permit identificarea substanțelor care inhibă proliferarea celulelor canceroase față de următoarele linii: HeLa (cancer cervical); BxPC-3 (cancer pancreatic); RD (cancer muscular). Pentru a evalua citotoxicitatea substanțelor, am folosit linia de celule „normale” MDCK (celule epiteliale renale de câine).

Rezultate și discuții

Compusul *N*-{4-[(dimetilcarbamotiol)amino]fenil}acetamida (**1**) este cunoscut [17]. Acesta a fost obținut la încălzirea *N*-(4-aminofenil)acetamidei în dimetilformamidă (DMF) cu disulfura de tetrametiltiuram (DTMT), conform reacției:



Prođușii de reacție se tratează cu acid clorhidric concentrat, în care se dizolvă acetamida **1**, iar sulful se izolează prin filtrare; la neutralizarea soluției se obține acetamida **1** (87%). În soluția apoasă a fost depistat H₂N-C₆H₄-NHCSN(CH₃)₂ (3-(4-aminofenil)-1,1-dimetiltioureă).

Pentru perfecționarea metodei am exclus utilizarea acidului clorhidric concentrat care favorizează parțial hidroliza pe grupa CH₃CONH-. Purificarea acetamidei **1** de sulf este mai eficientă dacă la sfârșitul reacției se aplică distilarea solventului și extragerea sulfului din amestec cu benzen; randamentul constituie 93%.

Majoritatea 1,1-dimetil-3-ariltioureelor [12] la refluxare în xilen timp de 8 ore formează arilizotioceanați cu randamente de 70-95%. Reacția este reversibilă și necesită eliminarea dimetilaminei din masa de reacție. S-a constatat că în condiții similare acetamida **1** nu reacționează, probabil, din cauza legăturilor de hidrogen mai puternice între substrat și dimetilamină. Folosirea unor reactanți cu caracter acid (clorură de hidrogen, anhidridă acetică, clorură de acetil) capabili să capteze dimetilamina permite efectuarea procesului în benzen la reflux. La trecerea unui curent de clorură de hidrogen prin soluția de 1,1-dimetil-3-feniltioureă [14] timp de o oră randamentul fenilizotioceanatului atinge 94%. În cazul acetamidei **1**, formarea *N*-(4-izotiocianatofenil)acetamidei (**2**) decurge timp de 8 ore [17]. Pentru utilizarea mai eficientă a clorurii de hidrogen am efectuat această reacție în dioxan într-o fiolă închisă, cu o cantitate suficientă de HCl. După 3 ore de încălzire acetamida **2** a fost izolată cu un randament de 90%.

Este cunoscut faptul că la încălzirea 1,1-dimetil-3-ariltioureelor cu hidrat de hidrazină se formează *N*-arilhidrazincarbotioamide [13]. Cele mai bune rezultate se obțin la efectuarea sintezei în benzen sau toluen la reflux (timp de 1-2 ore) la un raport molar al reagenților de 1:1.0-1.2; se menționează că acetamida **1** în condiții similare nu reacționează cu hidratul de hidrazină.

Cercetările au demonstrat că sinteza poate fi efectuată în dioxan la un raport molar al reagenților 1:4; randamentul *N*-{4-[(hidrazinilcarbonotioil)amino]fenil}acetamidei (**3**) atinge 86%.

Concluzii

1) Au fost sintetizați șase compuși organici:

N-{4-[(dimetilcarbamotioil)amino]fenil}acetamida (**1**);

N-(4-izotiocianatofenil)acetamida (**2**);

N-{4-[(hidrazinilcarbonotioil)amino]fenil}acetamida (**3**);

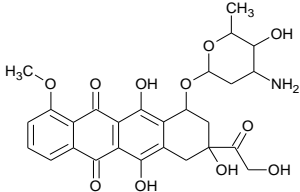
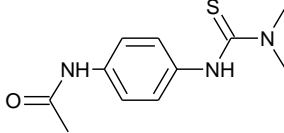
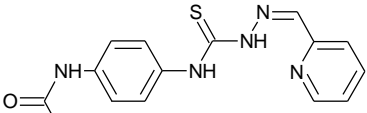
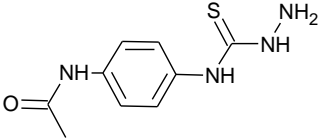
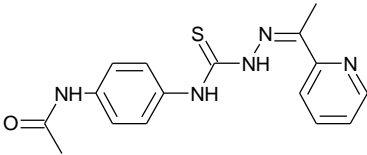
N-[4-({2-(piridin-2-ilmetilidene)hidrazinil}carbonotioil)amino]fenil}acetamida (**4**);

N-{4-[(2-[1-(piridin-2-il)etilidene]hidrazinil}carbonotioil)amino]fenil}acetamida (**5**);

N-[4-({2-(2-hidroxibenziliden)hidrazinil}carbonotioil)amino]fenil}acetamida (**6**),

Tabel

Proprietățile antiproliferative ale substanțelor 1,3,4,5 asupra celulelor HeLa, MDCK, BxPc-3, RD

| Codul | Formula | Mr, g/mol | μM/L | HeLa | | | MDCK | | | BxPc-3 | | | RD | | |
|-------|---|-----------|------|----------|------|--------------------------|----------|-----|--------------------------|----------|------|--------------------------|----------|------|--------------------------|
| | | | | Inh. (%) | SD | IC ₅₀ (uM)±SD | Inh. (%) | SD | IC ₅₀ (uM)±SD | Inh. (%) | SD | IC ₅₀ (uM)±SD | Inh. (%) | SD | IC ₅₀ (uM)±SD |
| DOXO |  | 543,5 | 100 | 91,1 | 5,3 | 2,76±1,7 | 61,9 | 5,6 | 1,48±0,4 | 77,3 | 1,2 | 3,99±0,7 | 77,4 | 6,4 | 1,31±0,8 |
| | | | 10 | 58,3 | 6,5 | | 81,4 | 1,6 | | 62,4 | 5,6 | | 63,9 | 6,9 | |
| | | | 1 | 40,6 | 4,5 | | 61,6 | 1,4 | | 47,1 | 6,9 | | 46,4 | 1,6 | |
| | | | 0,1 | 17,6 | 6,2 | | 2,6 | 1,6 | | -12,8 | 13,0 | | 34,2 | 2,0 | |
| 1 |  | 237 | 100 | -5,5 | 9,4 | — | 14,8 | 8,3 | — | | | | 14,4 | 3,4 | — |
| | | | 10 | -4,9 | 6,1 | | -13,3 | 3,6 | | 5,8 | 0,5 | — | 2,4 | 6,5 | |
| | | | 1 | -0,5 | 4,7 | | -22,4 | 9,1 | | 2,9 | 0,8 | | -7,0 | 9,1 | |
| | | | 0,1 | | | | -20,3 | 6,5 | | 4,9 | 5,0 | | -1,8 | 4,0 | |
| 2 |  | 313 | 100 | 15,6 | 5,2 | — | 33,7 | 1,0 | — | | | | 28,4 | 3,4 | — |
| | | | 10 | 4,5 | 2,7 | | -11,1 | 7,8 | | -11,7 | 7,3 | — | 9,1 | 0,1 | |
| | | | 1 | -4,9 | 4,3 | | -4,7 | 2,9 | | 1,3 | 9,4 | | 11,8 | 0,6 | |
| | | | 0,1 | 8,4 | 1,1 | | -3,2 | 2,2 | | -4,0 | 5,1 | | -5,7 | 1,8 | |
| 3 |  | 224 | 100 | 7,6 | 0,5 | — | 0,4 | 3,2 | — | | | | -8,9 | 0,1 | — |
| | | | 10 | 5,5 | 7,5 | | -0,4 | 4,8 | | -10,0 | 4,4 | — | -8,0 | 4,8 | |
| | | | 1 | 11,6 | 2,2 | | -14,4 | 0,1 | | -13,9 | 2,1 | | -4,5 | 0,7 | |
| | | | 0,1 | 14,0 | 5,7 | | -2,4 | 2,2 | | -12,8 | 7,2 | | 12,5 | 1,6 | |
| 4 |  | 327 | 100 | 84,0 | 6,2 | 33,62±1,2 | 93,7 | 6,5 | 17,92±0,6 | | | | 103,8 | 0,0 | 11,57±0,9 |
| | | | 10 | 14,4 | 8,3 | | 29,3 | 7,3 | | 4,7 | 5,3 | — | 27,4 | 9,6 | |
| | | | 1 | -16,7 | 6,7 | | 12,4 | 1,3 | | -1,4 | 5,3 | | -17,0 | 10,2 | |
| | | | 0,1 | -14,4 | 11,8 | | 9,9 | 8,9 | | -8,1 | 3,2 | | -1,6 | 4,0 | |

1) Derivații **4**, **5**, **6** sintetizați sunt substanțe originale, sinteza acestora nefiind raportată în literatura de specialitate.

2) Structura compușilor **1-6** a fost confirmată cu ajutorul spectroscopiei RMN ^1H , ^{13}C și IR.

3) Toți compușii au fost cercetați *in vitro* față de diferite linii celulare: HeLa (cancer cervical), BxPc-3 (cancer pancreatic) și RD (cancer muscular). De asemenea, a fost evaluată și citotoxicitatea față de o linie celulară MDCK (celule epiteliale renale de câine), cu utilizarea metodici colorimetrice.

4) Compușii **1**, **3**, **4** au o activitate antiproliferativă neînsemnată față de celulele HeLa, BxPc-3, RD.

5) Compusul **5** inhibă puternic creșterea celulelor HeLa și RD, la concentrația de 100 $\mu\text{M/L}$, unde IC_{50} este egal, respectiv, cu 33.62 $\mu\text{M/L}$ și 11.57 $\mu\text{M/L}$.

Referințe:

1. GUȚU, Ia. *Sinteza și studiul unor compuși aromatici cu grupe izotiocian sau tioamidice*: Atoreferat al tezei de doctor habilitat în chimie. Chișinău, 1997.
2. GULEA, A. Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. În: *Akados*, 2013, nr.1(28), p.102-107.
3. SOARES, M.A., LESSA, J.A., MENDES, I.C. et al. N^4 -Phenyl-substituted 2-acetylpyridine thiosemicarbazones: cytotoxicity against human tumor cells, structure-activity relationship studies and investigation on the mechanism of action. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2012, no.20, p.3396-3409.
4. RÎBOKOVSKAIA, Z. *Sinteza și studiul 5-aril-1,3,4-oxadiazol-2-tiolilor și derivaților lor*: Autoreferat al tezei de doctor în chimie. Chișinău, 2013.
5. ОКОЧНЫЙ, Н.С., ГУЦУ, Я.Е., ПЕСТЕРЕВА, Н.С., НЧУЕН, В.В. *N,N*-Диметил- *N'*-(2-метоксифенил)- *N'*-пропионилтиомочевина, обладающая нематоцидной активностью в отношении южной гололовой нематоды и клубневой нематоды картофеля. Авт. свид. СССР 1810337(1993); Б.И. 1993, №25, с.50.
6. МАСАЕВ, F., RÎBOKOVSKAIA, Z. ПОГРЕБНОИ, S. Compuși 1,3,4-oxadiazolici conținând tiouree disubstituită, ce manifestă proprietăți antiturbeculoase. Brevet 4118B1, MD. În: BOPI, 2011, nr.7.
7. VIJEY AANANDHI, M., SHINY, G., VAIDHYALIGAM, V. Synthesis and antimicrobial activities of 1-(5-substituted-2-oxindolin-3-ylidene)-4-(substituted pyridin-2-yl). In: *ARKIVOC*, 2008, no.11, p.187-194.
8. KLAYMAN, D.L., BARTOSEVICH, J.F., GRIFFIN, T.S., MASON, C.J., SCOVILL, J.P. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. A new class of potential antimalarial agents. In: *Journal of Medicinal Chemistry*, 1979, no. 22(7), p.855-62.
9. Sriram Dharmajaran, Yogeewari Perumal, Dhakla Prathiba, Senthikumar Palaniappan. 5-Nitrofuranyl derivatives: synthesis and inhibitory activities against growing and dormant mycobacterium species. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2009, no.19(4), p.1152-1154.
10. PADHYE, S., KAUFFMAN, G.B. Coord. Chem. Rev. 1985, no.63, p.127. b) M. Mohan, M.P. Gupta, L. Chandra, N.K. Jha, *Inorg. Chim. Acta*, 1988, no.151, p. 61.
11. МАШКОВСКИЙ, М. *Лекарственные средства*. Москва, 2011.
12. МОЗОЛИС, В.В., ИОКУБАЙТИТЕ, С.П. Синтез N-замещенных тиомочевин. В: *Успех химии*, 1973, 42, №7, с.1310-1324.
13. MOSS, S.N., SAMBUCA, A.S. *Diuretic thioreas*, Пат. США 3767816 (1973); Р. Ж. Хим. 1974, 18Н343П.
14. ГУЦУ, Я.Е., БОЙ, Л.В., БАРБА, Н.А. *Способ получения N-арил- N'*-(2-гидроксиалкил)-тиомочевин. Авт.свид. СССР N 1768590 (1992) Б. И. 1992, №38, с.78.
15. АБЕЛЕНЦЕВ, В.И., ГОЛЫШИН, Н.М., ИВАНОВА, С.Н. ШВЕЦОВ-ШИЛОВСКИ, Н.И. *Способ усиления активности фунгицида*. Авт.свид. СССР № 229093 (1968).
16. SCHLESINGER, A., KOSMIN, M. *Herbicides*. US pat. 2630381 (1953) C.A. 47: p. 5620d (1953).
17. GUȚU, I., BOI, L.V., INTHAPANIA, P., BARBĂ, N.A. *Synthesis of N*-(acetamidophenyl)-*N'*, *N'*-dimethylthioreas and several their chemical transformations. Zilele Academiciene, ed. a IV-a. Secția Științe Chimice. Timișoara: Mirton, 1995, vol.2, p.241-244.
18. ANOOPKUMAR-DUKIE, S., CAREY, J.B., CONERE, T., O'SULLIVAN, E., VANPELT, F.N., ALLSHIRE, A. Resazurin assay of radiation response in cultured cells. In: *British Journal of Radiology*, 2005, no.78, p.945-947.

Notă: Cercetările au fost efectuate cu susținerea financiară din grantul instituțional 15.817.02.24.F.

Prezentat la 14.09.2016

CZU: 547.791: 577

SINTEZA ȘI CERCETAREA PROPRIETĂȚILOR BIOLOGICE ALE UNOR DERIVAȚI AI 4-AMINO-5-METIL-4H-1,2,4-TRIAZOLULUI-3-TIOL

*Anna RUSNAC, Roman RUSNAC,
Olga GARBUZ, Nicanor BARBĂ, Aurelian GULEA*

Universitatea de Stat din Moldova

În prezenta lucrare a fost realizată sinteza 1,1-dimetil-3-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)tioureei (**5**) și a 1,1-dimetil-3-[3-metil-5-(metilsulfanil)-4H-1,2,4-triazol-4-il]tioureei (**6**), ale căror structuri au fost stabilite cu ajutorul spectrelor ¹H-RMN și ¹³C-RMN. Pe celule de cancer cervical substanțele iodhidrat de 3-metil-5-(metilsulfanil)-4H-1,2,4-triazol-4-amină (**2**) și **6** au demonstrat o activitate ne semnificativă. Disulfura de tetrametiltiuram (DTMT) a demonstrat rezultate antibacteriene bune CMI 0,0007 mg/mL, iar substanțele **6** și **2** au CMI 0,007 mg/mL și, respectiv, 0,06 mg/mL. Tioureea **6** are proprietăți antioxidante IC₅₀ = 29 μM/L aproximativ egale cu ale troloxului.

A fost realizată sinteza N-[4-(3-metil-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]-tiadiazin-6-il)fenil]-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]hidrazincarbotoamiei (**11**) și a bazei Schiff {[3-metil-5-(metilsulfanil)-4H-1,2,4-triazol-4-il]imino}metil]fenol (**3**). La compusul **3** a fost efectuată difracția cu raze X în monocristal.

Cuvinte-cheie: 1,2,4-triazol, antiproliferativ, celule de cancer, bază Schiff, antibacterian.

SYNTHESIS AND STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEW 4-AMINO-5-METHYL-4H-1,2,4-TRIAZOLE-3-THIOL DERIVATIVES

In the present work the synthesis of 1,1-dimethyl-3-(3-methyl-5-sulfanyl-4H-1,2,4-triazol-4-yl)thiourea (**5**) and 1,1-dimethyl-3-[3-methyl-5-(methylsulfanyl)-4H-1,2,4-triazol-4-yl]thiourea (**6**) was carried out. The structures were determined using ¹H; ¹³C-NMR spectra. For cells HeLa of cervical cancer, substances 3-methyl-5-(methylsulfanyl)-4H-1,2,4-triazol-4-aminohydroiodide (**2**) and **6** have demonstrated not pronounced activity. Tetramethylthiuram disulfide (DTMT) showed good antibacterial activity MIC 0.0007 mg/mL, but substances **6** and **2** have MIC 0.007 mg/mL and 0.06 mg/mL respectively. The thiourea **6** has antioxidant properties IC₅₀ = 29 μM/L approximately equal to trolox.

Synthesis of N-[4-(3-methyl-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]-thiadiazin-6-yl)phenyl]-2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]hydrazinecarbothioamide (**11**) and Schiff base: 2-[[3-methyl-5-(methyl-sulfanyl)-4H-1,2,4-triazol-4-yl]imino}methyl]phenol (**3**) was carried out. The compound **3** was studied by conducted single-crystal X-ray diffraction.

Keywords: 1,2,4-triazole, antiproliferative, cancer cells, Schiff base, antibacterial.

Introducere

În ultimul deceniu cercetătorii s-au ocupat cu sinteza sistemelor heterociclice care conțin un număr mare de atomi de azot, deoarece posedă o varietate mare de aplicații, ca de exemplu: propulsoare, explozivi, piro-tehnică și în special chimeoterapie. Astăzi o atenție considerabilă se acordă sintezei derivaților 1,2,4-triazolului care au importanță biologică efectivă, toxicitate scăzută și bune profiluri în domeniul farmacocineticii și farmodinamicii. Studiul literaturii de specialitate arată că derivații 1,2,4-triazolului prezintă o gamă largă de activități biologice, inclusiv: antibacteriene, antifungice, analgezice, antitumorale, antituberculoase, antivirale, anti-cancer și antiproliferative [1-7].

Există mai multe metode de obținere a derivaților 1,2,4-triazolici. Pentru obținerea substanței inițiale 4-amino-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiolului am utilizat următoarea metodă de sinteză: acidul acetic glacial se tratează cu tiocarbhidrazidă la reflux obținându-se produsul cu randament de 91% [8]. Varietatea 4-amino-5-alchil(aril)-4H-1,2,4-triazol-3-tiolilor depinde nu doar de natura acizilor carboxilici, dar și de transformările chimice la care pot participa grupele active NH₂ și SH (individual sau împreună). Un exemplu de transformare chimică pe grupa SH a fost efectuat în [6]. În această lucrare autorii au sintetizat derivați 5-substituiți-3-[5-hidroxi-4-pirone-2-il-metimercapto]-4-amino-1,2,4-triazoli prin substituție nucleofilă dintre 5-hidroxi-2-clorometil-4H-piran-4-onă cu 4-amino-5-alchil(aril)-4H-1,2,4-triazol-3-tiolilor. A fost cercetat efectul lor inhibitor pe ciuperci tirozinazei. Rezultatele au arătat că majoritatea acestor compuși au o activitate inhibitoare semnificativă. Sunt cunoscute și modificări pe grupa NH₂, baze Schiff [2-5]. Acestea se obțin la condensarea 4-amino-5-alchil(aril)-4H-1,2,4-triazol-3-tiolilor cu aldehide aromatice. Unele dintre acestea posedă o activitate antidepresantă bună [2], iar cele cu radicali, R = D-glucoheptonichexitol-1-il, sunt regulatori de creștere la

grâu și ridiche [3]. Sunt cunoscute transformările chimice unde la reacție participă ambele grupe. Iată un exemplu: prin condensarea 4-amino-5-(piridin-3-il)-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiloului cu diferite chalcone au fost obținute 3-pipiridil-1,2,4-triazolo[3,4-*b*]-1,3,4-tiadiazine [7]. Cercetările biologice au demonstrat că compușii testați au proprietăți antibacteriene și antifungice modeste. Compuși triazolici cu grupări *N,N*-dimetiltioureidice nu sunt cunoscuți în literatură.

Sunt cunoscute tiosemicarbazone 2-acetilpiridinei cu proprietăți anticancer [9]. Scopul propus în această lucrare a fost de a introduce nuclee 1,2,4-triazolice în tiosemicarbazona 2-acetilpiridinei pentru a îmbunătăți activitatea anticancer a acestora și a micșora gradul lor de toxicitate, precum și obținerea bazelor Schiff cu derivați ai 1,2,4-triazolului.

I. Partea experimentală

I.2. Reactivi și metode de cercetare

Toți reactivii și solvenții utilizați au fost de puritate analitică, procurați de la firma „Aldrich”. Spectrele de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) ¹H și ¹³C au fost înregistrate la temperatura camerei utilizând spectrometrul Bruker DRX-400. Deplasările chimice sunt prezentate în ppm față de SiMe₄. În calitate de solvent a fost utilizat DMSO-*d*₆.

I.3. Metoda de cercetare a activității antiproliferative

Celule de cancer cervical HeLa și celule „normale” MDCK au fost cultivate în formă de monostraturi în mediul DMEM cu conținut înalt de glucoză, L-glutamină, suplimentat cu (V 7,5%) 0,2%v/v, soluție tampon HEPES (acidul N-2-hidroxiethylpiperazin-N'-2-etansulfonic) 20 mM, antibiotic: penicilină-streptomicină (concentrația finală de 100 U/mL penicilină și 100 μg/mL sulfat de streptomicină) și suplimentat cu ser fetal bovin 10% v/v în condiții de cultură (2% CO₂, în atmosferă 78% umiditate și temperatura de 37°C). Celulele au fost tratate cu acidul tripsin etilendiaminotetraacetic (tripsină-EDTA) 0,05% și numărat sub un microscop inversat (OLYMPUS). Testul de proliferare celulară [10] a fost realizat folosind resazurin (sarea de sodiu 7-hidroxi-3*H*-fenoxazin-3-onă-10-oxid), care permite măsurarea numărului de celule viabile. Compușii studiați au fost dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO) cu concentrația de 10 mM. Compușii studiați și doxorubicina au fost diluați cu medii de cultură; la fiecare s-a adăugat godeu, după care au fost incubati timp de 24 de ore. Apoi la fiecare probă se adaugă 20 μL soluție de resazurin și se incubează timp de 4 ore. Ulterior, absorbanta a fost înregistrată la 570 nm și 600 nm cu filtru. Datele au fost prelucrate de către aparatul hibrid imagistic (Synergy H1, BioTek). Rezultatele screeningului pentru identificarea substanțelor care inhibă proliferarea celulelor canceroase liniei: HeLa (cancer cervical). Pentru a evalua citotoxicitatea substanțelor, am folosit linia de celule „normale” MDCK (celulele epiteliale renale de câine).

I.4. Metoda de cercetare a activității antimicrobiene

Activitatea antimicrobiană a fost determinată în mediul nutritiv lichid [bulion peptonat din carne 2%, pH 7,0] prin metoda diluțiilor succesive. În calitate de cultură de referință în experimentul *in vitro* au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus* (*S.aureus* G+), *Escherichia coli* (*E.coli* G-), *Klebsiella pneumoniae* (*Kl. pneumoniae*), *Candida albicans* (*C. albicans*). Dizolvarea substanței studiate în dimetilsulfoxid, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și a concentrației minime bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard descrisă în [11].

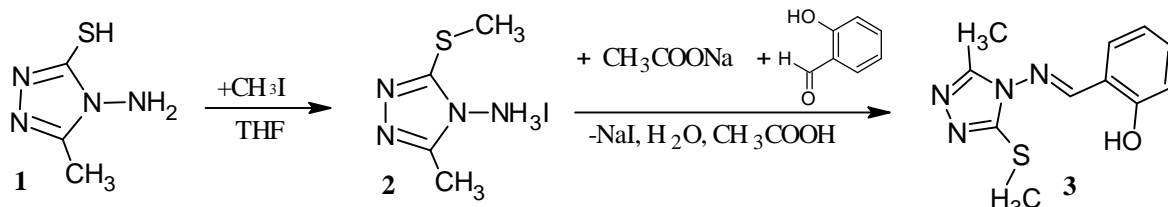
I.5. Metoda de cercetare a activității antioxidante

Pentru obținerea datelor referitoare la activități antioxidante ale tioureei **6** au fost utilizate două metode: ABTS și DPPH. A fost folosită măsurarea spectrofotometrică a densității optice a soluțiilor care conțin radicali liberi - colorați (cation radicalul ABTS (acidul 2,2'-azino-bis-3-ethylbenziazolin-6-sulfonic) și radicalul DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)), la care se adaugă substanțe (doxorubicina, troloxul, tioureea **6**) de diferite concentrații, unde troloxul și doxorubicina sunt utilizați în calitate de martori. În acest fel a fost determinată capacitatea substanțelor ce reacționează cu radicali ABTS și DPPH.

Activitatea antioxidantă prin metoda ABTS a fost evaluată în conformitate cu metoda descrisă de Re și colab. [12]. Activitatea antioxidantă prin metoda DPPH a fost efectuată în conformitate cu metoda descrisă de M.Burits [13].

I.6. Sinteza unor noi derivați ai 4-amino-5-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiolului (**1**) și iodhidrat de 3-metil-5-metilsulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-amină (**2**)

Aminotriazolii **1**, **2** sunt substanțe cunoscute [8,14], iar baza Schiff **3** nu este cunoscută în literatură.



Schema 1. Obținerea 2-[[3-metil-5-(metilsulfanil)-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]imino]metil]fenolului (**3**)

Iodhidrat de 3-metil-5-metilsulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-amină (**2**)

Amestecul format din 1,30 g (0,01 mol) 4-amino-5-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiol, 1,42 g (0,01 mol) iodmetan și 20 mL tetrahidrofuran (THF) se refluxează timp de 3 ore. Din reacție rezultă cristale incolore de iodhidrat **2** insolubile. După răcire produsul se filtrează, se spală cu THF și se usucă. Se obțin 2,54 g (93,5%) de iodhidrat **2**, p.t. 163-164°C, ce corespunde cu cel din literatură [14].

Spectrele RMN:

¹H-RMN, 400 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 2,27 (s, 3H CH₃); 2,52 (s, 3H CH₃-S); 5,83 (s, 2H NH₂). ¹³C-RMN, 100 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 10,17 (-CH₃); 13,42 (-CH₃-S); 152,44 (C-CH₃); 153,70 (C-S-CH₃).

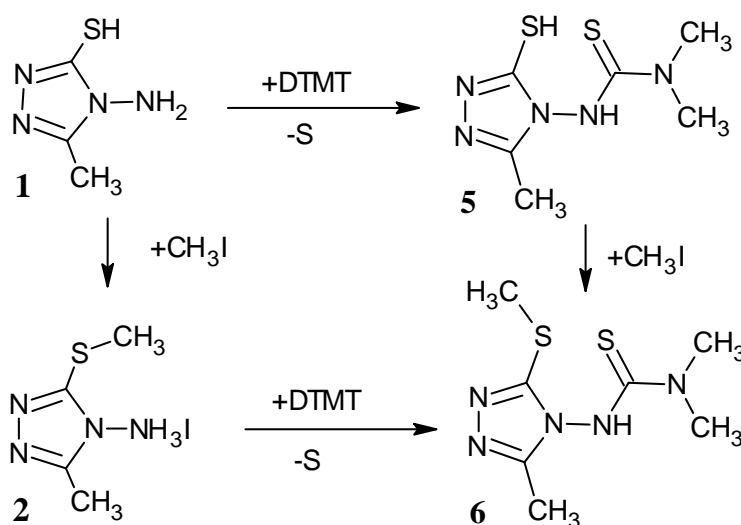
2-[[3-Metil-5-(metilsulfanil)-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]imino]metil]fenol (**3**)

La soluția formată din 1,5 g (0,0055 mol) de iodhidrat de 3-metil-5-metilsulfanil-4*H*-1,2,4-triazol-4-amină (**2**), 0,451 g acetat de sodiu și 3 mL etanol se adaugă 0,7 g (0,0057 mol) de aldehydă salicilică. Amestecul se refluxează timp de 5 ore, apoi se răcește la temperatura camerei. Produsul cristalin se filtrează și se spală cu etanol rece. Se obțin 1,19 g (87%) de produs **3**, cu p.t. 205-208°C. R_f=0,66 (eluent: benzen – etilacetat, 2:1).

Spectrele RMN:

¹H-RMN, 400 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 2,42 (s, 3H CH₃-C); 2,61 (s, 3H CH₃-S); 6,96 (s, H β CH); 6,99 (d, H β CH); 7,01 (t, H γ CH); 7,45 (d, H α CH); 7,85 (s, H CH=N); 10,58 (s, H OH). ¹³C-RMN, 100 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 11,34 (-CH₃); 15,80 (-CH₃-S); 117,18 (C-OH); 118,40 (CH) din Ph; 120,19 (CH) din Ph; 128,03 (-CH=N); 135,10 (CH) din Ph; 147,28 (CH) din Ph; 149,94 (C-CH₃); 158,97 (C-S-CH₃); 161,33 (CH) din Ph.

La încălzirea compușilor **1**, **2** cu disulfura de tetrametiluram (DTMT) în dimetilformamidă (DMF) au fost obținute tioureele **5**, **6** (Schema 2):



Schema 2. Obținerea 1,1-dimetil-3-[3-metil-5-(metilsulfanil)-4*H*-1,2,4-triazol-4-il]tioureei (**6**).

1,1-Dimetil-3-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazot-4-il)tioureea (5)

Amestecul format din 1,3 g (0,01 mol) 4-amino-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (**1**), 2,64 g (0,011 mol) DTMT și 4 mL DMF se încălzește la temperatura de 95-100°C, timp de 8 ore într-un balon înzestrat cu un refrigerent ascendent. Refrigerentul ascendent se înlocuiește cu altul descendent și se distilează solventul la presiune redusă. Restul se tratează sub agitare cu 10 mL soluție 1 M de hidroxid de sodiu, se filtrează sulful, iar filtratul se neutralizează cu acid clorhidric (pH=7). Tioureea **5** se filtrează, se spală cu apă și se usucă. Se obțin 1,8 g (83%) de tiouree **5**, p.t. 234-236°C, $R_f = 0,22$ (eluent: benzen-etilacetat, 1:1).

Spectrele RMN:

$^1\text{H-RMN}$, 400 MHz (d^6 - dmsO) δ , ppm: 2,18 (s, 3H CH_3); 3,30 (s, 6H $(\text{CH}_3)_2\text{N}$); 10,45 (s, 1H NH); 13,51 (s, 1H SH). $^{13}\text{C-RMN}$, 100 MHz (d^6 - dmsO) δ , ppm: 11,20 ($-\text{CH}_3$); 150,88 (C=N); 167,49 (C-S); 182,38 (C=S).

1,1-Dimetil-3-[3-metil-5-(metilsulfanil)-4H-1,2,4-triazol-4-il]tioureea (6)

Amestecul alcătuit din 2,72 g (0,01 mol) iodhidrat de 3-metil-5-metilsulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-amină (**2**), 2,64 g (0,01 mol) DTMT, 0,84 g (0,01 mol) carbonat de sodiu și 5 mL DMF se încălzește cu refrigerent ascendent timp de 8 ore la temperatura de 95-100°C. Amestecul se răcește la temperatura camerei și se filtrează sedimentul, o parte de sulf, apoi din filtrat se distilează solventul la presiune redusă. Solidul se spală cu apă și se usucă. Acesta conține puțin sulf și se recristalizează din toluen. Se obțin 1,32 g (57%) de tiouree **6**, p.t. 94-95°C. $R_f = 0,4$ (eluent: benzen-izopropanol, 1:1).

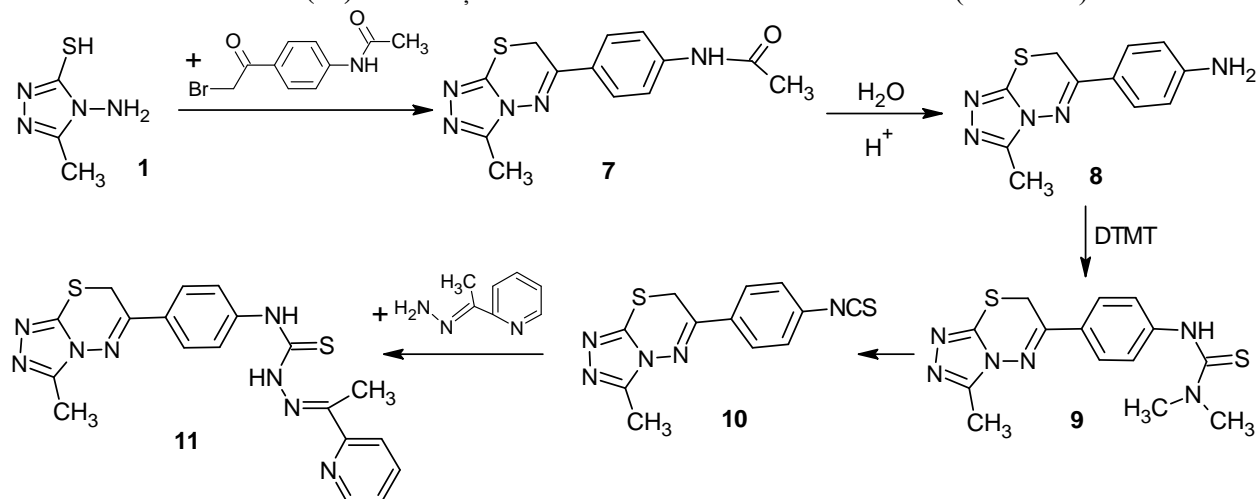
Spectrele RMN:

$^1\text{H-RMN}$, 400 MHz (d^6 - dmsO) δ , ppm: 2,19 (s, 3H CH_3); 2,53 (s, 3H $\text{CH}_3\text{-S}$); 3,29 (s, 6H $(\text{CH}_3)_2$); 10,68 (s, 1H NH). $^{13}\text{C-RMN}$, 100 MHz (d^6 - dmsO) δ , ppm: 10,43 ($-\text{CH}_3$); 15,04 ($-\text{CH}_3\text{-S}$); 152,18 (C- CH_3); 153,30 (C-S- CH_3); 182,02 (C=S).

Interacțiunea 1,1-dimetil-3-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)tioureei (5) cu iod-metanul

Amestecul format din 0,43 g (0,002 mol) tiouree **5**, 0,284 g (0,002 mol) iodmetan și 3 mL THF se încălzește într-o fiolă închisă timp de 3 ore. Solventul se distilează, produsul se tratează cu soluție diluată de tiosulfat de sodiu, se spală cu apă și se usucă. Se obțin 0,28 g (60%) de tioureea **6**, produs identic după punctul de topire, R_f și spectrele $^1\text{H-RMN}$ și $^{13}\text{C-RMN}$ cu tioureea **6**.

N-[4-(3-Metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)-fenil]-2-[1-(piridin-2-il)etiliden] hidrazincarbotioamida (11) a fost obținută conform următoarelor transformări (Schema 3):



Schema 2. Obținerea tiousemicarbazonei **11**.

N-[4-(Bromoacetyl)fenil]acetamida

Se obține prin bromurarea N-(4-acetilfenil)acetamidei analogic metodei cunoscute [15]. În amestecul format din 3,54 g (0,02 mol) de N-(4-acetilfenil)acetamidă, 20 mL de dioxan absolut și 5 mL de THF se picură, sub agitare, 3,2 g (0,02 mol) brom la temperatura de 40°C. Peste o oră amestecul reactant se răcește, produsul cristalin se filtrează, se spală cu dioxan și se usucă. Se obțin 4,62 g (90%) de N-[4-(bromoacetyl)fenil] acetamidă; p.t.=198-200°C, ce corespunde cu cel din literatură [15].

N-[4-(3-Metil-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)fenil]acetamida (7)

Amestecul format din 1,56 g (0,012 mol) 4-amino-5-metil-4H-1,2,4-triazol-3-ol, 3,072 g (0,012 mol) N-[4-(bromoacetil)fenil]acetamidă și 45 mL de THF se încălzește la temperatura de 65°C timp de 2 ore. Sedimentul căzut la răcire se filtrează și se spală cu THF. Se obțin 3,95 g (85%) de produs **7**, cu p.t. = 279-280°C, ce corespunde cu cel din literatură [16].

4-(3-Metil-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)anilina (8)

Amestecul format din 3,86 g (0,01 mol) de N-[4-(3-metil-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)fenil]acetamida (**7**), 6 mL HCl (c) și 20 mL H₂O se încălzește la temperatura de 95°C timp de 3 ore, apoi se neutralizează cu NaHCO₃. Sedimentul se filtrează și se spală cu apă. Se obțin 2,44 g (99,6%) de produs **8**, R_f = 0,6 (eluent: benzen – izopropanol, 2:1), cu p.t. = 227-228°C, ce corespunde cu cel din literatură [16].

Spectrele RMN:

¹H-RMN, 400 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 2,43(s, 3H CH₃-C); 4,20 (t, 2H CH₂-S); 6,00 (s, H NH₂); 6,7 (d, 2H (CH)₂); 7,70 (d, 2H (CH)₂); (const. J = 8.6); ¹³C-RMN, 100 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 10,30 (-CH₃); 22,80(-CH₂); 119,90 (C-C); 113,80((CH)₂); 129,6((CH)₂); 144,50 (C-NH₂); 150,40 (C-S); 153,10 (C-CH₃); 155,03 (C-CH₂).

1,1-Dimetil-3-[4-(3-metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)fenil]tiourea (9)

La 1,47 g (0,006 mol) de 4-(3-metil-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il) anilina (**8**) se adaugă 1,44 g (0,006 mol) de DTMT și 6 mL de DMF. Amestecul se încălzește timp de 8 ore la temperatura de 95°C, solventul se distilează DMF la presiune redusă, iar produsul se tratează de două ori cu câte 12 mL de benzen pentru a izola sulfurul. Se obțin 1,36 g (68%) de tiourea **9**, cu p.t. = 185-188°C, R_f = 0,21 (eluent: benzen – etilacetat, 2:1).

Spectrele RMN:

¹H-RMN, 400 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 2,25 (s, 3H CH₃-C); 2,50 (t, 2H S-CH₂); 3,29 (s, 6H (CH₃)₂); 7,58 (d, 2H (CH)₂); 7,77 (d, 2H (CH)₂); 9,38 (s, H NH). ¹³C-RMN, 100 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 11,86 (-CH₃); 41,63((-CH₃)₂); 46,89 (CH₂-S); 146,55 (C-S); 146,99; 147,08 (C=N) din triazol; 124,00; 125,00; 128,00 (C-C) din Ph; 174,34 (C=S).

6-(4-Izotiocianatofenil)-3-metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazina (10)

La 0,42 g (0,0013 mol) de 1,1-dimetil-3-[4-(3-metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)fenil]tiourea (**9**) în 30 mL de dioxan se adaugă 0,13 g (0,0013 mol) anhidridă acetică. Amestecul se încălzește la temperatura de 95°C, timp de 30 min. Se distilează la vid solventul, iar produsul obținut se purifică cromatografic prin coloană cu silicagel. Se obțin 0,33 g (88%) de produs **10**, cu R_f = 0,68 (eluent: benzen – etilacetat, 2,5:1), p.t. = 200-202°C, ce corespunde cu cel din literatură [16].

N-[4-(3-Metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)fenil]-2-[1-(piridin-2-il)-etiliden]hidrazincarbotioamida (11)

Soluția formată din 0,248 g (0,00086 mol) de 6-(4-izotiocianatofenil)-3-metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazină (**10**), 0,116 g (0,00086 mol) 2-[1-hidrazinilidenetil]piridină și 4 mL benzen se refluxează timp de 30 min.; sedimentul obținut se filtrează și se spală cu benzen. Se obțin 0,16 g (85%) de produs **11**, cu p.t. 177-180°C, R_f = 0,68 (eluent: etilacetat).

Spectrele RMN:

¹H-RMN, 400 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 2,20 (s, 3H CH₃-C) din triazol; 2,42 (s, 3H CH₃-C); 3,6 (t, 2H S-CH₂); 7,79 (d, 2H (CH)₂); 7,86 (d, 2H (CH)₂); 8,43 (d, Hβ-C)piridinil; 8,45 (d, Hβ-C)piridinil; 8,55 (d, Hγ-C)piridinil; 8,56 (d, α-C)piridinil; 10,36 (d, H NH-C); 10,93 (d, HNH-N); ¹³C-RMN, 100 MHz (d⁶ - dmsO) δ, ppm: 174,50 (C=S).

II. Rezultate și discuții**II.1. Sinteza derivaților noi ai 1,2,4-triazolului**

Aminotriazolul **2** sub formă de iodhidrat (Schema 1) se obține în urma reacției dintre iodmetan și aminotriazolul **1** în metanol cu un randament de 37% [14]. La înlocuirea metanolului cu tetrahidrofuran (THF) am obținut aminotriazolul **2** cu un randament de 94%. Transformarea aminotriazolului **2** iodhidrat în 2-[[3-metil-5-(metilsulfanil)-4H-1,2,4-triazol-4-il]imino]metil]-fenol (**3**) –Bază Schiff decurge mai eficient dacă

neutralizarea se face cu acetat de sodiu. În așa caz se elimină acid acetic care catalizează produsul. Acest compus **3** la recristalizare din etanol formează monocristale, care au fost cercetate cu difracția de raze X în monocristal. Rezultatele sunt prezentate în Figura 1:

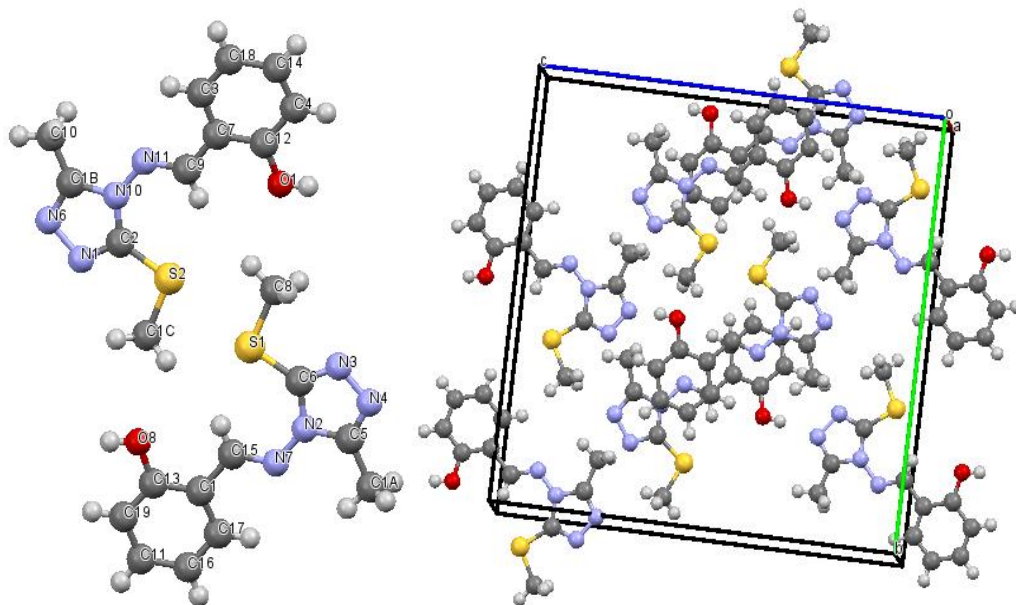


Fig.1. Structura cristalină a compusului **13** și împachetarea în celulă.

A fost cercetată dependența randamentului tioureeilor **5**, **6** (Schema 2) de anumiți factori. S-a constatat că aminotriazolul **1** la încălzire cu DTMT la un raport molar de 1:1,1 timp de 8 ore la temperatura de 95-100°C conduce la un randament de 83% pentru **5**. Aminotriazolul **2** în condiții similare dă un randament de 57% pentru **6**. O așa mare diferență în randamente poate fi explicată prin creșterea dificultăților sterice ce apar la aminotriazolul **2** în reacția cu DTMT, când gruparea SH este înlocuită cu SCH₃.

O anumită influență asupra randamentului tioureeilor **4**, **5**, **6** are modul de izolare a sulfului din mediul de reacție. În [17] sulfurul se izolează prin tratarea produsului de reacție cu acid clorhidric concentrat, în care se dizolvă tioureea **4**. Sulfurul insolubil se filtrează, iar tioureea **4** se obține (67%) prin diluția soluției cu apă. Noi am reușit să obținem tioureea **4** cu un randament de 83% prin recristalizare din amestec de apă și etanol, în care sulfurul este insolubil. Tioureea **5** se dizolvă în soluție de hidroxid de sodiu și sulfurul se izolează prin filtrare. Tioureea **6** se purifică prin extragerea sulfului cu benzen. După distilarea DMF din amestecul reactant produsul rămas se refluxează cu benzen, în care se dizolvă sulfurul. După răcire la temperatura camerei tioureea **6** se filtrează și se recristalizează din apă.

La tratarea tioureeilor **4**, **5**, **6** cu iodmetan se așteaptă formarea S-metilzioureeilor respective [18]. Cercetările acestor reacții au demonstrat că numai tioureea **5** se metilează la grupa SH (Schema 1), iar grupa C=S tioureidică în compușii **5**, **6** rămâne neafectată, probabil din cauza dificultăților sterice.

În seria N¹-aril-N,N-dimetiltioureeilor trisubstituite sunt cunoscute reacții [19,20] cu diferiți agenți nucleofili (hidrat de hidrazină, 2-amino etanol și alții), care decurg în benzen la reflux cu randamente înalte. Tioureele **4**, **5**, **6** cu structuri analoge nu reacționează.

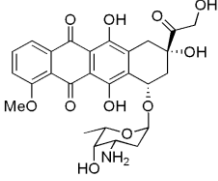
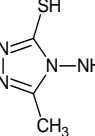
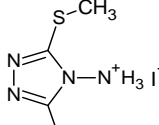
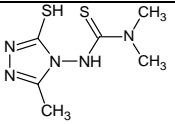
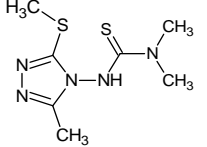
Reacții cu caracter acid (clorura de hidrogen, clorura de acetyl, anhidrida acetică și al.) la încălzire în dioxan sau în THF descompun ușor N¹-aril-N,N-dimetiltioureele cu formarea de arilizotiocianați [21,22]. Cercetările noastre au demonstrat că tioureele **4**, **5**, **6** în condiții similare sunt indiferente față de acești reactanți.

Tioureea **9**, necunoscută în literatură, a fost obținută la interacțiunea aminei **8** cu DTMT. În continuare ea a fost transformată în izotiocianat **10** la tratare cu anhidridă acetică în dioxan; randamentul constituie 88%. Menționăm că tioureele **5**, **6** cu grupele tioureidice NHCSN(CH₃)₂, legate în poziția 4 de nuclee 1,2,4-triazolice, nu formează izotiocianați respectivi. În continuare a fost obținută tiosemicarbazona **11** din izotiocianat **10** și 2-[1-hidraziniliden]piridină la încălzire în benzen, cu un randament de 85%.

II.2. Cercetări biologice

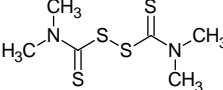
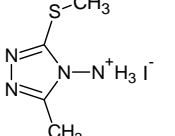
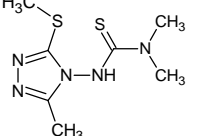
Tabelul 1

Activitatea antiproliferativă a substanțelor 1, 2, 4, 5, 6 pe celule HeLa și MDCK.
Ca substanță pentru comparație este luată Doxorubicina

| Codul | Formula | Mr | Concentrația (μM/L) | HeLa | | MDCK | |
|-------|---|-------|---------------------|----------------|-----------------------|----------------|-----------------------|
| | | | | % de inhibiție | IC ₅₀ μM/L | % de inhibiție | IC ₅₀ μM/L |
| Doxo |  | 543,5 | 10 | 57,4 | 3,1±2 | 58,5 | 4,0±9 |
| | | | 1 | 45,3 | | 41,0 | |
| | | | 0,1 | 19,2 | | -2,3 | |
| | | | 0,01 | 4,3 | | -1,0 | |
| 1 |  | 130,1 | 100 | -1,3 | ≥100±4 | 0,0 | ≥100±3 |
| | | | 10 | -2,0 | | -7,2 | |
| | | | 1 | -2,8 | | -2,1 | |
| | | | 0,1 | 0,7 | | 4,7 | |
| 2 |  | 272,0 | 100 | - | ≥10±6 | -15,0 | ≥100±3 |
| | | | 10 | 14,7 | | -16,0 | |
| | | | 1 | 12,4 | | -9,0 | |
| | | | 0,1 | 8,7 | | -7,0 | |
| 5 |  | 217,3 | 100 | -4,0 | ≥100±8 | -0,7 | ≥100±2 |
| | | | 10 | -2,2 | | -7,7 | |
| | | | 1 | 16,3 | | 1,9 | |
| | | | 0,1 | 22,2 | | 1,9 | |
| 6 |  | 231,3 | 100 | - | ≥10±3 | 3,5 | ≥100±2 |
| | | | 10 | 8,2 | | -8,8 | |
| | | | 1 | 1,3 | | 4,9 | |
| | | | 0,1 | 6,5 | | 8,8 | |
| | | | 0,01 | -5,5 | | - | |

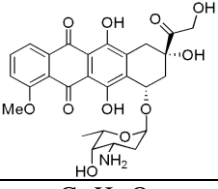
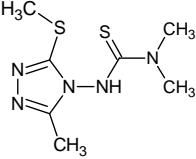
Tabelul 2

Concentrația minimală de inhibiție (CMI) și concentrația minimală bactericidă (CMB) a substanțelor: DTMT, 2 și 6 față de microorganismele gram-pozitive și gram-negative (mg/mL)

| Codul | Formula | E. coli G - | | Kl. pneumoniae | | S. aureus G + | | C. albicans | |
|-------|---|-------------|--------|----------------|------|---------------|--------|-------------|--------|
| | | CMI | CMB | CMI | CMB | CMI | CMB | CMI | CMB |
| DTMT |  | 0,0007 | 0,0007 | 0,06 | 0,12 | 0,0007 | 0,0007 | 0,0007 | 0,0007 |
| 2 |  | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,06 | 0,06 | 0,5 | 0,5 |
| 6 |  | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,007 | 0,007 | 0,5 | 0,5 |

Tabelul 3

Proprietățile antioxidante a tioureei 6

| Formula | Codul | Mr g/mol | IC ₅₀ , (μM/L) metoda ABTS | IC ₅₀ , (μM/L) metoda DPPH |
|---|--------------------|-------------|--|--|
|  | Doxo-ru- bicina | 543,5 | 9,3 | ≥100 |
| C ₁₄ H ₁₈ O ₄ | Trolox | 250,3 | 30 | 46 |
|  | 6 | 231,3 | 29 | ≥100 |

Concluzii

Au fost obținuți 5 derivați noi ai 4-amino-5-metil-4H-1,2,4-triazolului-3-tiol:

2-[[[3-metil-5-(metilsulfanil)-4H-1,2,4-triazol-4-il]imino]metil]fenol (**3**);

1,1-dimetil-3-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)tioureea (**5**);

1,1-dimetil-3-[3-metil-5-(metilsulfanil)-4H-1,2,4-triazol-4-il]tioureea (**6**);

1,1-dimetil-3-[4-(3-metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)fenil]tioureea (**9**);

N-[4-(3-metil-7H-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-6-il)fenil]-2-[1-(piridin-2-il)etiliden]-hidrazincarbotioamida (**11**).

A fost perfecționată metoda de obținere a 3-metil-5-metilsulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-amino-iodhidratului (**2**), cu creșterea randamentului de la 37% la 94%.

Au fost cercetate proprietățile antiproliferative ale derivaților noi ai 1,2,4-triazolului: **2** și **6**. Pe celule de cancer cervical substanțele **2** și **6** au demonstrat o activitate antiproliferativă ne semnificativă și aproximativ de 3 ori mai mică decât Doxorubicina.

Cele mai sensibile microorganisme față de substanțele **2** și **6** sunt *Staphylococcus aureus*, cu CMI 0,06 mg/mL și, respectiv, 0,007 mg/mL. Iar față de DTMT microorganismele *Staphylococcus aureus*, *Escherihia coli* și *Candida albicans* au aceeași valoare de CMI 0,0007 mg/mL. Coinciderea valorilor CMI și CMB atestă caracterul bactericid al acțiunii biologice.

Proprietățile antioxidative ale tioureei **6** sunt aproximativ egale cu ale troloxului.

Referințe:

- Vandana Sharma, Birenda Shrivastava, Rakesh Bhatia. Exploring potential of 1,2,4-triazole: a brief review. India, Newsletter. In: *Pharmacologyonline*, 2011, no1, p.1192-1222.
- SELVARAJ, J., PRANABESH, S., SHANISH, A., RAJAGOPAL, K., BYRAN, G., SUBRAMANIAN, G. and KANNAN, E. Synthesis and biological evaluation of some schiff bases of [4-(amino)-5-phenyl-4h-1,2,4-triazole-3-thiol]. In: *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2011, vol.24, no.2, p.109-112.
- Xiao-Xia Ye, Zhen-Fei Chen, An-Jiang Zhang and Li-Xue Zhang. Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Schiff's Bases from 1,2,4-Triazole. In: *Molecules*, 2007, no.12, p.1202-1209.
- Xiang Li, Xue-Qiang Li, He-Mei Liu, Xue-Zhang Zhou and Zhi-Hui Shao. Synthesis and evaluation of antitumor activities of novel chiral 1,2,4-triazole Schiff bases bearing γ -butenolide moiety. Li et al. In: *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2012, p.1-5.
- Chandramouli, M.R. Shivanand, Thakar Bhaumik Nayanbhai, Bheemachari and UDUPI, R.H. Synthesis and biological screening of certain new triazole schiff bases and their derivatives bearing substituted benzothiazole moiety. In: *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012, no.4(2), p.1151-1159.
- Welin Xie, Jingai Zhang, Xiaojing Ma, Wenqian Yang, Ying Zhou, Xufu Tang, Yan Zou, Hui Li, Jingjing He, Shimin Xie, Yunhui Zhao and Fengping Liu. Synthesis and biological evaluation of kojic acid derivatives containing 1,2,4-triazole as potent tyrosinase inhibitors. In: *Chem. Biol. Drug.*, 2015, no.86, p.1087-1092.

7. SUBA GEETHA, A., VIJAYARAJ, R., RAJ KUMAR, T., SANKAR ANAND R. *Synthesis of Certain 3-Pyridyl [1,2,4] Triazolo [3,4-B] [1,3,4] Thiadiazepines and Evaluation of their Possible Biological Activities*. Vol.2(1), 2011, p.155-159.
8. CHANDRAMOULI, M.R. Shivanand, Thakar Bhaumik Nayanbhai, Bheemachari and UDUPI, R.H. Synthesis and biological screening of certain new triazole schiff bases and their derivatives bearing substituted benzothiazole moiety. In: *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012, no.4(2), p.1151-1159.
9. SOARES, M.A., LESSA, J.A., MENDES, I.C. N⁴-Phenil-substetuted 2-acetilpyridine tiosemicarbazones: Cytotoxicity against human tumor calls, structure-activity relationship studies and investigation on the mecanism of action. In: *Biol. Med. Chem.*, 2012, no.20, p.3396-3407.
10. ANOOPKUMAR-DUKIE, S., CAREY, J.B., CONERE, T., O'SULLIVAN, E., VANPELT, F.N., ALLSHIRE, A. Resazurin assay of radiation response in cultured cells. In: *British Journal of Radiology*, 2005, no.78, p.945-947.
11. PAHONTU, E., JULEA, F., ROSU, T., PURCAREA, V., CHUMAKOV, Yu., PETRENCO, P., GULEA, A. Anti-bacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. In: *J. Cell. Med.*, 2015, vol.19, no.4, p.865-878.
12. RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activitate aplicarea unui ABTS cation radical test îmbunătățită decolorare. In: *Free Rad. Biol. Med.*, 1999, no.26, p.1231-1237.
13. BURITS, M. BUCAR, F. Activitatea antioxidantă a uleiului de Nigella Sativa esserntial. In: *Phytother. Res.*, 2000, no.14, p.323-328.
14. KRÖGER, C.-F., TENOR, E. und BEYER, H. Über 1,2,4-triazole, II. In: *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, vol.643, Issue 1, 1961, p.121-128.
15. RÎBKOVSKAIA, Z. *Sinteza și studiul 5-aril-1,3,4-oxadiazol-2-tiolilor și derivaților lor*: Teză de doctor. Chișinău, 2013.
16. RAO, B., SRINIVASA, K., SASTRY, C., REDDY, V. Synthesis and anthelmintic activity of 6-isothiocyanatophenyl-7H-1,2,4-triazolo-(3,4-b)(1,3,4)-thiadiazines. In: *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1993, vol.55(3), p.108.
17. GUȚU, I., BOI, L.V., MAIGA, S., BARBĂ, N., TĂROBĂSANU-MIHAILĂ, C. *Interacțiunea disulfurii de tetrametiluram cu aminele din șirul heterociclic*. Olănești-Vâlcea: Centrul de cercetări „Olthim”, 1996, p.72.
18. GUȚU, I., BARBĂ, N., PUTAN, T. Noi derivați ai tioureei cu proprietăți pesticide. În: *Lucrările sesiunii științifice „Prezent și perspectivă în horticultură”*. Cluj-Napoca: Universitatea de Științe Agricole, 1994, p.156-157.
19. ГУЦУ, Я.Е., АБДУЛКАДЕР, А.А., БОЙ, Л.В., РЕВЕНКО, М.Д., БАРБА, Н.А. 4-Арилтиосемикарбазиды и некоторые аналитические реагенты на их основе. В: *Сб. Координационные и полимерные соединения. Синтез и свойства*. Кишинёв: ШТИИЦА, 1991, с.90-94.
20. ГУЦУ, Я.Е., БОЙ, Л.В., БАРБА, Н.А. *Способ получения N -арил-N¹-(2-гидроксиалкил) тиомочевин*. Авт. свид. СССР 176859, 1992.
21. ГУЦУ, Я.Е., КРОЙТОР, В.Н. *Способ получения арилизотиоцианатов*. Авт. свид. СССР 1256393, 1986.
22. ГУЦУ, Я.Е., МЕГХЕЗЗИН, А., ПЕТРОВ, Г.М., ЖУНЧИЕТУ, Г.И., БОЙ, Л.В. Синтез арилизотиоцианатов на основе N¹-арил-N,N-диалкилтиомочевин. В: *Сб. Синтез, модификация и исследование полимерных и координационных соединений (вопросы химии и химической технологии)*. Кишинёв: ШТИИЦА, 1989, с.117-121.

Notă: Cercetările au fost efectuate cu susținerea finanțării din grantul instituțional 15.817.02.24.F

Prezentat la 14.11.2016

CZU: 546.62: 661.862

STRATUL DUBLU ELECTRIC AL MONTMORILONITULUI.

I. INFLUENȚA INTERCALĂRII CU OLIGOMERI DE ALUMINIU

Vasile RUSU

Institutul de Chimie al AȘM

A fost dezvoltat criteriul pentru delimitarea caracteristicilor stratului dublu electric în proximitatea suprafeței bazale și suprafeței laterale ale montmorilonitului intercalat cu oligomeri de aluminiu și au fost determinate caracteristicile stratului dublu electric în modelul Stern. În funcție de cazul analizat, pentru stratul dublu în proximitatea suprafeței bazale sau în proximitatea suprafeței laterale pot fi estimate caracteristicile stratului compact – potențialul Stern Ψ_δ , energia de adsorbție specifică chimică \emptyset , densitatea de sarcini σ_c .

Cuvinte-cheie: Al-montmorilonit intercalat, suprafață bazală, suprafață laterală, strat dublu electric.

EDL FOR MONTMORILLONITE. I. THE INFLUENCE OF Al-PILLARING

It was developed the criterion for delimiting of characteristics for electric double layer (EDL) close to the basal surface and edge surface of pillared Al-montmorillonite, and the EDL characteristics in the Stern model were determined. Depending on the case, for EDL close to the basal surface or edge surface, the main characteristics of Stern layer can be estimated, i.e. the Stern potential Ψ_δ , chemical specific adsorption energy \emptyset and charge density σ_c .

Keywords: pillared Al-montmorillonite, basal and edge surfaces, electrical double layer.

Introducere

Generalități

Apariția sarcinilor pe suprafața particulelor în sisteme acvatice naturale sau în soluri este analizată mai frecvent sub aspectul a trei categorii principale de surse: (i) sarcina structurală permanentă (σ_0), cauzată de substituțiile izomorfe în structura mineralelor, (ii) sarcina protonică (σ_H), cauzată de adsorbția protonilor și (iii) sarcina netă a ionilor adsorbiți (Δq) [1-4]. Determinarea relației $\sigma_0 \div \psi_0$ sau îmbinarea caracteristicilor $\sigma_0 \div \text{pH}$ și $\psi_0 \div \text{pH}$ ar completa determinarea parametrilor modelului stratului dublu. Analiza acestei relații, conform modelului Gouy-Chapman, în principiu reprezintă un caz simplu pentru mineralele argiloase, îndeosebi pentru montmorilonit, provocând un șir de întrebări, în primul rând legate de interpretarea chimiei suprafeței solidului și de caracteristicile electrostatice [5].

Densitatea de sarcini pe suprafața laterală a montmorilonitului este considerată a fi formată din două contribuții, una constituind sarcinile cauzate de protonarea/deprotonarea grupărilor pe suprafața laterală ($\sigma_{H, \text{Sup. Lat}}$), iar alta cauzată de substituțiile izomorfe structurale în apropierea suprafeței laterale ($\sigma_{\text{Str., Sup. Lat}}$) a mineralului [5]. Contribuția $\sigma_{\text{Str., Sup. Lat}}$ este considerată de ordinul $\sigma_0 \pm 50\%$ (densitatea de sarcini pe suprafața bazală $\pm 50\%$). În așa mod, delimitarea localizării substituțiilor izomorfe structurale este ipotetică; mai rezonabil este de a considera că densitatea de sarcini, estimată pentru suprafața bazală din considerente cristalochimice, prezintă o caracteristică electrostatică comună pentru suprafața bazală și suprafața laterală ale montmorilonitului [6].

Actualmente, în literatura de specialitate sunt descrise și aplicate diverse modele referitoare la electrostatica mineralelor argiloase, inclusiv a montmorilonitului, fiind menționate un șir de motivații [5]. În primul rând, potențialul suprafeței laterale a mineralelor rămâne o mărime ce nu poate fi deocamdată direct măsurată, fiind un parametru intrinsec al modelelor, dependent de mai mulți factori, inclusiv densitățile de sarcini pe suprafețele bazale și laterale. Calculele teoretice recente demonstrează prezența pe suprafețele laterale a unui șir de grupări (-O, -OH, -OH₂), coordonate cu atomi de siliciu (grupări silanole, $\equiv \text{Si-OH}_n$), aluminiu (grupări aluminole, $\equiv \text{Al-OH}_n$), siliciu și aluminiu ($\equiv \text{AlSi-OH}_n$, $\equiv \text{AlAl-OH}_n$); cu toate acestea, densitatea pozițiilor și detaliile cristalografiei suprafeței laterale rămân incerte [5].

Modelul Stern

Conform teoriei Stern [7], zona din apropierea suprafeței solidului în soluție apoasă se împarte în două regiuni (Fig. 1a, 1b). Prima o constituie un strat imobil de contraioni în proximitatea suprafeței, definit actualmente stratul compact Stern. A doua regiune este partea difuză a stratului dublu (stratul Gouy difuz), cauzată de efectul de dezordine al mișcării termice a ionilor. În viziunea modelului, primul strat de contraioni nu este direct aderat la suprafață, distanța la care se pot apropia ionii atrași spre suprafața electrodului fiind limitată de un strat de molecule de solvent (apă) localizat la suprafață [8,9]. Adsorbția sau interacțiunea acestui strat

de ioni (sau ionii Stern, după [8]) cu suprafața se poate efectua electrostatic; de asemenea, se admite și adsorbția specifică (neelectrostatică) a ionilor, sub influența câmpului forțelor de adsorbție (forțelor moleculare). Căderea de potențial Ψ_0 de la suprafață în soluție este constituită din căderea ($\Psi_0 - \Psi_\delta$) în stratul compact și căderea potențialului Ψ_δ (din planul la distanța δ de la suprafață) în stratul difuz, în care este localizat restul contraionilor. Căderea de potențial în stratul dublu, funcție de distanța de la suprafață în soluție, este concepută liniară până în planul δ , după care scade exponențial în stratul difuz.

În modelul Stern stratul dublu este prezentat, în mod obișnuit, cu un singur strat Helmholtz. Stern a simplificat calculele, ignorând stratul extern Helmholtz (sau considerând aceasta o eroare nesemnificativă), acest model adesea fiind numit modelul „simplu” Stern sau modelul de bază Stern (Fig. 1a). Potențialele ψ_2 (în planul extern Helmholtz, PEH) și ψ_1 (în planul intern Helmholtz, PIH) sunt egale ($\psi_2 = \psi_1 = \psi_\delta$). Stratul intern Helmholtz este definit în hotarele planelor suprafața mineralului (>S) – planul intern Helmholtz (PIH), având capacitatea C_1 . În modelul stratului triplu (sau modelele în 3-plane) sunt incluse două straturi Helmholtz, acest model fiind numit modelul „extins” Stern sau modelul Stern-Grahame [10-12]. Stratul Stern (regiunea internă a stratului dublu) prezintă două condensatoare moleculare în serie (C_1, C_2), stratul intern Helmholtz și stratul extern Helmholtz (Fig. 1c). Stratul intern Helmholtz este definit în hotarele planelor suprafața mineralului (>S sau planul 0) – planul intern Helmholtz (PIH sau planul β), iar stratul extern Helmholtz – în hotarele planelor PIH (β) – planul extern Helmholtz (PEH sau planul d). Stratul Stern este separat de stratul difuz prin planul extern Helmholtz (planul d). Speciile adsorbite specific pe suprafață pot include protoni H^+ , ioni de hidroxil OH^- , metale M^{m+} sau liganzi L^- , formând complecși intrasferici în planul suprafeței. În planul- β se formează complecși extrasferici cu metale M^{m+} , cu liganzi L^- și cu ionii electrolitului de suport (C^+, A^-). Contraionii adsorbiți nespecific (electrostatic) sunt localizați în stratul difuz. Planele electrostatice (0, β , d) definesc dinamica potențialului la interfața mineral – electrolit, de la suprafață (ψ_0) prin planele corespunzătoare (ψ_β, ψ_d).

Modelul „simplu” (sau de bază) Stern este aplicabil într-un interval larg de concentrații ale electrolitului, iar deosebirea lui față de modelul stratului triplu se referă în esență la planul extern Helmholtz. În funcție de tăria ionică a electrolitului, se disting două cazuri-limită ale modelului Stern [12]. La diluarea soluției stratul dublu electric după structură se apropie modelului Gouy-Chapman (crește grosimea stratului difuz, potențialul Ψ_δ și zeta-potențialul), acest caz fiind atribuit la cazul-limită numit *modelul Stern la tărie ionică mică și potențial mic*. La creșterea concentrației soluției, stratul difuz se va contracta tot mai mult (mai mulți contraioni se concentrează în stratul compact, scade potențialul Ψ_δ și zeta-potențialul), iar structura stratului dublu electric se va apropia modelului Helmholtz, acest caz fiind atribuit la cazul-limită numit *modelul Stern la tărie ionică înaltă*, cum este modelul capacității constante [13].

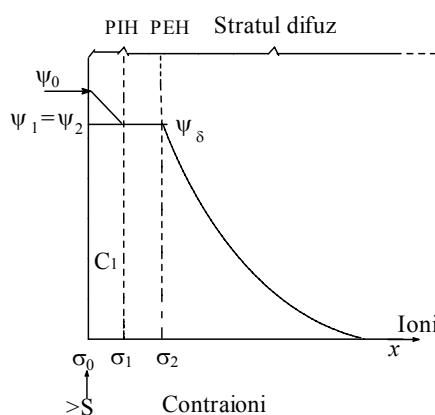


Fig. 1a. Modelul „simplu” Stern sau modelul de bază Stern cu un singur strat Helmholtz. Adaptare după [12].

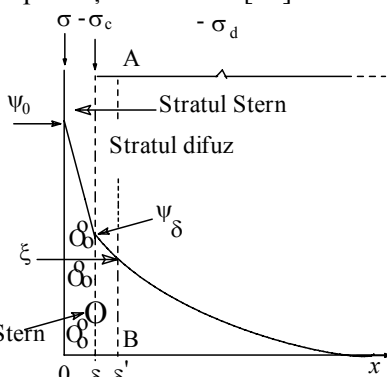


Fig. 1b. Modelul Stern al stratului dublu electric. Contraionii (*ionii Stern*) sunt localizați în planul la distanța δ de la suprafață, stratul compact incluzând un strat de molecule de apă. Planul AB prezintă potențialul zeta ζ la distanța δ' .

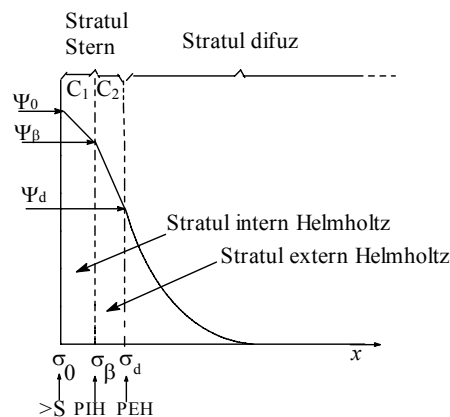


Fig. 1c. Amplasarea ionilor, potențialelor, sarcinilor și capacității în modelul stratului triplu (MST) al complecșilor pe suprafața mineralelor. Adaptare după [10,12,14].

Scopul lucrării include definitivarea modelului Stern al stratului dublu electric în proximitatea suprafeței bazale și suprafeței laterale ale montmorilonitului, delimitarea lor și estimarea caracteristicilor stratului compact – potențialul Stern Ψ_δ , energia de adsorbție specifică chimică \emptyset , densitatea de sarcini σ_c .

Material și metode

Pentru studiu a fost utilizat montmorilonit în formă sodică (zăcăminte din localitatea Ascangel, Republica Georgia), caracterizat prin analize roentgenografice ca o formațiune monominerală [15]. Obținerea H-montmorilonitului s-a efectuat în dinamică (în coloană), prin contactare cu ionit în H-formă [6]. Anterior au fost descrise condițiile de intercalare a montmorilonitului cu oligomeri de aluminiu [16], de asemenea de tratare cu soluție diluată de acid [17]. Titrările alcalimetrice au fost efectuate în condițiile descrise anterior [17]. Prelucrarea finală a datelor s-a efectuat în programul Origin (Microcal Origin, MICROCAL SOFTWARE).

Rezultate și discuții

1. Curbele de pH și ale excesului net de protoni

Protonii din soluție pot fi adsorbiți (sau desorbiți în soluție), afectând sarcina pe suprafața solizilor. Titrările acido-bazice ale mineralele argiloase pot prezenta o informație importantă referitoare la chimia suprafeței solizilor, excesul sau deficiența de protoni fiind un indiciu al reacțiilor de protonare sau deprotonare a grupărilor pe suprafața solidului. Modul de interpretare a datelor din curbele de pH a fost exemplificat anterior pentru studiul H-montmorilonitului [6], fiind determinat un șir de caracteristici, inclusiv excesul net de protoni pe suprafața solidului și densitatea de sarcini pe suprafață, analizată delimitarea straturilor duble ale mineralele argiloase, determinată densitatea de sarcini pe suprafața bazală din considerente cristalo-chimice și a fost estimată densitatea de sarcini pe suprafața laterală a montmorilonitului.

Intercalarea montmorilonitului cu oligomeri de aluminiu și calcinarea lui la temperatura 450°C duce la o reducere pronunțată a acidității adsorbantilor, care în mare măsură poate fi restabilită după tratare cu soluție diluată de acid (Fig. 2a,3a). Curbele excesului net de protoni pentru montmorilonitul intercalat (sau modificat ulterior în H-formă) demonstrează distinct prezența unui punct de intersecție la diferite concentrații ale electrolitului de suport (punctul cu efect zero al sării, PEZS), localizat în domeniul pH-ului 7,3-7,4 (Fig. 2b,3b).

2. Densitatea de sarcini pe suprafață

Procedeele privind determinarea densității de sarcini pe suprafața mineralele argiloase, având cunoscută formula cristalo-chimică a mineralului, este exemplificat în [4,5,18]. Considerând că principala sursă de apariție a sarcinii negative pe suprafață ($-q_s$, moli/g) este cauzată de prezența substituțiilor izomorfe în rețeaua cristalină, procedeul include estimarea cantităților de substituții per unitate de masă a mineralului și estimarea suprafeței lui specifice geometrice. Pentru Na-montmorilonit, aplicat în studiu pentru sinteza adsorbantilor intercalați cu oligomeri de aluminiu, formula cristalo-chimică este $[(Si_8)(Al_{2,76}Fe^{III}_{0,34}Mg_{0,90})O_{20}(OH)_4] \cdot (Ca_{0,05}Na_{0,80})$, având sarcina formulei cristalo-chimice $X = -0,9$, iar principiile calculului densității de sarcini au fost exemplificate anterior [6]. După intercalare, sarcina X a formulei cristalo-chimice rămâne aceeași, dar masa molară pentru Al-montmorilonit se schimbă și trebuie recalculată.

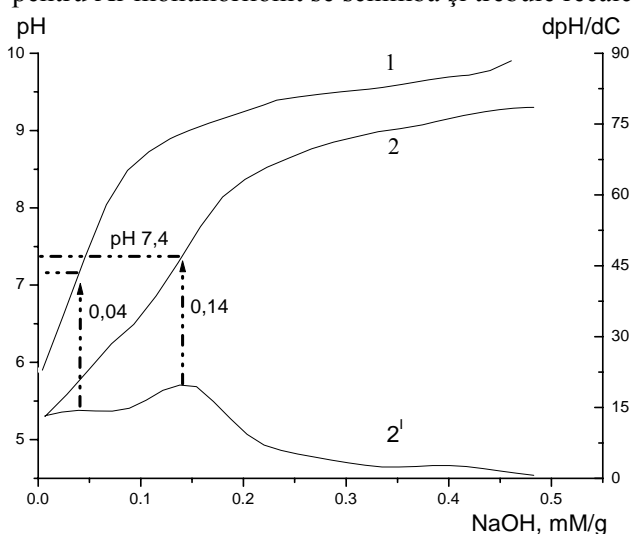


Fig. 2a. Titrația alcalimetrică a Al-montmorilonitului intercalat, funcție de tăria ionică a electrolitului de suport NaCl (1 – 0,3 M, 2 – 1 M). 2' – curba diferențială.

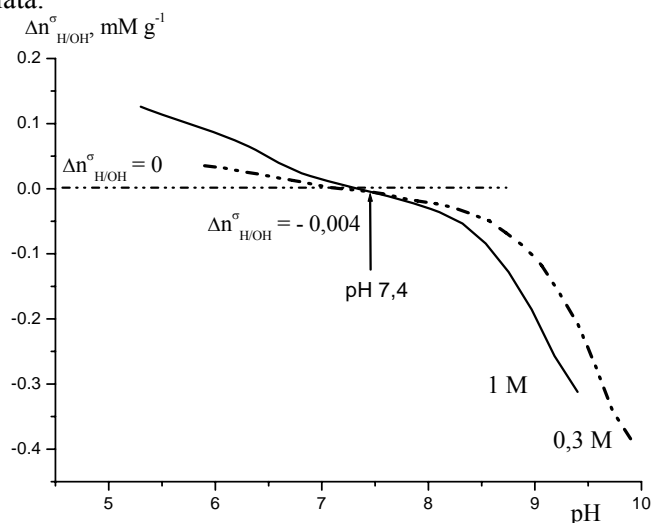


Fig. 2b. Excesul net de protoni $\Delta n^{\sigma}_{H/OH}$ pe suprafața Al-montmorilonitului intercalat, funcție de tăria ionică (electrolit de suport NaCl 0,3 M, 1 M).

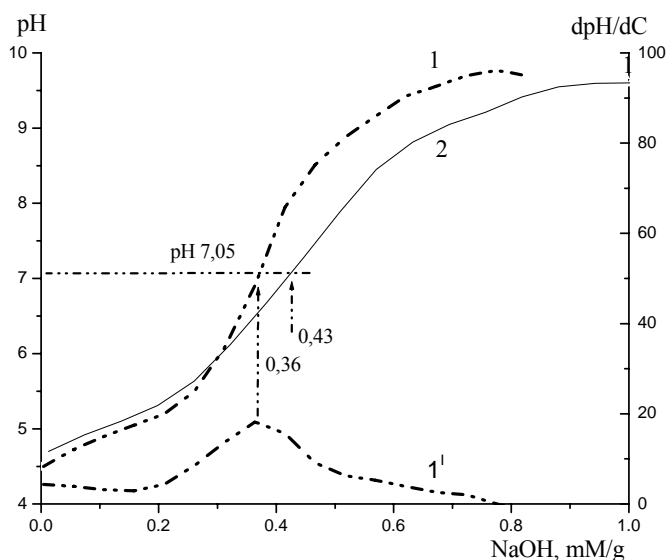


Fig. 3a. Titrarea alcalimetrică a H-Al-montmorilonitului intercalat, funcție de tăria ionică a electrolitului de suport NaCl (1 – 0,3 M, 2 – 1 M). 1' – curba diferențială.

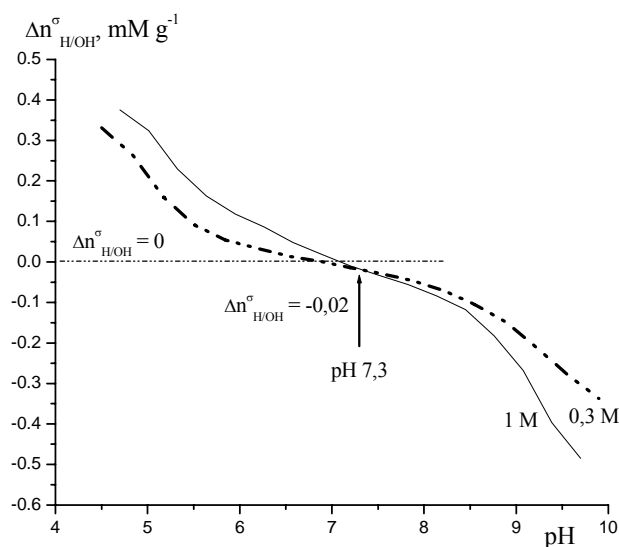
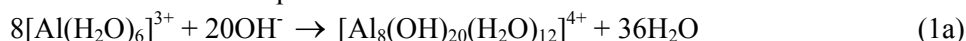


Fig. 3b. Excesul net de protoni $\Delta n^{\sigma}_{H/OH}$ pe suprafața H-Al-montmorilonitului intercalat, funcție de tăria ionică a electrolitului de suport (NaCl 0,3 M, 1 M).

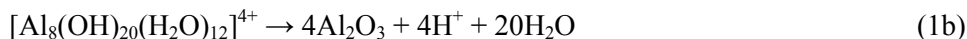
Natura oligomerilor intercalați în spațiul interlamelar al montmorilonitului rămâne discutabilă, fiind posibilă prezența ciclurilor hexagonale, de tipul $[Al_6(OH)_{16,5}]^{1,5+}$ sau, mai probabil, de tipul $[Al_6(OH)_{12}(H_2O)_{12}]^{6+}$, a speciilor octamerice $[Al_8(OH)_{20}]^{4+}$ sau a cationilor polinucleari de aluminiu $[Al_{13}O_4(OH)_{24}H_{12}]^{7+}$ [19].

În ansamblu, dinamica structurii speciilor oligomerice se modifică pe măsura „îmbătrânirii”, în funcție de raportul molar inițial OH^-/Al^{3+} și de concentrația soluției de $AlCl_3$ folosite pentru obținerea soluțiilor oligomerice [15]. Pentru calcule orientative, se poate admite intercalarea speciilor octamerice $[Al_8(OH)_{20}(H_2O)_{12}]^{4+}$, cu bazicitate de ordinul 5/6, în spațiul interlamelar al Na-montmorilonitului. De rând cu anumite specii predominante, în soluțiile oligomerice sunt prezenți de asemenea dimeri, trimeri, hexameri etc. În acest caz, transformarea ionilor de Al^{3+} în octameri este un proces complex, fiind posibile scindări, condensări, fuzionări etc., și poate fi prezentată schematic. De exemplu:



Pentru neutralizarea sarcinii X a formulei cristalo-chimice ($X = -0,9$) sunt necesare +0,9 sarcini de la oligomeri sau la 1 mol de montmorilonit trebuie cca. 1/4 mol de octameri $[Al_8(OH)_{20}(H_2O)_{12}]^{4+}$. Proporția este orientativă, întrucât, de rând cu speciile octamerice $[Al_8(OH)_{20}(H_2O)_{12}]^{4+}$ predominante, în soluțiile oligomerice sunt posibile și alte specii.

În procesul calcinării (etapă numită „pilonarea” sau „pivotarea” argilei) se produce dehidratarea/dehidroxilarea oligomerilor cu formarea oxidului de aluminiu în spațiul interlamelar al mineralului. În acest caz, de exemplu:



Astfel, după calcinare formula cristalo-chimică a montmorilonitului intercalat este prezentată orientativ $[(Si_8)(Al_{2,76}Fe^{III}_{0,34}Mg_{0,90})O_{20}(OH)_4] \cdot (Al_2O_3)_x$, masa molară fiind de cca. 854 g, iar cantitatea de sarcini pe suprafață, cauzată de prezența substituțiilor izomorfe în rețeaua cristalină ($X = -0,9$), este de ordinul $q_s = -X/M = -1,05 \cdot 10^{-3}$ moli/g.

Pentru mineralele nedilatabile (caolinite, mici), suprafața totală (suprafața geometrică) prezintă suprafața lor exterioară [8]. Similar mineralelor nedilatabile, pentru montmorilonitul intercalat (ca formațiune nedilatabilă) suprafața bazală geometrică prezintă suprafața pachetelor elementare în planul axb ($0,52 \times 0,89 \times 10^{-18}$ m², considerând o textură din particule lamelare), obținând suprafața bazală geometrică $S_g = 326$ m²g⁻¹.

Densitatea de sarcini pe unitate de suprafață bazală geometrică a montmorilonitului intercalat este definită din ecuația (2), în care F este constanta lui Faraday [6]:

$$\sigma_0 = q_s \cdot \frac{F}{S_g} = -0,311 \text{ C} \cdot \text{m}^{-2} \quad (2)$$

Astfel, densitatea de sarcini pe suprafața bazală constituie $\sigma_0 = -0,311 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, densitatea de sarcini în stratul difuz în proximitatea suprafeței bazale constituie $\sigma_{d, H, b} = -\sigma_0 = 0,311 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, iar dinamica densității de sarcini pe suprafața laterală pe măsura titrării montmorilonitului intercalat este analizată conform expresiei (3):

$$\sigma_{H, \text{Sup. Lat}} = \sigma_s - \sigma_{d, H, b} = \sigma_s - 0,311 \quad (3)$$

Suprafața totală pentru Al-montmorilonit intercalat este estimată după BET din izotermele adsorbției azotului de ordinul $S_s = S_{\text{BET}} = 165 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ [16], iar densitatea de sarcini totală pe suprafață este estimată din ecuația (4):

$$\sigma_s = \frac{F \cdot \Delta n_{H/OH}^\sigma}{S_s} \quad (4)$$

în care $\Delta n_{H/OH}^\sigma$ exprimă excesul net de protoni pe suprafață determinat din curba de pH.

În Figura 6a dinamica densității de sarcini pe suprafața laterală pe măsura titrării Al-montmorilonitului intercalat cu oligomeri de aluminiu este analizată conform expresiilor (3) și (4). Pentru H-montmorilonit suprafața totală (S_s) este estimată de ordinul $200 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ și densitatea de sarcini totală pe suprafață este estimată conform expresiei (5) [6]:

$$\sigma_s = \frac{F \cdot \Delta n_{H/OH}^\sigma}{200} \quad (5)$$

Dinamica densității de sarcini pe suprafața laterală pe măsura titrării H-montmorilonitului este analizată conform expresiei (6) obținute anterior [6]:

$$\sigma_{H, \text{Sup. Lat}} = \sigma_s - \sigma_{d, H, b} = \sigma_s - 0,156 \quad (6)$$

3. Stratul dublu electric în modelul Stern pentru minerale argiloase

3.1. Suprafața bazală

Din punctul de vedere al modelului Stern, două regiuni trebuie evidențiate în proximitatea suprafeței bazale a mineralelor argiloase: stratul compact Stern și partea difuză a stratului dublu. Densitatea de sarcină pentru stratul compact este exprimată conform ecuației (7) [8,9,20,21]:

$$\sigma_c = z \frac{F}{N_A} N_s \cdot X_0 \cdot \text{EXP}(-(zF \cdot \Psi_\delta + \emptyset)/RT), \quad (7)$$

în care Ψ_δ este potențialul electric la hotarul dintre stratul compact și cel difuz, situat în planul la distanța δ de la suprafață (în planul intern Helmholtz), \emptyset este energia de adsorbție specifică chimică datorită unor forțe neelectrostatice. F este constanta lui Faraday, R – constanta gazelor, z – sarcina contraionilor ($z = 1$), N_A – numărul Avogadro, mărimea N_s este numărul disponibil de centri de adsorbție (centri ocupabili), X_0 este fracția molară a solutului. Pentru soluții diluate $X_0 = 1/55,5$, I fiind concentrația molară sau tăria ionică.

Relația dintre densitatea de sarcină în stratul difuz și potențialul Ψ_δ se prezintă conform ecuației Gouy-Chapman, înlocuind potențialul de suprafață Ψ_0 prin potențialul Ψ_δ [8,9,20,21]. Densitatea de sarcină în stratul difuz (în sistemul de unități SI) este exprimată, în cadrul modelului Stern pentru minerale argiloase, conform ecuației (8) [10,12,14,22]:

$$\sigma_g = - [8RT \cdot \varepsilon_r \varepsilon_0 \cdot I \cdot 10^3]^{0,5} \cdot \text{Sinh}(zF\Psi_\delta/2RT), \quad (8)$$

în care I este tăria ionică (produsul $I \cdot 10^3$ semnificând per m^3). Mărimea z este sarcina ionilor determinanți de potențial (pentru ionii determinanți de potențial H^+ și OH^- , $z = 1$), ε_r este permitivitatea relativă a mediului, ε_0 – permitivitatea vidului, Sinh – funcție hiperbolică.

Semnul minus în ecuația (8) semnifică densitatea de sarcini pozitivă în stratul difuz, deoarece sarcina σ_0 pentru suprafața bazală a mineralelor argiloase este o mărime negativă.

Densitatea de sarcini (valoarea absolută) pe suprafața bazală este egală cu suma densităților de sarcini în stratul compact și în stratul difuz. Astfel, suma ecuațiilor (7) și (8) reprezintă densitatea de sarcină *intrinsec* constantă (permanentă) pentru minerale argiloase, σ_0 :

$$|\sigma_0| = \sigma_c + \sigma_g = z \frac{F}{N_A} N_s \cdot X_0 \cdot \text{EXP}(-(zF \cdot \Psi_\delta + \emptyset)/RT) - [8RT \cdot \varepsilon_r \varepsilon_0 \cdot I \cdot 10^3]^{0,5} \cdot \text{Sinh}(zF\Psi_\delta/2RT) \quad (9)$$

3.2. Suprafața laterală

Formularea generală a modelului Stern rămâne identică celei pentru suprafața bazală, dar cu unele precizări referitoare la semne. Pentru suprafețe încărcate pozitiv, din regiunea în proximitatea suprafeței solidului sunt

eliminați cationii, fiind adsorbiți doar anionii. Densitatea de sarcină pentru stratul compact este exprimată conform ecuațiilor (10a), (10b) [9,23]:

$$\sigma_c = z \frac{F}{N_A} N_s X_0 \cdot \exp\left(\frac{zF\Psi_\delta - \phi}{RT}\right), \quad (10a)$$

unde $z = -1$ este sarcina anionilor (contraionilor, inclusiv semnul lor), iar ϕ este energia de adsorbție specifică chimică a anionilor, obținându-se:

$$\sigma_c = - \frac{F}{N_A} N_s X_0 \cdot \exp\left(\frac{-F\Psi_\delta - \phi}{RT}\right) \quad (10b)$$

Densitatea de sarcini (valoarea absolută) pe suprafața solidului (încărcată pozitiv) este egală cu suma densităților de sarcini în stratul compact și în stratul difuz. În acest caz, densitatea de sarcini pe suprafața laterală (pentru H-montmorilonit, $\sigma_{H, \text{Sup. Lat}} > 0$ la pH₀) este egală cu suma (valoarea absolută) densităților de sarcini în stratul compact și în stratul difuz:

$$\sigma_{H, \text{Sup. Lat}} = |\sigma_c| + |\sigma_g| \quad (11)$$

Din ecuațiile (8)-(10) se obține:

$$|\sigma_{H, \text{Sup. Lat}}| = \sigma_c + \sigma_g = - \frac{F}{N_A} N_s X_0 \cdot \text{EXP}(-F \cdot \Psi_\delta / RT - \phi / RT) + [8RT \cdot \epsilon_r \epsilon_0 \cdot I \cdot 10^3]^{0.5} \cdot \text{Sinh}(-F\Psi_\delta / 2RT) \quad (12)$$

Pentru suprafețe încărcate negativ, din regiunea în proximitatea suprafeței solidului sunt eliminați anionii, fiind adsorbiți doar cationii. Pentru cationi potențialul total de adsorbție este reprezentat de mărimea ($zF \cdot \Psi_\delta + \phi$), obținându-se în final:

$$\sigma_c = z \frac{F}{N_A} N_s X_0 \cdot \exp\left(-\frac{zF\Psi_\delta + \phi}{RT}\right) \quad (13)$$

Densitatea de sarcini (valoarea absolută) pe suprafața laterală este egală cu suma densităților de sarcini în stratul compact și în stratul difuz, în acest caz obținându-se:

$$|\sigma_{H, \text{Sup. Lat}}| = \sigma_c + \sigma_g = \frac{F}{N_A} N_s X_0 \cdot \text{EXP}(-F \cdot \Psi_\delta / RT - \phi / RT) - [8RT \cdot \epsilon_r \epsilon_0 \cdot I \cdot 10^3]^{0.5} \cdot \text{Sinh}(F\Psi_\delta / 2RT) \quad (14)$$

Astfel, pe măsura titrării alcalimetrice a montmorilonitului, când ionii determinanți de potențial sunt H⁺ și OH⁻, adsorbția contraionilor pe suprafețe încărcate negativ prezintă, propriu-zis, adsorbția ionilor H⁺ ($z = +1$), iar relația pentru densitatea de sarcină în stratul compact este exprimată conform ecuației (7) sau (13). Pentru suprafețe încărcate pozitiv, adsorbția contraionilor prezintă, propriu-zis, adsorbția ionilor OH⁻ ($z = -1$), relația pentru densitatea de sarcină fiind exprimată conform ecuațiilor (10).

3.3. Estimarea caracteristicilor și schema de calcul

În ansamblu, se obține un sistem de ecuații ce conțin mai multe necunoscute: σ_c , σ_g (sau σ_0 și una din componente), Ψ_0 , Ψ_δ , ϕ , ϵ , N_s , δ .

Schema de calcul în cadrul modelului Stern al caracteristicilor stratului dublu (pentru soluri sau argile) poate fi simplificată. Pentru mărimile ϵ , N_s și δ pot fi date valori (rezonabile), care pot fi ajustate la datele experimentale (curbele sarcinii suprafeței, $\sigma_s \div \text{pH}$). În [24], pentru N_s (soluri) s-a dat valoarea 10^{15} per cm^{-2} (identic mineralelor argiloase [8]), iar valoarea raportului δ/ϵ a fost determinată din ajustarea mai bună la datele experimentale (curbele sarcinii suprafeței, $\sigma_s \div \text{pH}$). Energia de adsorbție specifică chimică, ϕ , fie că a fost neglijată ($\phi = 0$), fie că au fost admise anumite valori numerice (de exemplu, $\phi = 0,1$ eV) [8,24,25]. Potențialul Ψ_0 a fost determinat în [24] din ecuația Nernst, aplicată în punctul de intersecție a curbelor sarcinii suprafeței la diferite tării ionice ale electrolitului de suport. După introducerea acestor substituții, în [24] a fost obținut un sistem din 4 ecuații cu 4 necunoscute (σ_c , σ_g sau σ_s și una din aceste componente, de asemenea Ψ_δ și δ/ϵ).

Schemele de calcul aplicate în [8,24,25] sunt totuși simplificate. Pentru mineralele argiloase de tipul 2:1 (spre deosebire de mineralele argiloase 1:1, de exemplu, caolinit) nu se înregistrează intersecția curbelor sarcinii suprafeței la diferite tării ionice ale electrolitului de suport, fenomen neexplicat deocamdată [26-28]; astfel, determinarea potențialului Ψ_0 în acest mod rămâne problematică. Ajustarea mărimilor ϵ , N_s și δ la datele experimentale (curbele sarcinii suprafeței, $\sigma_s \div \text{pH}$) este insuficient argumentată fără delimitarea caracteristicilor stratului dublu electric în proximitatea suprafeței bazale și suprafeței laterale ale montmorilonitului. Constanta

dielectrică în stratul compact se consideră a fi mult mai mică decât mărimea permitivității relative a mediului în volumul soluției, acest aspect fiind discutat într-un șir de lucrări, de exemplu în [18,20,21,25,29,30,31-40].

Schema de calcule aplicată în prezenta lucrare are la bază, în primul rând, delimitarea caracteristicilor stratului dublu electric în proximitatea suprafeței bazale și a suprafeței laterale ale montmorilonitului. Potențialul Ψ_δ în proximitatea suprafeței bazale a fost determinat aplicând ecuația (9), admițând valori numerice pentru energia de adsorbție specifică chimică \emptyset în intervalul 0–96500 J·mol⁻¹. În continuare, pentru valorile Ψ_δ și \emptyset corespunzătoare a fost determinată densitatea de sarcini pentru stratul compact σ_c din ecuația (7) și pentru stratul difuz σ_g din ecuația (9).

Pentru suprafața laterală, în funcție de semnul sarcinii suprafeței, au fost aplicate ecuațiile corespunzătoare (12) sau (14), admițând valori numerice pentru energia de adsorbție specifică chimică \emptyset (Fig. 4a,4b).

Mărimea N_s în modelul Stern este densitatea de centri de adsorbție pe suprafață. Pentru minerale argiloase această mărime este considerată de ordinul $N_s = 10 \cdot 10^{18}$ centri activi per m² sau 10 centri activi per nm² [8]. Intercalarea montmorilonitului cu oligomeri de aluminiu modifică proprietățile sorbțional-structurale, chimia suprafeței și densitatea centrilor activi pe suprafață. Din aceste considerente, calculele au fost efectuate pentru diferite densități de centri activi per m² pe suprafața bazală, exemplificate în figurile 4a și 5a. Pe suprafața laterală a montmorilonitului densitatea centrilor activi este mai mică, estimată de ordinul 1,2-2,5 grupări per nm² [5] sau de ordinul 2,3-2,5 centri per nm² [41-43]. Calculele au fost efectuate pentru aceste domenii ale densității de centri pe suprafață, de asemenea la pH-ul inițial (pH₀) și în punctul de echivalență (pH_e) pe curbele de pH (Fig. 4b).

În funcție de cazul analizat, pentru stratul dublu în proximitatea suprafeței bazale sau în proximitatea suprafeței laterale, densitatea de sarcini pentru stratul compact σ_c este exprimată conform ecuațiilor (7), (10b) sau (13), iar în funcție de energia de adsorbție specifică chimică \emptyset pot fi estimate caracteristicile stratului compact – potențialul Stern Ψ_δ și densitatea de sarcini σ_c .

3.4. Determinarea potențialului suprafeței

Indiferent de modelul conceput al stratului dublu electric, valorile potențialului la suprafața mineralelor argiloase Ψ_0 și ale potențialului Ψ_δ (la hotarul dintre stratul compact și cel difuz) deocamdată nu pot fi măsurate direct. Pentru estimarea potențialului la suprafață, în diferite modele (modelele stratului difuz SD sau ale capacității constante CC) se aplică ecuația Gouy-Chapman, având cunoscută densitatea de sarcini pe suprafața solidului [6].

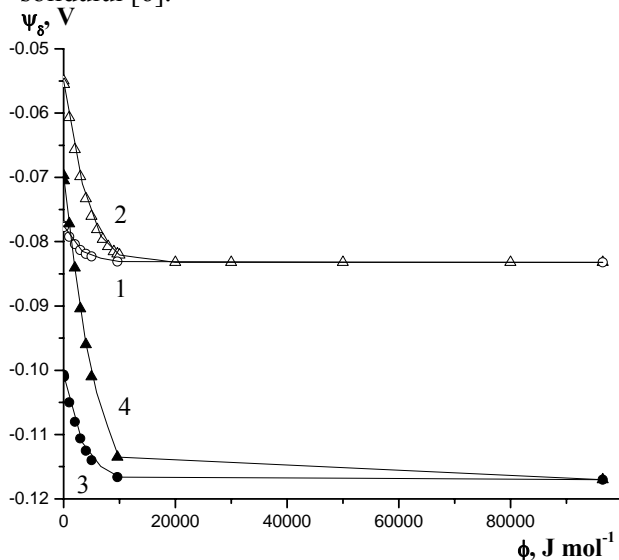


Fig. 4a. Dinamica potențialului Stern (ψ_δ) al stratului dublu electric în proximitatea suprafeței bazale a H-montmorilonitului (curbele 1, 2) și Al-montmorilonitului intercalat (curbele 3, 4), în funcție de mărimea energiei de adsorbție specifică chimică (\emptyset). Calcule efectuate pentru densitatea de centri activi per m² pe suprafața bazală N_s $1 \cdot 10^{18}$ (1), $10 \cdot 10^{18}$ (2), $2 \cdot 10^{18}$ (3), $15 \cdot 10^{18}$ (4).

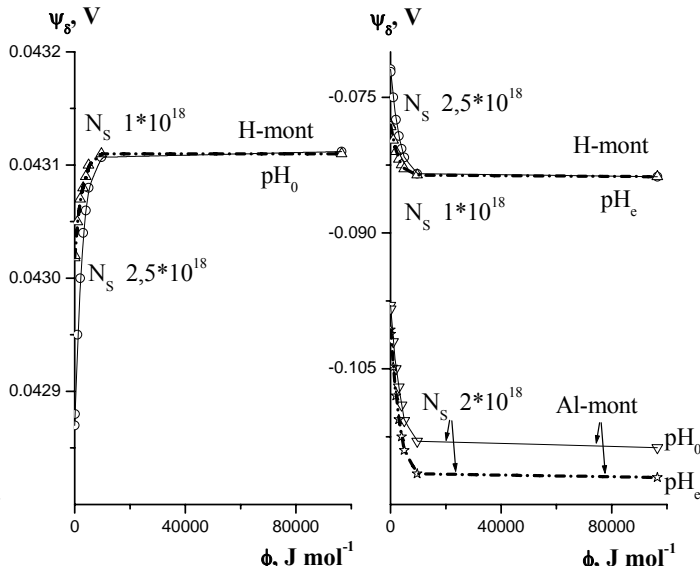


Fig. 4b. Dinamica potențialului Stern (ψ_δ) al stratului dublu electric în proximitatea suprafeței laterale a H-montmorilonitului (H-mont) și Al-montmorilonitului intercalat (Al-mont), în funcție de mărimea energiei de adsorbție specifică chimică (\emptyset). Calcule efectuate din curba de pH la valoarea inițială a suspensiei (pH₀) și în punctul de echivalență (pH_e), pentru densitatea de centri activi per m² pe suprafața laterală N_s $1 \cdot 10^{18}$, $2 \cdot 10^{18}$ și $2,5 \cdot 10^{18}$.

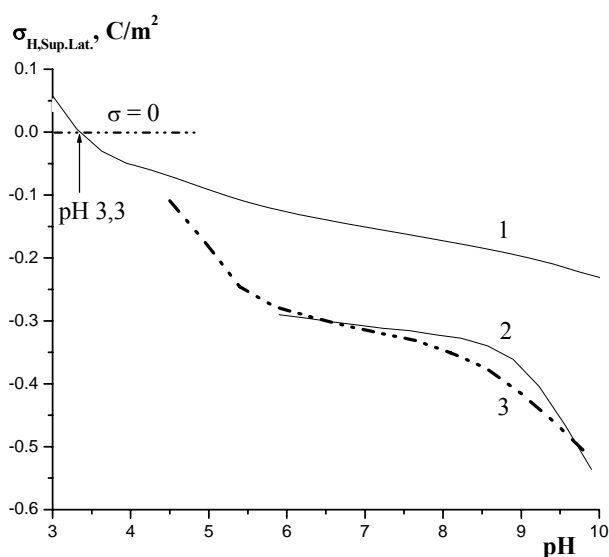


Fig. 5a. Densitatea de sarcini pe suprafața laterală a H-montmorilonitului (1), Al-montmorilonitului intercalat (2) și H-Al-montmorilonitului intercalat (3). Calcule din curba de pH la titrarea în prezența electrolitului de suport NaCl 0,3 M.

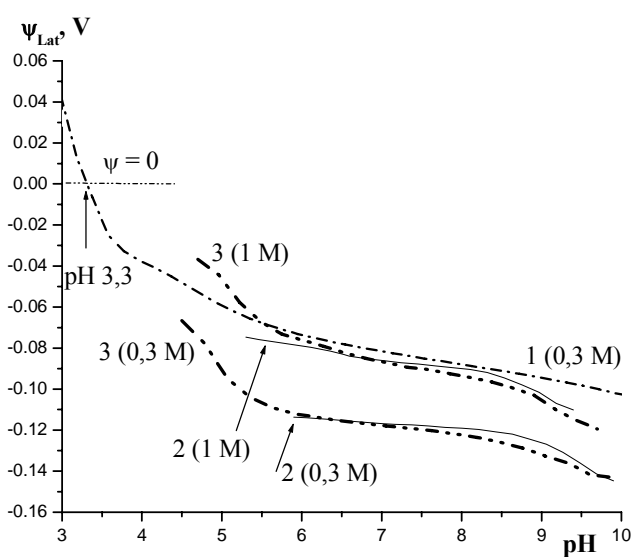


Fig. 5b. Potențialul pe suprafața laterală a H-montmorilonitului (1), Al-montmorilonitului intercalat (2) și H-Al-montmorilonitului intercalat (3). Calcule din curba de pH la titrarea în prezența electrolitului de suport NaCl la tăria ionică 0,3 M și 1 M.

Densitatea de sarcini pe suprafața bazală a H-montmorilonitului constituie $\sigma_0 = -0,156 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$, iar potențialul estimat constituie $\psi_0 = -0,0832 \text{ V}$, fără o modificare pe măsura titrării H-montmorilonitului [6]. Valorile corespunzătoare pentru suprafața bazală a Al-montmorilonitului intercalat constituie $\sigma_0 = -0,311 \text{ C}\cdot\text{m}^{-2}$ și $\psi_0 = -0,117 \text{ V}$. Pentru suprafața laterală a montmorilonitului, densitatea de sarcini $\sigma_{H, Sup. Lat}$ definește sarcina, propriu-zis, direct pe suprafață (grupările protonate $\equiv\text{S-OH}_2^+$), potențialul suprafeței obținându-se conform ecuației (15) (Fig. 5a,5b):

$$\Psi_{Lat} = \frac{ASINH \frac{\sigma_{H, Sup. Lat}}{0,1174\sqrt{I}}}{19,46} \quad (15)$$

Concluzii

1. A fost dezvoltat criteriul pentru delimitarea caracteristicilor stratului dublu electric în proximitatea suprafeței bazale și a suprafeței laterale ale montmorilonitului intercalat cu oligomeri de aluminiu și au fost determinate caracteristicile stratului dublu electric în modelul Stern.

2. În funcție de cazul analizat, pentru stratul dublu în proximitatea suprafeței bazale sau în proximitatea suprafeței laterale, pot fi estimate caracteristicile stratului compact – potențialul Stern Ψ_δ , energia de adsorbție specifică chimică \emptyset , densitatea de sarcini σ_c .

Referințe:

1. CHOROVER, J., SPOSITO, G. Surface charge characteristics of kaolinitic tropical soils. In: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1995, vol.59, no.5, p.875-884.
2. CHOROVER, J., AMISTADI, M.K., CHADWICK, O.A. Surface charge evolution of mineral-organic complexes during pedogenesis in Hawaiian basalt. In: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2004, vol.68, no.23, p.4859-4876.
3. SCHROTH, B.K., SPOSITO, G. Surface charge properties of kaolinite. In: *Clays and Clay Minerals*, 1997, vol.45, no.1, p.85-91.
4. SPOSITO, G. *The Surface Chemistry of Natural Particles*. Oxford University Press, Inc., 2004.
5. BOURG, I.C., SPOSITO, G., BOURG, A.C.M. Modeling the acid-base surface chemistry of montmorillonite. In: *J. Colloid Interface Sci.*, 2007, vol.312, no.2, p.297-310.
6. RUSU, V. Caracteristicile stratului dublu electric în proximitatea suprafeței laterale a montmorilonitului. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Revistă științifică a Universității de Stat din Moldova. Seria „Științe reale și ale naturii”*. 2015, nr.6(86), p.156-167.

7. STERN, O.Z. In: *Elektrochem.* 1924, vol.30, p.508.
8. van OLPHEN, H. *An introduction to Clay Colloid Chemistry.* Wiley-Interscience, NY, 1963.
9. OVERBEEK, J.Th.G. Chapter IV Electrochemistry of double layer. Chapter VI Colloidal particle interaction. In: *Colloid Science.* Edited by H. R. Kruyt. Volume I. Irreversible systems. Elsevier, 1952.
10. GOLDBERG, S. Adsorption Models Incorporated into Chemical Equilibrium Models. In: *Soil Science Society of America, American Society of Agronomy.* Special Publication 42, 1995, p.75-95.
11. GUNNARSSON, M., RASMUSSEN, M., WALL, S., AHLBERG, E., ENNIS, J. Electroacoustic and Potentiometric Studies of the Hematite-Water Interface. In: *J. Coll. Inter. Sci.*, 2001, vol.240, p.448-458.
12. WESTALL, J.C. Reactions at the Oxide-Solution Interface: Chemical and Electrostatic Models. In: *Geochemical Processes at Mineral Surfaces.* James A. Davis, Kim F. Hayes (Eds). ACS symposium series, Vol. 323. American Chemical Society, Washington, DC 1986, p.54-78.
13. STUMM, W., HOHL, H., DALANG, F. Interaction of metal ions with hydrous oxide surfaces. In: *Croatica Chem. Acta*, 1976, vol.48, p.491.
14. GOLDBERG, S., DAVIS, J.A., HEM, J.D. The Surface Chemistry of Aluminum Oxides and Hydroxides. In: *The Environmental Chemistry of Aluminum.* Second Edition. Edited by Garrison Sposito. CRC Press. Inc., 1996, p.271-331.
15. RUSU, V., NASTAS, R., OBREJA-NISTOR, L., MAFTULEAC, A., PETUHOV, O., PUȘCAȘU, B. Particularități de sinteză a adsorbantilor intercalați pe bază de montmorilonit. În: *Buletinul Institutului de Geologie și Seismologie al AȘM*, 2011, nr.1, p.94-105.
16. RUSU, V., MAFTULEAC, A., PETUHOV, O. Caracteristici sorbționale-structurale ale montmorilonitului intercalat convențional și competitiv cu oligomeri de aluminiu. În: *Studia Universitatis. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2012, nr.6(56), p.87-95.
17. RUSU, V., NASTAS, R., ȚIMBALIUC, N., GONȚA, A., MAFTULEAC, A. Proprietățile sorbționale și catalitice ale montmorilonitului intercalat cu oligomeri de aluminiu. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Revistă științifică a Universității de Stat din Moldova. Seria „Științe reale și ale naturii”*. 2014, nr.1(71), p.166-174.
18. STUMM, W., MORGAN, J.J. *Aquatic chemistry. An introduction emphasizing. Chemical equilibria in natural waters.* John Wiley and Sons, Inc., 1970.
19. HELMY, A.K., FERREIRO, E.A., de BUSSETTI, S.G. Cation exchange capacity and condition of zero charge of hydroxy-Al-montmorillonite. In: *Clays and Clay Minerals*, 1994, vol.42, no.4, p.444-450.
20. ADAMSON, A.W. *Physical chemistry of surfaces.* Third edition, John Wiley and Sons, Inc., 1976.
21. ADAMSON, A., GAST, A. *Physical Chemistry of Surfaces.* 6th Ed. John Wiley and Sons, Inc., 1997.
22. STUMM, W., MORGAN, J.J. *Aquatic chemistry. Chemical equilibria and rates in natural waters.* Third edition. John Wiley and Sons, Inc., 1996.
23. GRAHAME, D.C. The electrical double layer and the theory of electrocapillarity: In: *Chemical Reviews*, 1947, vol.41, p.441-501.
24. van RAIJ, B., PEECH, M. Electrochemical properties of some oxosols and alfisols of tropics. In: *Soil Science Society of America Proceedings*, 1972, vol.36, p.587-593.
25. SRIDHARAN, A., SATYAMURTY, P.V. Potential-distance relationships of clay-water systems considering the Stern theory. In: *Clays and Clay Minerals*, 1996, vol.44, no.4, p.479-484.
26. DUC, M., GABORIAUD, F., THOMAS, F. Sensitivity of the acid-base properties of clays to the methods of preparation and measurement. I. Literature review. In: *J. Colloid Interface Sci.*, 2005, vol.289, no.1, p.139-147.
27. DUC, M., GABORIAUD, F., THOMAS, F. Sensitivity of the acid-base properties of clays to the methods of preparation and measurement. 2. Evidence from continuous potentiometric titrations. In: *Journal of Colloid and Interface Science*, 2005, vol.289, p.148-156.
28. KOSMULSKI, M. pH-dependent surface charging and points of zero charge. IV. Update and new approach. In: *Journal of Colloid and Interface Science*, 2009, vol.337, p.439-448.
29. BOCKRIS, M.J., HKAN, S.U.M. *Surface Electrochemistry. A Molecular Approach.* Plenum Press, London. 1993.
30. BOLT, G.H. *Physico-chemical properties of the electric double layer on planar surfaces.* Ph.D. Thesis, Cornell University, 1954.
31. GIESE, JR. R.F., COSTANZO, P.M. Behavior of Water on the Surface of Kaolin Minerals. In: *Geochemical Processes at Mineral Surfaces.* James A. Davis, Kim F. Hayes, Eds. ACS symposium series, vol.323. American Chemical Society, Washington, DC 1986, p.37-53.
32. GUNNARSSON, M., ABBAS, Z., AHLBERG, E., GOBOM, S., NORDHOLM, S. Corrected Debye-Huckel analysis of surface complexation. II. A Theory of Surface Charging. In: *J. Colloid and Interface Sci.*, 2002, vol.249, p.52-61.
33. HALL, P.G., ROSE, M.A. Dielectric properties of water adsorbed by kaolinite clays. In: *J. Chem. Soc. Faraday*, 1978, vol.174, p.1221-1233.

34. HELMY, A.K., NATALE, I.M. Effect of the dielectric constant on the double layer on clays. In: *Clays and Clay Minerals*, 1985, vol.33, no.4, p.329-332.
35. HOEKSTRA, P., DOYLE, W.T. Dielectric relaxation of surface adsorbed water. In: *J. Colloid Interface Sci.*, 1971, vol.36, p.513-521.
36. HUNTER, R.J. *Foundations of Colloidal Science*. Second ed. Oxford: Oxford Univ. Press, 2001.
37. LEVINE, S. Adsorption isotherms in the electric double layer and the discreteness of charge effect. In: *J. Colloid Interface Sci.*, 1971, vol.37, p.619-634.
38. NELSON, S.M., HUANG, H.H., SUTTON, L.E. Dielectric study of water, ethanol and acetone adsorbed on kaolinite. In: *Trans. Faraday Soc.*, 1969, vol.65, p.225-243.
39. OUTHWAITE, C.W. A preliminary treatment of solute and solvent interactions in the diffuse part of the electric double layer. In: *Can. J. Chem.*, 1981, vol.59, p.1854-1859.
40. ROBINSON, K., LEVINE, S. The discreteness-of-charge effect at charged aqueous interfaces: III. Smoothly varying dielectric constant in inner region at mercury interface. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1973, vol.47, p.395-411.
41. DAVIS, J.A., KENT, D.B. Surface complexation modeling in aqueous geochemistry. In: *Mineral-Water Interface Geochemistry. Reviews in Mineralogy*. Hochella M.F., White A.R. (Eds.). Mineralogical Society of America, Washington, D.C. 1990, vol.23, p.177-260.
42. *Modeling Adsorption Processes: Issues in Uncertainty, Scaling, and Prediction*. Prepared by Criscenti L.J., Eliassi M., Cygan R.T., Colon J.C.F., Goldberg S. Prepared for Division of Systems Analysis and Regulatory Effectiveness. Office of Nuclear Regulatory Research. U.S. Nuclear Regulatory Commission. 2005, Washington, DC 20555-0001.
43. PABALAN, R.T., TURNER, D.R., BERTETTI, F.P., PRIKRYL, J.D. UraniumVI sorption onto selected mineral surfaces: Key geochemical parameters. In: *Adsorption of Metals by Geomedia: Variables, Mechanisms, and Model Applications*. Jenne E.A. (Ed.). 1998. Academic Press, NY, p.99-130.

Prezentat la 24.08.2016

CZU: 541.49: 546.56: 547.497

SINTEZA ȘI STRUCTURA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI(II) CU TIOSEMICARBAZONA ALDEHIDEI 5-(METILENTRIMETILAMONIU)SALICILICE

Angela SÎRBU, Mihail SECU,
Polina BOUROȘ*, Oleg PALAMARCIUC

Universitatea de Stat din Moldova
*Institutul de Fizică Aplicată al AȘM

A fost sintetizată clorura tiosemicarbazonei aldehidei 5-(metilentrimetilamoniu)salicilice în formă de sare ((H₂L)Cl·1.5H₂O), iar la interacțiunea acesteia cu diferite săruri de cupru(II) în mediu neutru au fost obținuți patru compuși cu formulele [Cu(HL)Cl]Cl·2.25H₂O (1), [Cu(HL)(Cl)(NO₃)]·2H₂O (2), [Cu(H₂L)Cl]SO₄·0.75H₂O (3) și [Cu(HL)Cl]₂ClO₄·1.75H₂O (4), ce au fost stabilite cu ajutorul razelor X. Trei compuși ai cuprului sunt compuși ionici, formați din cationul complex [Cu(HL)Cl]⁺ ori [Cu(H₂L)Cl]²⁺, anionii fiind Cl⁻, ClO₄⁻ și SO₄²⁻ respectiv, iar compusul ce conține anionul NO₃⁻ este un complex molecular. Toți compușii conțin molecule de apă de solvatare. Liganzii (HL)⁰/(H₂L)⁺ în 1, 2, 4 / 3 coordinează tridentat prin setul de atomi donori O,N,S în formă de ion bipolar, singur fiind electroneutral, însă conținând două centre ionice (Zwitter-ion) ori în forma sa protonată, respectiv. Raportul molar de combinare Cu:(HL)⁰/(H₂L)⁺ în acești compuși este 1:1. În rezultatul coordinării ligandii organici (HL)⁰/(H₂L)⁺ suferă schimbări conformaționale, iar primii sunt supuși monodeprotonării.

Cuvinte-cheie: compus coordinativ, cupru(II), raze X, tiosemicarbazonă, cation complex, Zwitter-ion.

SYNTHESIS AND STRUCTURE OF COORDINATION COMPOUNDS OF COPPER(II) WITH 5-(METHYLENTRIMETYLAMONIUM)SALICYLALDEHYDE THIOSEMICARBAZONE

5-(methylenetrimehylamonium)salicylaldehyde thiosemicarbazone in salt form ((H₂L)Cl·1.5H₂O) was synthesized, at the interaction of this with various salts of copper(II) in neutral media were obtained four compounds with the formula: [Cu(HL)Cl]Cl·2.25H₂O (1), [Cu(HL)(Cl)(NO₃)]·2H₂O (2), [Cu(H₂L)Cl]SO₄·0.75H₂O (3) and [Cu(HL)Cl]₂ClO₄·1.75H₂O (4), investigated by single crystal X-ray diffraction. It was established that four copper compounds has an ionic form, composed from cationic complex [Cu(HL)Cl]⁺ and [Cu(H₂L)Cl]²⁺, anions Cl⁻, ClO₄⁻ and SO₄²⁻ respectively, for compound with NO₃⁻ anion the complex is molecular. All compounds contain water molecules of solvation. The ligand (HL)⁰/(H₂L)⁺ in 1, 2, 3 / 4 is tridentate coordinated via set of donor atoms O, N, S with the geometry of bipolar ion, where the ligand is electroneutral but contains two ionic centres (Zwitterion) or in its protonated form respectively. The molar ratio of the combination Cu:(HL)⁰/(H₂L)⁺ in these compounds is 1:1. As a result of coordination of organic ligand (HL)⁰/(H₂L)⁺ is not only subjected of monodeprotonation, but also supports conformational changes.

Keywords: coordination compound, copper(II), X-rays, thiosemicarbazones, cationic complex, Zwitterion.

Introducere

Printre substanțele organice folosite în calitate de liganzi un rol important revine tiosemicarbazoneilor, deoarece pentru unele dintre ele au fost stabilite proprietăți biologice valoroase antimicrobiene, antitumorale, antimicotice etc. [1,2]. E cunoscut că fragmentul tiosemicarbazidic coordinează cu metalele prin intermediul (N, S) ca ligand bidentat și doar când în ligand apare o grupare de coordinare adițională se diversifică modurile de coordinare. De exemplu, tiosemicarbazonele sunt antrenate în compușii cu metalele deja ca liganzi tridentati ce coordinează prin setul de atomi (X, N, S), unde X poate fi O sau N [3,4]. Stabilitatea compușilor coordinativi formați de tiosemicarbazonele cu metalele depinde de un șir de factori, cum ar fi natura și caracterul ionului de metal, poziția și tipul substituenților din fragmentul tiosemicarbazidic, inclusiv atomul donor X din fragmentul adițional al ligandului. Prezența grupării fenolice în tiosemicarbazona aldehidei salicilice favorizează coordinarea prin atomul de oxigen. Numeroși complecși metalici ai tiosemicarbazonei aldehidei salicilice și ai derivaților ei au fost preparați și testați anticancer, antibacterial și antimicotic [5-10]. Ca rezultat, s-a observat că activitatea biologică a tiosemicarbazoneilor în stare liberă (necoordinate) este mai puțin pronunțată decât cea a compușilor coordinativi ai metalelor cu acești liganzi. Însă, așa cum compușii în baza tiosemicarbazoneilor au solubilitate mică în apă, problema măririi solubilității poate fi rezolvată prin funcționalizarea agenților de coordinare cu grupări ușor ionizabile. În acest context au fost efectuate lucrări de sinteză a compușilor coordinativi ai cuprului(II) cu clorura tiosemicarbazonei aldehidei 5-(metilentrimehylamoniu)sali-

cilice ((H₂L)Cl). La interacțiunea (H₂L)Cl cu diferite săruri de cupru în mediu neutru au fost obținuți patru compuși cu formulele [Cu(HL)Cl]Cl·2.25H₂O (1), [Cu(HL)(Cl)(NO₃)]·2H₂O (2), [Cu(H₂L)Cl]SO₄·0.75H₂O (3) și [Cu(HL)Cl]ClO₄·1.75H₂O (4), care au fost stabilite cu ajutorul razelor X.

I. Partea experimentală

I.1. Reactivi și metode de cercetare

Reactivii organici și anorganici de calitate superioară (97–99.99%) au fost procurați de la companiile „Sigma-Aldrich”, „Acros Organics” sau „Alfa Aesar”, fiind folosiți în sinteză fără o purificare prealabilă. Sinteza aldehidei 5-(metiltrimetilamoniu)salicilice a fost efectuată conform [11].

Analiza cu raze X

Toate măsurătorile pentru (H₂L)Cl și compușii 1–4 au fost efectuate la difractometre moderne automatizate Bruker Apex II și Xcalibur E, înzestrate cu detector spațial-sensibil CCD, utilizând iradierea *MoKα*, λ=0.71073 Å (monocromatorul fiind din grafit) la temperatura camerei. Datele cristalografice și parametrii ajustării structurii sunt incluse în Tabelul 1. Structura cristalină a acestor compuși a fost determinată prin metode directe, fiind precizată prin metoda celor mai mici pătrate în cadrul complexului de programe *SHELX-97* [12]: precizarea pentru atomii nehidrogenici – în aproximația anizotropică, iar a atomilor de hidrogen – în aproximația izotropică. O parte din moleculele de apă în acești compuși ocupă doar parțial poziția. Pentru unii anioni a fost stabilit gradul de dezordine. Valorile distanțelor interatomice și ale unghiurilor de valență selectate sunt prezentate în Tabelul 2, iar parametrii legăturilor de hidrogen din compușii analizați – în Tabelul 3. Celelalte date (coordonatele atomilor, parametrii deplasărilor anizotropice ș.a.) sunt trimise pentru a fi incluse în Baza de Date Structurale Cambridge sub numerele CCDC 1507191-1507195.

I.2. Sinteza compușilor

Ligandul (H₂L)Cl·1.5H₂O a fost obținut și caracterizat conform [27].

Sinteza compușilor coordinativi: Compușii coordinativi au fost obținuți în urma interacțiunii clorurii tiosemicarbazonei 5-(metiltrimetilamoniu) aldehidei salicilice (H₂L)Cl·1.5H₂O cu sărurile corespunzătoare ale cuprului(II) pentru 1 – clorură, 2 – nitrat, 3 – sulfat, 4 – perclorat în cantități echimolare. Pentru realizarea sintezelor s-a luat 1 mmol de ligand și 1 mmol de sare de cupru(II) corespunzătoare. Asupra amestecului solid s-a adăugat 10 ml apă, suspensia a fost agitată la temperatura de 50°C până la dizolvarea completă a componentelor. La soluția obținută s-a adăugat 30 ml alcool etilic, iar soluția rezultată a fost lăsată pentru evaporare lentă la temperatura camerei. După o săptămână au fost obținute produse cristaline de culoare verde-închis. Cristalele au fost spălate cu alcool etilic și uscate în aer. Randamentul 20–25%.

Tabelul 1

Datele cristalografice, caracteristicile experimentului cu raze X și parametrii precizării structurii compușilor [H₂L]Cl și 1–4

| Compusul | (H ₂ L)Cl·1.5H ₂ O | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---------------------------------------|---|---|---|--|---|
| Formula brută | C ₁₂ H ₂₃ Cl ₁ N ₄ O _{2.50} S ₁ | C ₂₄ H ₄₅ Cl ₄ Cu ₂ N ₈ O _{6.50} S ₂ | C ₁₂ H ₂ Cl ₁ Cu ₁ N ₅ O ₆ S ₁ | C ₂₄ H ₄₁ Cl ₂ Cu ₂ N ₈ O _{11.50} S ₄ | C ₂₄ H ₄₃ Cl ₄ Cu ₂ N ₈ O _{13.5} S ₂ |
| M | 330.85 | 882.68 | 463.40 | 951.87 | 992.66 |
| Singonia | monoclinică | triclinică | triclinică | triclinică | monoclinică |
| Grupul spațial | P ₂ ₁ /n | P-1 | P-1 | P-1 | P ₂ ₁ /n |
| a, Å | 9.0467(2) | 11.7180(4) | 8.9565(6) | 11.6010(7) | 14.0540(12) |
| b, Å | 8.5157(3) | 12.4144(5) | 10.6684(11) | 12.6292(8) | 8.7866(4) |
| c, Å | 21.2527(7) | 14.4822(8) | 12.0136(8) | 14.1606(8) | 33.5797(18) |
| α, grade | 90 | 80.471(4) | 113.779(8) | 97.326(5) | 90 |
| β, grade | 90.7260(10) | 69.420(4) | 101.859(6) | 111.625(6) | 93.022(6) |
| γ, grade | 90 | 79.432(3) | 103.116(7) | 92.211(5) | 90 |
| V, Å ³ | 1637.16(9) | 1927.1(2) | 964.58(13) | 1904.7(2) | 4140.9(5) |
| Z | 4 | 2 | 2 | 2 | 4 |
| ρ _{calc} , g/cm ³ | 1.342 | 1.521 | 1.595 | 1.660 | 1.592 |
| μ, mm ⁻¹ | 0.372 | 1.537 | 1.417 | 1.541 | 1.452 |
| F(000) | 7046 | 910 | 478 | 978 | 2036 |

| Dimensiunile cristalului, mm | 0.1 x 0.1 x 0.1 | 042 x 0.12 x 0.04 | 0.38 x 0.22 x 0.04 | 0.18 x 0.10 x 0.04 | 0.20 x 0.20 x 0.06 |
|---|---|--|---|--|---|
| Compusul | (H ₂ L)Cl·1.5H ₂ O | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Regiunea θ , grade | 2.44 – 25.50 | 2.98 – 25.500 | 3.20 – 25.24 | 2.88 – 25.50 | 2.90 – 25.50 |
| Intervalele indicilor Miller | $-10 \leq h \leq 9$ $-10 \leq k \leq 10$ $-25 \leq l \leq 25$ | $-14 \leq h \leq 14$ $-15 \leq k \leq 13$ $-17 \leq l \leq 17$ | $-10 \leq h \leq 10$ $-12 \leq k \leq 12$ $-14 \leq l \leq 9$ | $-14 \leq h \leq 13$ $-15 \leq k \leq 15$ $-17 \leq l \leq 14$ | $-17 \leq h \leq 16$ $-10 \leq k \leq 7$ $-40 \leq l \leq 23$ |
| Reflexe măsurate / Reflexe independente | 10901/3035 [$R_{int} = 0.0238$] | 11389/7108 [$R_{int} = 0.0338$] | 5426/3478 [$R_{int} = 0.0350$] | 11405/7033 [$R_{int} = 0.0335$] | 14678/7625 [$R_{int} = 0.0903$] |
| Parametri precizați | 191 | 440 | 239 | 485 | 518 |
| GOOF | 1.000 | 1.001 | 1.002 | 1.007 | 0.989 |
| Factorul de divergență R ($I > 2\sigma(I)$) | $R_1 = 0.0489$, $wR_2 = 0.1306$ | $R_1 = 0.0574$, $wR_2 = 0.1351$ | $R_1 = 0.0615$, $wR_2 = 0.1177$ | $R_1 = 0.0691$, $wR_2 = 0.1826$ | $R_1 = 0.0913$, $wR_2 = 0.1057$ |
| Factorul R (pe tot setul de reflexe) | $R_1 = 0.0561$, $wR_2 = 0.1356$ | $R_1 = 0.0960$, $wR_2 = 0.1565$ | $R_1 = 0.1121$, $wR_2 = 0.1423$ | $R_1 = 0.1084$, $wR_2 = 0.2034$ | $R_1 = 0.2398$, $wR_2 = 0.1338$ |
| $\Delta\rho_{max}$, $\Delta\rho_{min}$, $e \cdot \text{\AA}^{-3}$ | 0.682, -0.615 | 0.502, -0.342 | 0.425, -0.336 | 0.558, -0.434 | 0.584, -0.654 |

Tabelul 2

Distanțele interatomice (Å) și unghiurile de valență (°) din poliedrele de coordinare ale compușilor 1–4

| Distanța interatomică | 1 | | 2 | 3 | | 4 | |
|-----------------------|----------|----------|----------|----------|-----------------------|----------|-----------|
| | A | B | | A | B | A | B |
| Cu(1)–O(1) | 1.917(3) | 1.901(4) | 1.916(3) | 1.909(4) | 1.883(5) | 1.930(6) | 1.897(6) |
| Cu(1)–N(3) | 1.958(4) | 1.968(4) | 1.959(4) | 1.961(6) | 1.962(6) | 1.949(7) | 1.941(7) |
| Cu(1)–S(1) | 2.275(1) | 2.268(2) | 2.256(2) | 2.243(2) | 2.256(2) | 2.254(3) | 2.263(3) |
| Cu(1)–Cl(1) | 2.246(1) | 2.249(2) | 2.253(1) | 2.237(2) | 2.248(3)/ 2.15(1) | 2.249(2) | 2.252(3)) |
| Unghiul de valență | 1 | | 2 | 3 | | 4 | |
| | A | B | | A | B | A | B |
| O(1)–Cu(1)–N(3) | 91.7(1) | 92.3(2) | 92.0(1) | 92.6(3) | 91.5(2) | 92.4(3) | 92.1(3) |
| O(1)–Cu(1)–S(1) | 177.4(1) | 177.4(1) | 178.1(1) | 176.4(2) | 175.8(2) | 177.1(2) | 178.1(2) |
| O(1)–Cu(1)–Cl(1) | 91.1(1) | 90.8(1) | 90.8(1) | 92.3(2) | 87.1(2)/ 93.6(4) | 90.7(2) | 91.6(2) |
| N(3)–Cu(1)–S(1) | 86.3(1) | 85.3(1) | 86.1(1) | 85.8(2) | 86.7(2) | 85.9(3) | 86.1(2) |
| N(3)–Cu(1)–Cl(1) | 168.8(1) | 175.8(1) | 171.3(1) | 173.5(2) | 170.6(2)/ 163.2(4) | 174.4(2) | 169.6(2) |
| S(1)–Cu(1)–Cl(1) | 91.17(5) | 91.66(6) | 91.08(6) | 89.48(8) | 95.68(9)/ 87.5(3) | 91.2(1) | 90.30(10) |

Tabelul 3

Parametrii legăturilor de hidrogen liniari (Å) și unghiulari (°) din [H₂L]Cl·1.5H₂O și 1–4

| D–H...A | D(H...A) | D(D...A) | ∠(D–H...A) | Transformarea simetrică pentru acceptor |
|---|----------|----------|------------|---|
| [H₂L]Cl·1.5H₂O | | | | |
| N(1)–H(1)...Cl(1) | 2.82 | 3.435(2) | 134 | $-x-1/2, y+1/2, -z+3/2$ |
| N(1)–H(2)...Cl(1) | 2.63 | 3.314(2) | 163 | x, y, z |
| N(2)–H(1)...S(1) | 2.54 | 3.367(2) | 155 | $-x-1, -y, -z+1$ |
| O(1)–H(1)...O(1W) | 1.85 | 2.663(3) | 172 | x, y, z |
| O(1W)–H(1)...Cl(1) | 2.26 | 3.098(2) | 164 | $x+1/2, -y+1/2, z-1/2$ |
| O(1W)–H(2)...Cl(1) | 2.30 | 3.136(2) | 168 | $-x, -y, -z+1/2$ |
| O(2W)–H(1)...Cl(1) | 2.14 | 3.021(5) | 172 | x, y, z |
| O(2W)–H(2)...S(1) | 2.40 | 3.240(5) | 162 | x, y, z |
| 1 | | | | |
| N(1A)–H(1)...Cl(3) | 2.58 | 3.338(5) | 147 | x, y, z |
| N(1A)–H(2)...O(5W) | 2.01 | 2.865(5) | 177 | $x+1, y, z$ |
| N(2A)–H(1)...Cl(3) | 2.28 | 3.104(4) | 162 | x, y, z |
| N(1B)–H(1)...Cl(4C) | 2.05 | 2.78(2) | 142 | x, y, z |
| N(1B)–H(1)...Cl(4A) | 2.31 | 3.15(1) | 166 | x, y, z |
| N(1B)–H(1)...Cl(4) | 2.60 | 3.454(7) | 176 | x, y, z |
| N(1B)–H(1)...Cl(4D) | 2.68 | 3.46(2) | 151 | x, y, z |
| N(1B)–H(2)...O(2W) | 2.01 | 2.859(6) | 168 | $x, y+1, z$ |
| N(2B)–H(1)...O(5W) | 2.39 | 3.036(6) | 132 | x, y, z |
| N(2B)–H(1)...Cl(4C) | 2.47 | 3.10(2) | 131 | x, y, z |
| N(2B)–H(1)...Cl(4D) | 2.60 | 3.40(2) | 154 | x, y, z |
| N(2B)–H(1)...Cl(4A) | 2.82 | 3.54(1) | 143 | x, y, z |
| O(1W)–H(1)...O(1A) | 2.10 | 2.849(5) | 165 | $-x+2, -y+2, -z+1$ |
| O(1W)–H(1)...Cl(1) | 2.99 | 3.483(4) | 125 | $-x+2, -y+2, -z+1$ |
| O(1W)–H(2)...Cl(3) | 2.36 | 3.196(5) | 171 | x, y, z |
| O(2W)–H(1)...O(3W) | 1.76 | 2.748(6) | 175 | x, y, z |
| O(2W)–H(2)...Cl(1) | 2.33 | 3.162(5) | 143 | $x, y-1, z$ |
| O(3W)–H(1)...O(1B) | 2.16 | 3.058(7) | 172 | x, y, z |
| O(3W)–H(2)...O(4W) | 2.12 | 2.827(8) | 136 | x, y, z |
| O(4W)–H(1)...Cl(4) | 2.39 | 3.237(8) | 179 | $x+1, y-1, z$ |
| O(4W)–H(1)...Cl(4D) | 2.89 | 3.69(2) | 157 | $x+1, y-1, z$ |
| O(4W)–H(1)...Cl(4A) | 2.92 | 3.77(1) | 176 | $x+1, y-1, z$ |
| O(4W)–H(2)...Cl(3) | 2.25 | 3.162(5) | 153 | x, y, z |
| O(5W)–H(1)...Cl(4A) | 2.26 | 2.99(1) | 121 | x, y, z |
| O(5W)–H(1)...Cl(4C) | 2.64 | 3.42(2) | 127 | x, y, z |
| O(5W)–H(2)...O(1W) | 1.63 | 2.727(6) | 170 | $-x+2, -y+2, -z+1$ |
| 2 | | | | |
| N(1)–H(1)...O(2) | 2.04 | 2.883(6) | 169 | $-x+1, -y+2, -z+1$ |
| N(1)–H(2)...O(1W) | 1.98 | 2.839(5) | 177 | x, y, z |
| N(2)–H(1)...O(4) | 1.99 | 2.823(5) | 162 | $-x+1, -y+2, -z+1$ |
| O(1W)–H(1)...Cl(1) | 2.33 | 3.148(4) | 155 | $-x+1, -y+3, -z+2$ |
| O(1W)–H(2)...O(3W) | 2.14 | 2.671(7) | 123 | x, y, z |
| O(1W)–H(2)...O(2W) | 2.26 | 2.767(7) | 121 | x, y, z |
| O(2W)–H(1)...O(1) | 1.95 | 2.804(5) | 166 | $x+1, y+1, z$ |
| O(2W)–H(2)...O(4) | 2.69 | 3.321(9) | 133 | $x, y+1, z$ |
| O(3W)–H(1)...O(1W) | 1.92 | 2.671(6) | 144 | x, y, z |
| O(3W)–H(2)...Cl(1) | 2.84 | 3.303(5) | 116 | $x+1, y+1, z$ |

| 3 | | | | |
|--------------------|-------|-----------|-----|------------------------|
| O(1A)–H(1)···O(1W) | 2.102 | 3.007(9) | 174 | $-x+1, -y+2, -z+1$ |
| N(1A)–H(1)···O(1) | 2.02 | 2.848(8) | 161 | x, y, z |
| N(1A)–H(2)···O(4) | 2.15 | 2.981(7) | 161 | $-x+1, -y+3, -z+1$ |
| N(2A)–H(1)···O(3) | 2.15 | 2.936(8) | 151 | x, y, z |
| O(1B)–H(1)···O(2W) | 2.14 | 2.899(10) | 173 | $-x, -y+2, -z+1$ |
| N(1B)–H(1)···O(6) | 2.00 | 2.855(9) | 172 | x, y, z |
| N(1B)–H(2)···O(7A) | 2.01 | 2.74(7) | 142 | $-x, -y+3, -z$ |
| N(1B)–H(2)···O(7) | 2.08 | 2.911(9) | 162 | $-x, -y+3, -z$ |
| N(2B)–H(1)···O(6A) | 1.82 | 2.68(4) | 176 | x, y, z |
| N(2B)–H(1)···O(8) | 2.02 | 2.812(9) | 152 | x, y, z |
| O(1W)–H(1)···O(2W) | 1.82 | 2.67(1) | 180 | x, y, z |
| O(1W)–H(2)···O(3) | 2.01 | 2.771(9) | 172 | x, y, z |
| O(2W)–H(1)···Cl(1) | 2.96 | 3.803(9) | 180 | $-x+1, -y+2, -z+1$ |
| O(2W)–H(2)···O(6A) | 2.55 | 3.21(4) | 148 | $x, y, z+1$ |
| 4 | | | | |
| N(1A)–H(1)···Cl(1) | 2.45 | 3.304(7) | 176 | $-x+2, -y+1, -z+2$ |
| N(1A)–H(2)···O(3W) | 1.94 | 2.80(3) | 172 | x, y, z |
| N(1A)–H(2)···O(7W) | 2.24 | 2.09(3) | 172 | x, y, z |
| N(2A)–H(1)···O(6W) | 2.25 | 3.01(2) | 147 | x, y, z |
| N(2A)–H(1)···O(2W) | 2.31 | 3.08(2) | 150 | x, y, z |
| N(1B)–H(1)···Cl(2) | 2.39 | 3.199(7) | 157 | $x, y+1, z$ |
| N(1B)–H(2)···O(6) | 2.16 | 2.93(2) | 157 | x, y, z |
| N(1B)–H(2)···Cl(4) | 2.92 | 3.753(8) | 164 | x, y, z |
| N(2B)–H(1)···O(5W) | 1.86 | 2.68(2) | 158 | x, y, z |
| N(2B)–H(1)···O(1W) | 1.93 | 2.76(1) | 160 | x, y, z |
| O(1W)–H(1)···Cl(1) | 2.84 | 3.65(1) | 151 | $x, y-1, z$ |
| O(1W)–H(2)···Cl(2) | 2.61 | 3.51(1) | 174 | $x, y+1, z$ |
| O(2W)–H(1)···O(1W) | 2.19 | 3.12(3) | 170 | x, y, z |
| O(2W)–H(2)···O(2) | 2.17 | 3.03(3) | 173 | x, y, z |
| O(3W)–H(1)···O(4W) | 2.27 | 3.19(4) | 156 | $-x+1, -y+1, -z+2$ |
| O(4W)–H(1)···O(4) | 2.10 | 2.95(2) | 159 | x, y, z |
| O(4W)–H(1)···Cl(3) | 2.88 | 3.77(2) | 170 | x, y, z |
| O(4W)–H(2)···O(5) | 2.32 | 3.20(9) | 160 | $x-1/2, -y+1/2, z-1/2$ |
| O(5W)–H(1)···Cl(2) | 2.80 | 3.67(2) | 155 | $-x+2, -y, -z+2$ |
| O(5W)–H(2)···O(1B) | 2.05 | 2.82(2) | 151 | $x, y+1, z$ |
| O(6W)–H(2)···O(1A) | 2.11 | 2.94(2) | 169 | $x, y-1, z$ |
| O(6W)–H(2)···O(2) | 2.23 | 3.05(2) | 173 | x, y, z |
| O(7W)–H(1)···Cl(2) | 2.45 | 3.30(5) | 155 | $x, y+1, z$ |
| O(8W)–H(1)···O(4) | 2.13 | 3.09(4) | 179 | x, y, z |
| O(8W)–H(1)···Cl(3) | 2.74 | 3.61(4) | 151 | x, y, z |
| O(8W)–H(2)···O(5) | 2.14 | 3.01(4) | 172 | $x-1/2, -y+1/2, z-1/2$ |
| O(8W)–H(2)···Cl(4) | 2.99 | 3.77(4) | 150 | |

II. Rezultate și discuții

Studiul cu raze X al monocristalelor clorurii tiosemicarbazonei aldehidei 5-(metiltrimetilamoniu)Salicilice a stabilit că acest compus cristalizează în formă de sare, având formula $(H_2L)Cl \cdot 1.5H_2O$, în care sarcina cationului organic $(H_2L)^+$ este compensată de cea a anionului Cl^- . Structura compusului și notația atomilor este prezentată în Figura 1. O analiză a Bazei de Date Structurale Cambridge (BDSC) [13] a evidențiat circa

300 de tiosemicarbazone. Conformația fragmentului tiosemicarbazidic din $(H_2L)^+$ a stabilit că ea este similară cu cea din tiosemicarbazonele necoordinate [14-17] având *cis*-poziționarea atomilor terminali de azot în raport cu legătura centrală N–C. În formă de cation organic în BDSC au fost depistate tiosemicarbazone conținând piridinium și diverși anioni, cum ar fi Cl^- ori ClO_4^- [18-22]. O analiză comparativă a distanțelor interatomice din fragmentul tiosemicarbazidic al $(H_2L)^+$ (S(1)–C(1), N(1)–C(1), N(2)–C(1), N(2)–N(3) și N(3)–C(2) (Tab.2) cu cele din [18] (1.688, 1.311, 1.356, 1.361 Å), [19] (1.272, 1.675, 1.275, 1.382, 1.358 și 1.284 Å) ori [20] (1.697, 1.313, 1.350, 1.365 și 1.287 Å) indică o delocalizare a densității electronice.

În cristalul ligandului în stare necoordinată $(H_2L)Cl \cdot 1.5H_2O$ cationii organici simetrici C_i sunt legați între ei în dimeri prin legături de hidrogen N(3)–H...S(1) (Tab. 3, Fig. 2), iar prin intermediul interacțiunilor fine de tipul $\pi \cdots \pi$ (distanța dintre centrele aromatice fiind 3.521 Å) ultimii se unesc în lanțuri. Anionul Cl^- și moleculele de apă de solvatare unesc în cristal aceste lanțuri într-un sistem 3D, așa cum atomul Cl(1) este antrenat ca acceptor de proton în șase legături de hidrogen atât de tipul N–H...Cl și O(W)–H...Cl (Tab. 3), cât și de tipul C–H...Cl (C(11)–H...Cl(1)* (C...Cl 3.503 Å, H...Cl 2.73 Å, unghiul CHCl 138°), iar moleculele de apă sunt antrenate la formarea legăturilor de hidrogen atât ca donori de proton în O(W)–H...Cl și O(W)–H...S, cât și ca acceptori în O(1)–H...O(1W) (Tab. 3).

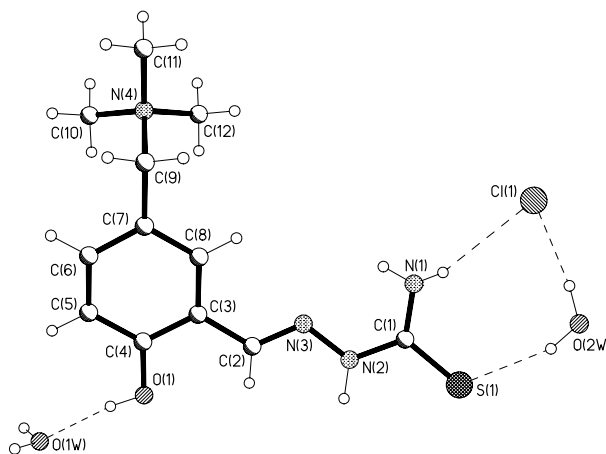


Fig.1. Structura componentelor cristalografic independente din $(H_2L)Cl \cdot 1.5H_2O$.

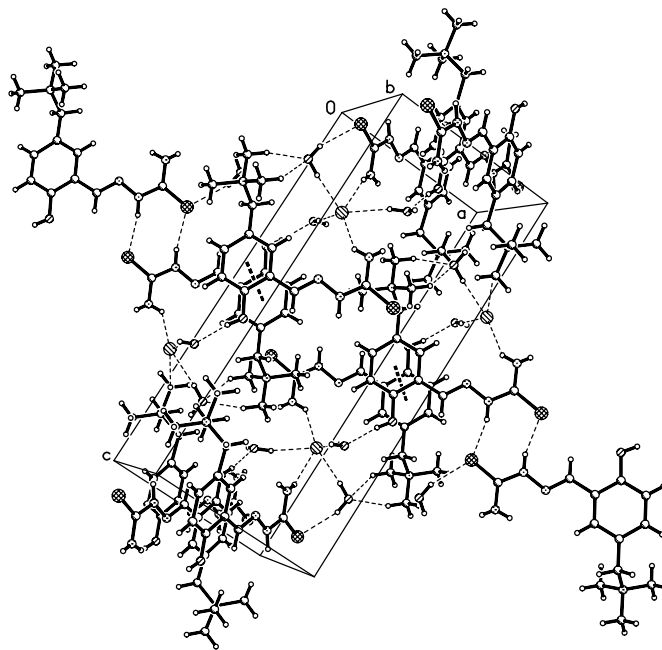


Fig.2. Un fragment din structura cristalină a compusului $(H_2L)Cl \cdot 1.5H_2O$.

La interacțiunea $(H_2L)Cl \cdot 1.5H_2O$ cu diferite săruri de cupru(II) în medii neutre au fost obținuți patru compuși cu formulele $[Cu(HL)Cl]Cl \cdot 2.25H_2O$ (**1**), $[Cu(HL)(Cl)(NO_3)] \cdot 2H_2O$ (**2**), $[Cu(H_2L)Cl]SO_4 \cdot 0.75H_2O$ (**3**) și $[Cu(HL)Cl]ClO_4 \cdot 1.75H_2O$ (**4**) de culoare verde-intens, solubili în apă, alcool etilic, insolubili în eter dietilic. Cristale în fază monocristalină pentru acești compuși au fost obținute prin evaporarea lentă din amestec apă:etanol (1:3).

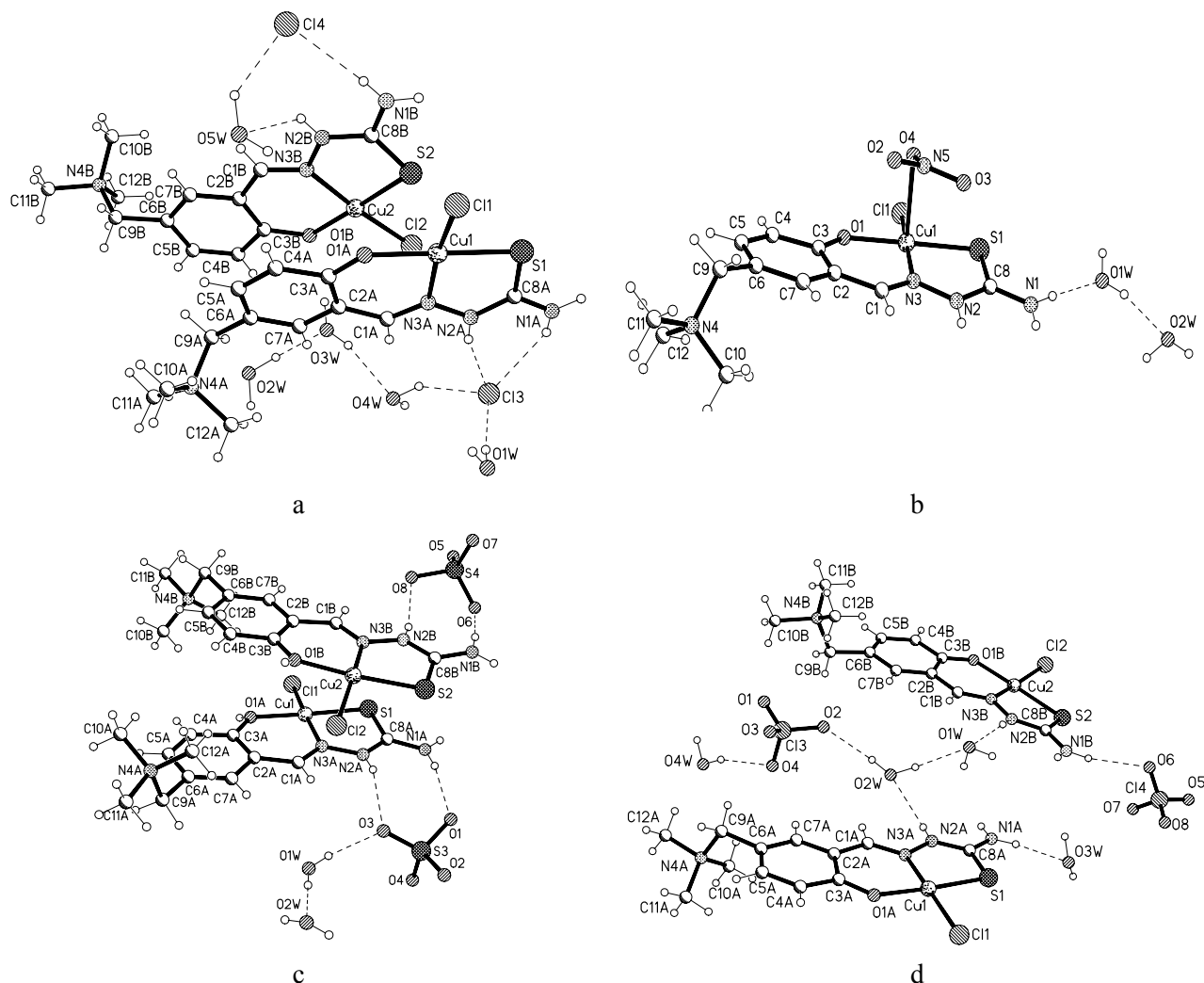


Fig.3a-d. Componentele cristalografic independente din cristalele compușilor de Cu(II) 1–4.

În pofida faptului că liganzii organici $(HL)^0/(H_2L)^+$ pot coordina tridentat la atomul de metal, atât compoziția compușilor obținuți, cât și forma poliedrului de coordinare al metalului, ce poate fi anticipată ca plan-pătratică, și modul de împachetare, care mult este influențat de anionul anorganic utilizat, rămân probleme nesoluționate. Studiul cu raze X a stabilit că raportul molar cupru : ligand organic în compușii finali 1–4 este 1:1. Liganzii organici $(HL)^0/(H_2L)^+$ în acești compuși ai Cu(II) coordinează tridentat prin setul de atomi donori O, N, S în formă de ion bipolar, singur ligandul fiind electroneutral, însă conținând două centre ionice (Zwitter-ion) în **1**, **2**, **4** și în forma sa protonată în **3**. În rezultatul coordinării liganzii organici $(HL)^0/(H_2L)^+$ suferă schimbări conformaționale, fapt ce le-au permis acestor liganzi să coordineze prin setul ONS, formând cu Cu(II) două cicluri metalice chelate asociate: unul format din șase membri ($CuOCCCN$), iar celălalt din cinci membri ($CuNNCS$) (Fig. 3a–d). Ca urmare, în $(HL)^0/(H_2L)^+$ a avut loc o rotire în jurul legăturii simple centrale N–C din fragmentul tiosemicarbazidic. Aici se poate menționa că acest mod de coordinare a tiosemicarbazonelor cu antrenarea atomului de sulf se păstrează în compușii de Cu(II) cu tiosemicarbazonele aldehidei salicilice [23–25], însă nu se păstrează doar în compusul de molibden(VI) cu tiosemicarbazona aldehidei salicilice [26] și în majoritatea compușilor cu tiosemicarbazonele alchilate [13]. Poliedrul de coor-

dinare a cuprului este completat până la plan-pătratic de anionul de clorură. Distanțele interatomice Cu–Cl, Cu–S, Cu–N și Cu–O în **1–4** sunt în intervalele 2.237(2) – 2.253(1) Å, 2.244(2) – 2.275(1) Å, 1.941(7) – 1.968(4) Å și 1.887(5) – 1.930(6) Å, respectiv, (Tab. 2) și corespund cu cele stabilite în compușii de Cu(II) cu tiosemocarbazonă, având ca ion coordinat Cl⁻: Cu–Cl, Cu–S, Cu–N și Cu–O sunt egale, respectiv, cu 2.267, 2.226, 1.956, 1.887 Å pentru A [23], 2.262, 2.232, 1.966, 1.886 Å pentru B [23] și 2.266, 2.266, 1.951, 1.918 Å pentru compusul din [24].

O analiză mai riguroasă a distanțelor interatomice metal-ligand în **1–4** a stabilit pentru unii atomi de metal o apropiere a unor atomi donori din compușii de Cu(II) vecini ori din anionul anorganic, fapt ce poate permite descrierea poliedrului de coordinare având forma unei piramide pătratică, iar numărul de coordinare rezultând în 4+1.

Astfel, în **1**, în cristal fiind atât doi cationi [Cu(HL)Cl]⁺ A și B și doi anioni din sfera externă a complexului Cl⁻ (Cl(3) și Cl(4)) cristalografic independenți, cât și molecule de apă de solvatare (Fig. 3a), cei doi cationi complecși (A și B) se unesc în dimeri prin legătura Cu(1)⋯S(2) (distanța donor⋯acceptor 3.026 Å (Fig. 4). Ca urmare, pentru Cu(1) avem numărul de coordonare 4+1, iar pentru Cu(2) – 4; formula compusului ar fi mai corectă [Cu(HL)Cl]₂Cl₂·4.5H₂O. În rezultatul împachetării componentelor în cristal distanțele interatomice Cu⋯Cu sunt în intervalul 4.245 – 4.340 Å. Sistemul complicat de legături de hidrogen, în care ca donor de proton sunt antrenate grupările amine și amide din cationii complecși și moleculele de apă de solvatare, iar în calitate de acceptori – ionii Cl⁻ coordinați și cei din sfera externă, atomii de oxigen din cationii complecși și moleculele de apă de solvatare (Tab. 3), inclusiv interacțiunile fine de tipul C–H⋯Cl, unesc componentele într-o rețea tridimensională. Din fragmentul structurii cristaline prezentat în Figura 4 se evidențiază formarea din moleculele de solvatare și anionii de Cl⁻ necoordinați la metal în cristalul **1** a sintonilor supramoleculari R¹⁰₆(20) ce unesc dimerii între ei în lanțuri.

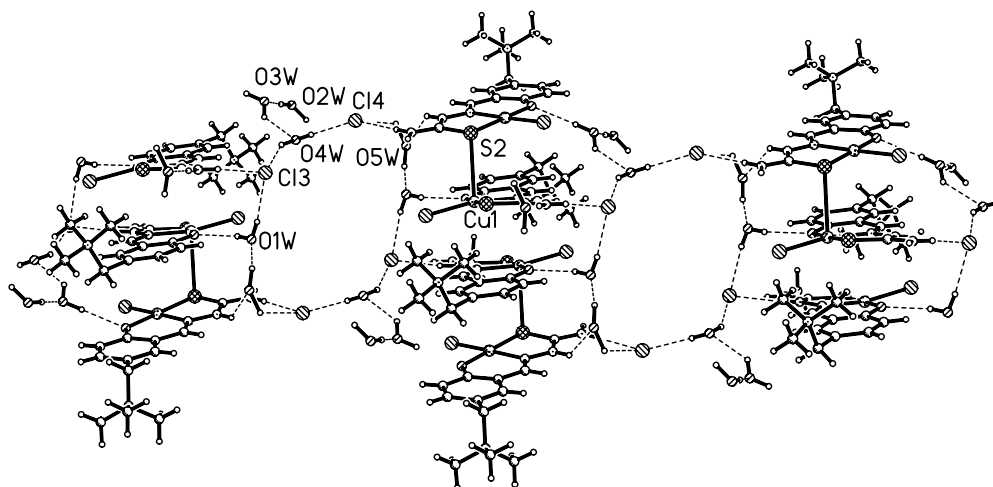


Fig.4. Un fragment din structura cristalină a compusului **1** cu evidențierea sintonilor supramoleculari R¹⁰₆(20) ce unesc dimerii între ei în lanțuri.

În celula elementară a cristalului **2** sunt împachetați complecși moleculari [Cu(HL)(Cl)(NO₃)] și mai multe molecule de apă de solvatare (Fig. 3b). Numărul de coordonare pentru Cu(1) din cationul complex este 4+1, poliedrul de coordonare fiind format nu doar din setul de atomi donori ONS ai ligandului HL și de ionul Cl⁻ coordinat, dar și de atomul O(3) al anionului NO₃⁻, distanța interatomică Cu(1)⋯O(3) fiind 2.818 Å. Ca urmare, natura acestui compus e puțin deosebită de cea din **1**, deoarece compusul dat este un compus coordinativ molecular. În cristal ultimul se unește în unități centrosimetrice dimerice prin intermediul legăturilor de hidrogen N–H⋯O (Fig. 5a), în care sunt antrenate ca donori grupările –NH₂ și =NH ale ligandului HL dintr-un complex, iar ca acceptori – atomii de oxigen din anionul NO₃⁻ coordinat, aparținând complexului vecin, formând sintoni R²₂(8). Aceste unități dimerice se unesc în lanțuri prin legături de hidrogen, la formarea cărora sunt antrenate moleculele de apă de solvatare (Fig. 5b). Un sistem complicat de legături de hidrogen (Tab. 3), inclusiv și cele de tipul C–H⋯S, unesc componentele într-o rețea tridimensională.

În **3**, în cristal sunt stabiliți doi cationi complecși $[\text{Cu}(\text{HL})\text{Cl}]^+$ A și B și doi anioni anorganici SO_4^{2-} în sfera externă cristalografic independenți, precum și molecule de apă de solvatare (Fig. 3c). Aici, pentru cationii A și B nu s-a stabilit nicio apropiere între ei și nici cu alte componente donore din cristal, cele mai „mici” distanțe fiind $\text{Cu}(2)\cdots\text{N}(2a)$ și $\text{Cu}(2)\cdots\text{N}(3a)$ egale cu 3.554 și 3.569 Å, respectiv. În cristal cationii complecși A și B se unesc cu anionii anorganici în sintoni $R^2_2(8)$ prin intermediul legăturilor de hidrogen $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$ (Fig. 6), în care sunt antrenate ca donori grupările $-\text{NH}_2$ și $=\text{NH}$ ale liganzilor HL, iar ca acceptori – atomii de oxigen din anionii SO_4^{2-} . Sistemul complicat de legături de hidrogen, în care ca donori de proton sunt antrenate grupările amine și amide din cationii complecși și moleculele de apă de solvatare, iar în calitate de acceptori – ionii Cl^- coordinați și cei SO_4^{2-} în sfera externă, atomii de oxigen din cationii complecși și moleculele de apă de solvatare (Tab. 3), inclusiv interacțiunile fine de tipul $\text{C}-\text{H}\cdots\text{Cl}$, unesc componentele într-o rețea tridimensională.

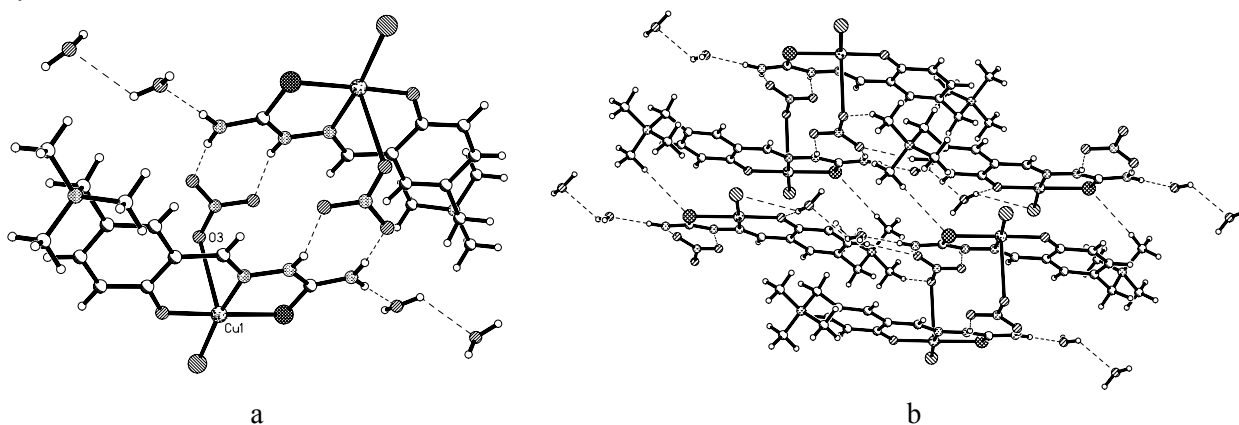


Fig.5a,b. Fragmente din structura cristalină a compusului **2** cu evidențierea dimerului *via* legături de hidrogen.

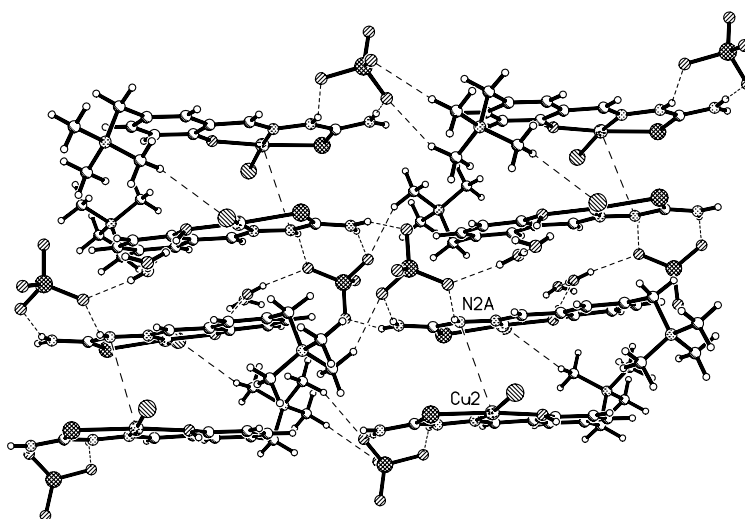


Fig.6. Un fragment din structura cristalină a compusului **3** cu evidențierea modului de împachetare a componentelor.

În **4**, în cristal fiind atât doi cationi complecși $[\text{Cu}(\text{HL})\text{Cl}]^+$ A și B și doi anioni ClO_4^- în sfera externă cristalografic independenți, cât și molecule de apă de solvatare (Fig. 3d), cei doi cationi complecși (A și B) se unesc în dimeri prin legătura $\text{Cu}(2)\cdots\text{S}(1)$ (distanța donator...acceptor 3.028 Å (Fig. 7). Ca urmare, pentru Cu(1) avem numărul de coordinare 4, pentru Cu(2) – 4+1, iar formula compusului ar fi mai corectă $[\text{Cu}(\text{HL})\text{Cl}]_2(\text{ClO}_4)_2 \cdot 3.5\text{H}_2\text{O}$. În cristal, distanțele interatomice $\text{Cu}\cdots\text{Cu}$ sunt egale cu 4.025 și 4.290 Å. Sistemul complicat de legături de hidrogen, în care ca donori de proton sunt antrenate grupările amine și amide din cationii complecși și moleculele de apă de solvatare, iar în calitate de acceptori – ionii Cl^- coordinați și

cei de oxigen din anionii din sfera externă, atomii de oxigen din cationii complecși și moleculele de apă de solvatare (Tab. 3), inclusiv interacțiunile fine de tipul C–H...Cl unesc componentele într-o rețea tridimensională. Din analiza sistemului de legături de hidrogen din **4** (Tab. 3) și din fragmentul structurii cristaline prezentate în Figura 7 se evidențiază că în acest cristal nu are loc formarea sintonilor în care ar fi antrenate ca donori grupările –NH₂ și =NH ale liganzilor HL, iar ca acceptori – atomii de oxigen din anionii ClO₄⁻. Doar în acest compus se evidențiază asamblarea prin legături de hidrogen N–H...Cl a cationilor A între ei și B între ei, respectiv.

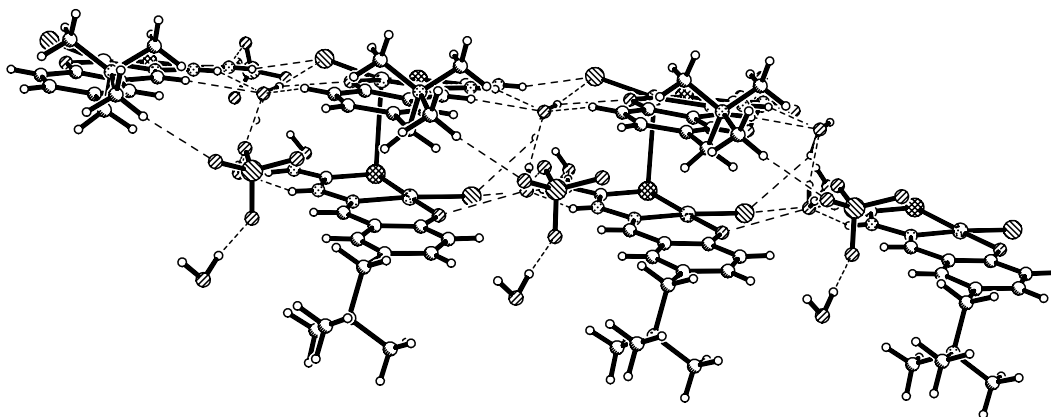


Fig.7. Un fragment din structura cristalină a compusului **4** cu evidențierea unităților dimerice.

Concluzii

La interacțiunea clorurii tiosemicarbazonei aldehidei 5-(metiltrimetilamoniu)salicilice ([H₂L]Cl) cu diferite săruri de cupru(II) în mediu neutru au fost obținuți patru compuși noi cu formulele generale [Cu(HL)Cl]Cl·2.25H₂O (**1**), [Cu(HL)(Cl)(NO₃)]·2H₂O (**2**), [Cu(H₂L)Cl]SO₄·0.75H₂O (**3**) și [Cu(HL)Cl]ClO₄·1.75H₂O (**4**). Studiul cu raze X pentru acești patru compuși ai cuprului a stabilit că trei din ei sunt compuși ionici, formați din cationul complex [Cu(HL)Cl]⁺ ori [Cu(HL)Cl]²⁺, anionii din sfera externă fiind Cl⁻, ClO₄⁻ și SO₄²⁻ respectiv, iar cel ce conține anionul NO₃⁻ este compus complex molecular. Analiza împachetării componentelor în cristale pune în evidență o apropiere de atomul central Cu(II) ori a doi cationi complecși, ori a unui anion din sfera externă, ceea ce a permis o formulare mai corectă a compoziției compușilor: [Cu(HL)Cl]₂Cl₂·4.5H₂O, [Cu(HL)(Cl)(NO₃)]·2H₂O, [Cu(H₂L)Cl]SO₄·0.75H₂O și [Cu(HL)Cl]₂(ClO₄)₂·3.5H₂O. Liganzii (HL)⁰/(H₂L)⁺ în **1**, **2**, **4** / **3** respectiv coordinează tridentat prin setul de atomi donori O, N, S în formă de ion bipolar, singur ligandul fiind electroneutral, însă conținând două centre ionice (Zwitter-ion) ori în forma sa protonată, respectiv. Raportul molar de combinare Cu:(HL)⁰/(H₂L)⁺ în acești compuși este 1:1. În rezultatul coordinării liganzii organici (HL)⁰/(H₂L)⁺ suferă schimbări conformaționale, iar primii sunt supuși monodeprotonării.

Referințe:

- WEST, D.X., PADHYE, S.B., SONAWANE, P.B. Structural and physical correlation in the biological properties of transition metal N-heterocyclic thiosemicarbazones and S-alkyldithiocarbamate complexes. In: *Struc. Bonding* (Berlin), 1991, vol.76, p.1-50.
- KNOX, J.J. et al. Phase II study of Triapine in patients with metastatic renal cell carcinoma: a trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCIC IND.161). In: *Invest. New Drugs*, 2007, vol.25, p.471-477.
- WEST, D.X. et al. Thiosemicarbazone complexes of copper(II): structural and biological studies. In: *Coord. Chem. Rev.*, 1993, vol.123, p.49-71.
- PADHYE, S., KAUFMANN, G.B. Transition metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. In: *Coord. Chem. Rev.*, 1985, vol.63, p.127-160.
- LOBANA, T.S. et al. Metal derivatives of N1-substituted thiosemicarbazones with divalent metal ions (Ni, Cu): Synthesis and structures. In: *Polyhedron*, 2010, vol.29, p.1130-1136.
- MANGALAM, N.A., KURUP, M.R.P. Synthesis and spectral investigations of vanadium(IV/V) complexes derived from an ONS donor thiosemicarbazone ligand. In: *Spectrochim. Acta, Part A*, 2009, vol.71, p.2040-2044.
- CHELLAN, P. et al. Synthesis and in vitro evaluation of palladium(II) salicylaldiminato thiosemicarbazone complexes against *Trichomonas vaginalis*. In: *J. Inorg. Biochem.*, 2011, vol.105, p.1562-1568.

8. KALAIVANI, P. et al. DNA, protein binding, cytotoxicity, cellular uptake and antibacterial activities of new palladium(II) complexes of thiosemicarbazone ligands: effects of substitution on biological activity. In: *Metallomics*, 2012, vol.4, p.101-113.
9. LALY, S., PARAMESWARAN, G. Thermal, spectral, ESR and magnetic studies of some copper(II) thiosemicarbazone complexes. In: *Thermochim. Acta*, 1990, vol.168, p.43-51.
10. GULEA, A. et al. In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: Chemical synthesis and structure – activity relationships. In: *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2008, vol.23, p.806-818.
11. CHUNHUI, H. et al. Cleavage of C–S bonds with the formation of a tetranuclear Cu(I) cluster. In: *Inorg. Chem.*, 2007, no46, p.5537-5543.
12. SHELDRIE, G.M. A short history of SHELX. In: *Acta Crystallogr. A.*, 2008, vol.64, no1, p.112-122.
13. ALLEN, F.H., JANSEN, M. Structural relationships between cations and alloys; an equivalence between oxidation and pressure. In: *Acta Crystallogr. B.*, 2002, vol.58, p.38-51.
14. KRAVTSOV, V.Kh. et al. The crystal and molecular-structure of thiosemicarbazone hemihydrate of pyroracemic anilide. In: *Kristallografia (Russ.)*, 1982, vol.27, p.74-80.
15. VRDOLJAK, V. et al. Synthesis and characterisation of thiosemicarbazonato molybdenum(VI) complexes and their in vitro antitumor activity. In: *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, vol.45, p.38-48.
16. BOUROSH, P.N. et al. Molecular and crystal structure of quinoline-2-aldehyde thiosemicarbazone. In: *J. Strukt. Him. (Russ.)*, 2009, vol.50, p.532-535.
17. CHUMAKOV, Yu.M., BYUSHKIN, V.N., BODYU V.G. Structure of 8-quinolinaldehyde thiosemicarbazone, In: *J. Strukt. Him. (Russ.)*, 1985, vol.26, p.114-119.
18. ENYEDY, E.A. et al. Comparative solution equilibrium study of the interactions of copper(II), iron(II) and zinc(II) with triapine (3-aminopyridine-2-carbaldehyde thiosemicarbazone) and related ligands. În: *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2010, p.1717-1728.
19. KURODA, R., NEIDLE, S., WILMAN, D.E.V. The structure of 5-amino-4-methyl-1-iso-quinolinecarbaldehyde thiosemicarbazone hydrochloride, C₁₂H₁₄N₅S⁺Cl⁻. În: *Acta Crystallogr., C*, 1984, vol.40, p.465-467.
20. IVKOVIC, S.A. et al. Transition metal complexes with thiosemicarbazide-based ligands. Part 61. Comparative analysis of structural properties of the pyridoxal thiosemicarbazone ligands. Crystal structure of PLTSC·HCl·2H₂O and its complex [Fe(PLTSC)Cl₂(H₂O)]Cl. În: *Struct. Chem.*, 2015, vol.26, p.269-277.
21. MORSALI, A. et al. Crystal structure of pyridine-2-carbaldehyde thiosemicarbazonium perchlorate, (C₇H₉N₄S)(ClO₄). În: *Z. Kristallogr.-New Cryst. Struct.*, 2001, vol.216, p.607-608
22. SMOLENTSEV, A.I. et al. Crystal structures of pyridine-4-aldehyde thiosemicarbazone perchlorate and trifluoromethane sulfonate. În: *J. Strukt. Him. (Russ.)*, 2009, vol.50, p.522-526.
23. SEN, S. et al. Structural and spectral studies of a new copper(II) complex with a tridentate thiosemicarbazone ligand. În: *Struct. Chem.*, 2008, vol.19, p.137-142.
24. MILUNOVIC, E. M.N.M. et al. L- and D-proline thiosemicarbazone conjugates: coordination behavior in solution and the effect of copper(II) coordination on their antiproliferative activity. În: *Inorg. Chem.*, 2012, vol.51, p.9309-9321.
25. CHUMAKOV, Yu.M. et al. Crystal structure of copper sulfate and thiocyanate complexes with 5-bromo-and 5-nitrosalicylaldehyde thiosemicarbazones. În: *Koord. Khim. (Russ.)*, 2008, vol.34, p.44-52.
26. CINDRIC, M. et al. Synthesis and characterization of some mono- and dinuclear molybdenum(VI) thiosemicarbazonato complexes. În: *Polyhedron*, 2005, vol.24, p.369-376.
27. SÎRBU, A. Spectrophotometric study of coordinative compounds of cobalt(II), nickel(II) and copper(II) with 5-(methylenetrimethylamonium)salicylaldehyde thiosemicarbazone. In: *Studia Universitatis Moldaviae*, 2016, nr.1, vol.91, p.149-155.

Notă: Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului instituțional 15.817.02.28F.

Prezentat la 01.11.2016