

UNIwersytet w Białymstoku
Wydział Biologiczno-Chemiczny



**NOWE PRZEPIYWOWE METODY OZNACZANIA
PLATYNOWCÓW WYKORZYSTUJĄCE BIOSORPCJĘ
I ZJAWISKO CHEMILUMINESCENCJI**

(streszczenie)

Julita Malejko

Praca doktorska wykonana w Zakładzie Chemii Analitycznej
Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

Promotor pracy: dr hab. Beata Godlewska-Żyłkiewicz, prof. UwB

Recenzenci: prof. dr hab. Krystyna Pyrżyńska (Uniwersytet Warszawski)

dr hab. Barbara Starczewska, prof. UwB

BIAŁYSTOK 2010

Założenia i cele pracy

Katalityczne konwertory zawierające platynę, pallad i rod, montowane w układzie wydechowym pojazdów samochodowych, znacznie ograniczyły emisję szkodliwych substancji (tlenku węgla, tlenków azotu, produktów niecałkowitego spalania węglowodorów) do środowiska naturalnego. Jednakże stały się one źródłem emisji cząstek zawierających platynowce, które na skutek zużywania się katalizatora odrywane są od jego powierzchni i wraz z gazami spalinowymi unoszone do atmosfery. Wraz ze wzrastającą liczbą samochodów wyposażonych w katalizatory zaobserwowano wzrost zawartości platynowców w pyłach atmosferycznych, drogowych, glebie, roślinach oraz wodach pobranych w pobliżu szlaków komunikacyjnych. Wykazano, że część emitowanych z katalizatorów samochodowych platynowców stanowią formy rozpuszczalne. Metale te mogą również ulegać przekształceniom w formy rozpuszczalne po przedostaniu się do środowiska (w pyłe drogowe, glebie, wodach naturalnych) i mogą być pobierane przez rośliny (trawa, rośliny użytkowe) i zwierzęta (skorupiaki, małże, ryby).

Ze względu na wzrastającą zawartość platynowców w otoczeniu człowieka, ich dobrą biodostępność, a także działanie alergizujące i toksyczne niektórych ich związków, konieczne jest monitorowanie stężeń tych metali w środowisku naturalnym. W wielu ośrodkach naukowych na świecie prowadzone są badania mające na celu opracowywanie wiarygodnych procedur oznaczania platynowców w materiałach środowiskowych, a także badania dotyczące procesów migracji i transformacji tych metali w środowisku, ich biodostępności dla organizmów żywych oraz zagrożeń z tym związanych.

Problemy analityczne napotymane podczas oznaczania platynowców w próbkach środowiskowych wynikają z bardzo niskich zawartości tych metali (na poziomie ng/g) oraz przeszkadzającego wpływu składników matrycowych obecnych w dużym nadmiarze w stosunku do analitów. Wiarygodne wyniki oznaczeń platynowców w materiałach środowiskowych uzyskuje się dzięki połączeniu selektywnych technik wydzielenia tych metali z technikami detekcji charakteryzującymi się niskimi granicami wykrywalności analitów. Najczęściej proponowane rozwiązania to połączenie techniki ekstrakcji do fazy stałej wykorzystującej komercyjnie dostępne sorbenty z technikami spektrometrii atomowej (ICP-OES, ETAAS) lub spektrometrii mas (ICP-MS). Możliwość uzyskiwania bardzo niskich granic wykrywalności jonów metali zapewniają również metody chemiluminescencyjne. Znalazły one szerokie zastosowanie w analizie chemicznej także ze względu na niski koszt analizy i prostą obsługę aparatury pomiarowej.

Podstawowym celem niniejszej pracy było sprawdzenie możliwości wykorzystania zjawiska chemiluminescencji (CL) do oznaczania platyny, palladu i rodu w próbkach środowiskowych. Pomiary prowadzono w warunkach wstrzykowej analizy przepływowej (FIA). Dobra

powtarzalność pomiarów chemiluminescencyjnych uzyskiwana w układach FIA-CL wynika z faktu, że mieszanie odczynników i wstrzykiwanej do układu próbki odbywa się za każdym razem w identyczny sposób, a pomiar natężenia CL następuje zawsze po tym samym czasie od ich zmieszania.

Ze względu na liczne interferencje matrycowe występujące podczas oznaczania platynowców metodą chemiluminescencyjną, w pracy podjęto badania dotyczące zastosowania procesu biosorpcji do oddzielania badanych metali od przeszkadzających składników matrycy. Biosorpcja to proces polegający na wiązaniu jonów metali przez grupy funkcyjne obecne w ścianie komórkowej mikroorganizmów (bakterii, glonów, grzybów i drożdży) za pomocą oddziaływań fizykochemicznych. Komórki często unieruchamia się na stałym nośniku, gdyż poprawia to właściwości mechaniczne biosorbentu i umożliwia prowadzenie procesu biosorpcji w warunkach przepływowych, a nieraz zapewnia większą efektywność zatrzymywania metali. Ponieważ budowa chemiczna ściany komórkowej decyduje o zdolności sorpcyjnej biomasy, w badaniach wykorzystano różne rodzaje mikroorganizmów: glony *Chlorella vulgaris* oraz grzyby *Aspergillus sp.* unieruchomione na żywicy Cellex-T, a także drożdże *Saccharomyces cerevisiae* unieruchomione w alginianie wapnia. Połączenie wydzielania jonów metali na biosorbencie z ich chemiluminescencyjnym oznaczaniem nie było do tej pory opisane w literaturze.

Celem prezentowanej pracy było również sprawdzenie możliwości zastosowania opracowanych metod wykorzystujących biosorpcję i zjawisko chemiluminescencji do oznaczania platynowców w wybranych próbkach środowiskowych (woda rzeczna, pył drogowy).

Badania własne

W części eksperymentalnej pracy opisano badania, które miały na celu opracowanie nowych przepływowych metod oznaczania platynowców opartych na zjawisku chemiluminescencji. Sprawdzono wpływ jonów Pt(IV), Pt(II), Pd(IV), Pd(II) i Rh(III) na natężenie chemiluminescencji luminolu, izoluminolu, 4-dietyloizoluminolu, lucygeniny oraz kwasu galusowego i wykazano, że zjawisko CL można zastosować do oznaczania jonów Pt(IV) oraz Rh(III) w ilościach śladowych, natomiast nie jest to możliwe w przypadku palladu. Efekt wzmacniania chemiluminescencji układów luminol-O₂ i luminol-H₂O₂ przez chlorkowe kompleksy Pt(IV) i Rh(III) oraz efekt osłabiania chemiluminescencji układów lucygenina-NaOH i lucygenina-NaOH-kwas askorbinowy przez chlorkowe kompleksy Pt(IV) stały się podstawą do opracowania nowych metod oznaczania badanych metali.

W zoptymalizowanych układach pomiarowych FIA-CL przeprowadzono charakterystykę analityczną chemiluminescencyjnych metod oznaczania Pt(IV) i Rh(III). W przypadku metod opartych na wzmacnianiu chemiluminescencji układów luminol-O₂ i luminol-H₂O₂ znacznie lepsze parametry analityczne uzyskano dla platyny. Granice wykrywalności (LOD) otrzymane

dla Pt(IV) (0,06 i 0,03 ng/mL) są niższe od granic wykrywalności Rh(III) (0,7 i 0,4 ng/mL), a czułość metod oznaczania platyny jest ponad 20-krotnie większa od czułości metod oznaczania rodu. Opracowane metody oznaczania Pt(IV) oparte na reakcji utleniania luminolu charakteryzują się lepszą czułością oraz niższymi granicami wykrywalności niż metody wykorzystujące zjawisko chemiluminescencji lucygeniny (LOD = 0,7 ng/mL Pt).

Osiągnięte granice wykrywalności Pt(IV) i Rh(III) są niższe niż granice uzyskane podczas oznaczania tych metali metodami chemiluminescencyjnymi opracowanymi przez innych badaczy, a także technikami ETAAS i ICP-OES. Warto zauważyć, że granice wykrywalności Pt uzyskane w opracowanych przez mnie metodach opartych na reakcji utleniania luminolu są porównywalne z wartościami LOD osiąganymi techniką ICP-MS. Niskie granice wykrywalności Pt(IV) i Rh(III), niski koszt i bardzo prosta obsługa aparatury pomiarowej sprawiają, że opracowane metody oznaczania platynowców są użytecznym narzędziem analitycznym, konkurencyjnym wobec innych metod.

Do oddzielenia jonów Pt(IV) od matrycy przed ich chemiluminescencyjnym oznaczeniem w oparciu o reakcję utleniania luminolu zastosowano technikę ekstrakcji do fazy stałej z wykorzystaniem niekomercyjnych sorbentów – komórek mikroorganizmów unieruchomionych na stałych nośnikach: glonów *Chlorella vulgaris* oraz grzybów *Aspergillus sp.* na żywicy Cellex-T, a także drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w alginianie wapnia. Etapy wydzielania platyny na biosorbentach i jej chemiluminescencyjnego oznaczania realizowano *on-line* w warunkach wstrzykowej analizy przepływowej. Połączenie wydzielania jonów metalu techniką SPE z wykorzystaniem biosorbentu i ich oznaczania techniką chemiluminescencyjną nie było do tej pory opisane w literaturze. Zatrzymane na biosorbencie jony Pt(IV) eluowano roztworem NaCl, który wykazywał pozytywny wpływ na wysokość sygnałów analitycznych. Procedura wydzielania analitu na glonach charakteryzuje się najlepszą powtarzalnością (RSD = 1,5% dla 2 ng/mL Pt) oraz zapewnia większy odzysk analitu (98,5%) w porównaniu do procedury wydzielania na grzybach (92,0%) oraz drożdżach (83,0%). Zastosowanie procedur ekstrakcyjnych z wykorzystaniem glonów i grzybów pozwoliło na obniżenie granicy wykrywalności Pt(IV) (do 0,06 ng/mL oraz 0,02 ng/mL) w stosunku do uzyskanej podczas bezpośredniego wstrzykiwania analitu do układu przepływowego (0,1 ng/mL Pt) oraz zwiększenie czułości metody (współczynnik wzbogacenia wyniósł odpowiednio 5 i 2). Efektu zateżenia platyny nie zaobserwowano natomiast stosując procedurę wydzielania na drożdżach (LOD = 0,15 ng/mL Pt). Osiągnięte granice wykrywalności są niższe od uzyskanych podczas oznaczania platyny techniką ETAAS po wstępnym wydzieleniu analitu na unieruchomionych glonach (0,2 ng/mL Pt) i drożdżach (6 ng/mL Pt).

Opracowane procedury pozwalają ponadto na efektywne oddzielenie jonów Pt(IV) od jonów innych metali, powszechnie obecnych w próbkach środowiskowych. Porównując zdolność

badanych biosorbentów (glonów *C. vulgaris*, grzybów *Aspergillus sp.* i drożdży *S. cerevisiae*) do selektywnej sorpcji jonów Pt(IV) w obecności jonów innych metali można stwierdzić, że największą selektywnością zatrzymywania platyny charakteryzują się grzyby.

Dokładność opracowanych metod oznaczania Pt(IV) opartych na reakcji utleniania luminolu ze wstępnym wydzieleniem analitu na biosorbencie (glonach, drożdżach lub grzybach) sprawdzono analizując próbki wody rzecznej wzbogaconej w analit oraz próbki certyfikowanego materiału odniesienia pyłu tunelowego BCR-723. Ilościowe odzyski Pt uzyskano jedynie w przypadku próbek wody rzecznej (96 – 108%) po wstępnym usunięciu matrycy organicznej na sorbencie RP-18 (żel krzemionkowy modyfikowany grupami oktadecylowymi). Substancje organiczne obecne w wodach należało usunąć, gdyż zatrzymywały się na biosorbentach i były wymywane razem z platyną wywołując zakłócenia mierzonego sygnału analitycznego. W badanych próbkach wód rzecznych nie wykryto obecności Pt(IV) (zawartość poniżej LOD stosowanych metod). Opracowane procedury analityczne okazały się niewystarczająco selektywne, aby możliwe było oznaczanie platyny w próbkach pyłu drogowego.

Połączenie *on-line* etapów wydzielenia jonów Pt(IV) na glonach *C. vulgaris* unieruchomionych na żywicy Cellex-T i ich chemiluminescencyjnego oznaczania w oparciu o reakcję utleniania luminolu realizowano również w warunkach multikomutacyjnej analizy przepływowej (MCFA) z zastosowaniem zaworów elektromagnetycznych sterowanych komputerowo. W porównaniu do klasycznego układu FIA, układ MCFA zapewnia znacznie większy stopień mechanizacji procedury oznaczania platyny, lepszą powtarzalność pomiarów oraz mniejsze zużycie roztworu luminolu.

Możliwość oznaczania platyny w próbkach wody rzecznej bez konieczności usuwania matrycy organicznej na sorbencie C18 zapewnia metoda oparta na osłabianiu chemiluminescencji układu lucygenina-NaOH ze wstępnym wzbogaceniem analitu na glonach *C. vulgaris* unieruchomionych na żywicy Cellex-T. Metoda ta jest mniej podatna na interferencje niż metoda oparta na wzmacnianiu CL luminolu, charakteryzuje się dobrą czułością, precyzją (RSD = 3,5% dla 2 ng/mL Pt) i niską granicą wykrywalności analitu (0,1 ng/mL Pt). Współczynnik wzbogacenia wyniósł 4. Metoda oparta na chemiluminescencji lucygeniny, ze względu na większą selektywność, pozwoliła na dokładne oznaczenie platyny również w pyłe drogowym pobranym w Białymstoku w 2009 roku ze skrzyżowania o dużym natężeniu ruchu. Platynę ekstrahowano z próbek pyłu za pomocą wody królewskiej w układzie zamkniętym z udziałem energii mikrofalowej. W celu uproszczenia matrycy roztwór próbki, przed naniesieniem na kolumnę z biosorbentem, przepuszczano dodatkowo przez kolumnę RP-18. Wiarygodność wyników sprawdzono wykonując analizę certyfikowanego materiału odniesienia pyłu tunelowego (BCR-723). Zastosowany materiał zawiera platynowce na podobnym poziomie stężeń oraz matrycę o zbliżonym składzie jak badane próbki pyłu pobranego z nawierzchni dróg.

Odzysk Pt z próbek BCR-723 względem wartości odniesienia wyniósł $93,8 \pm 13,1\%$, co potwierdza dokładność opracowanej procedury analitycznej. Całkowita zawartość platyny ($351,8 \pm 54,6$ ng/g) w próbkach pyłu drogowego pobranego w Białymstoku, oznaczona opracowaną metodą, wskazuje na wzrastające zanieczyszczenie środowiska tym metalem.

Próba zastosowania glonów *C. vulgaris* unieruchomionych na żywicy Cellex-T oraz drożdży *S. cerevisiae* unieruchomionych w alginianie wapnia do wydzielania rodu nie powiodła się z powodu niskiej efektywności biosorpcji tego metalu na badanych biosorbentach (44% oraz 28%).

Przeprowadzone badania wykazały, że proces biosorpcji jonów Pt(IV) na zastosowanych biosorbentach nie jest wystarczająco selektywny, aby można go było wykorzystać do wydzielania tego metalu z próbek o złożonym składzie matrycy (pył drogowy) przed jego oznaczeniem w oparciu o zjawisko chemiluminescencji luminolu. Poprawne wyniki oznaczeń platyny w próbkach pyłu drogowego uzyskano stosując detekcję opartą na zjawisku chemiluminescencji lucygeniny. Jednakże stosowanie tego chemiluminoforu podwyższa koszt analizy – lucygenina jest droższym odczynnikiem od luminolu. Zasadne wydaje się więc podjęcie dalszych badań mających na celu znalezienie sorbenta, który zapewni bardziej selektywne wydzielanie platyny z próbek środowiskowych i umożliwi oznaczanie tego metalu w oparciu o reakcję utleniania luminolu. Jedną z możliwości jest zastosowanie w tym celu sorbentów polimerowych z odwzorowaniem jonowym (*Ion Imprinted Polymers*). W Zakładzie Chemii Analitycznej Instytutu Chemii UwB od kilku lat prowadzone są badania nad otrzymywaniem takich materiałów.