

Academia Oamenilor de Știință din România (AOȘR)
Str. Ilfov nr.3, Sector 5, București

Proiect de cercetare pe anul 2019:

Titlu: „Aproximări și alte aplicații ale matematicii în fizică și inginerie”,
Coordonator științific proiect: MT prof.univ.dr. Doru-Sabin DELION

Temă de cercetare în cadrul proiectului: *Tehnici atomice și nucleare aplicate în studiul factorilor poluanți (ex.metale grele) ai mediului înconjurător, în corelație cu tehnica de biomonitorizare.*

Responsabil temă: dr. Elena Daniela CHELĂRESCU

Etapă intermediară: *Aplicații ale Spectrometriei de Emisie Atomică în varianta Plasmă Cuplată Inductiv cu Spectrometru de Masă (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) în studiul metalelor grele poluante din probe de soluri de suprafață și a probelor de sedimente din lacurile sărate colectate din Câmpia Română;*

Termen: 30 iulie 2019.

Obiectiv:

Adaptarea, optimizarea și implementarea tehnicilor de înaltă precizie și sensibilitate, atomice și nucleare, pentru analiza elementală (metale grele) a probelor de soluri din zona geografică Dâmbovița și a unor probe de apă de suprafață (lacuri).

1.INTRODUCERE

Scopul cercetărilor care se vor efectua în cadrul proiectului vor fi axate pe testarea și implementarea tehnicilor atomice și nucleare de înaltă precizie și sensibilitate pentru analiza metalelor grele poluante din mediul înconjurător, tehnici de analiză aplicate în corelație cu tehnica biomonitorizării folosind bioindicatori : poluarea cu metale grele (Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Ni, Cu, As, Se, Cd, Hg și Pb) a solului din diferite zone geografice ale României și poluarea cu metale grele (Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Ni, Cu, As, Se, Cd, Hg și Pb) a unor resurse de apă de suprafață (lacuri).

În cadrul proiectului se va urmări fundamentarea teoretică, dezvoltarea practică și implementarea metodelor, de înaltă precizie și sensibilitate ridicată, atomice și nucleare de analiză elementală cum sunt: Spectrometria de absorbție atomică(AAS) și Spectrometria de Emisie Atomică (Atomic Emission Spectrometry-AES) în variantele Plasmă Cuplată Inductiv cu Emisie Atomică (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry-ICP AES) și Plasmă Cuplată Inductiv cu Spectrometru de Masă (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry- ICP MS), pentru determinarea gradului de poluare cu metale grele a solului și a apelor de suprafață (lacuri). Rezultatele vor face parte din etape preliminare pentru dezvoltarea de tehnologii noi, avansate, folosite în monitorizarea poluării cu metale grele (Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Ni, Cu, As, Se, Cd, Hg și Pb). Metodele propuse se vor utiliza în rețele de biomonitorizare cu bioindicatori a solurilor și bioindicatori de apă de suprafață (lacuri).

2. METODE EXPERIMENTALE

Tehnicile spectrometrice se bazează pe datele furnizate prin transferurile caracteristice de energie între radiații și materie. Ele oferă informații despre natura și concentrația elementelor fie în materiale cristalizate, fie în materiale necristalizate, în orice tip de material. Într-o oarecare măsură, ele oferă informații suplimentare despre legăturile chimice. Transferurile de energie în timpul interacțiunii cu radiațiile de înaltă energie pot fi exprimate în două moduri complementare: modificarea materiei și modificarea radiației, energia totală fiind păstrată. Aceasta are ca rezultat următoarele efecte complementare care sunt exploatabile pentru spectrometrie:

- procesele de excitație-de-excitație ale nivelelor atomice care conduc la emiterea caracteristică a radiațiilor (cum ar fi X-Rays, emisia de electroni);
- procese de absorbție caracteristică,
- Emisia de radiație gamma în metoda de activare a neutronilor și reacțiile nucleare.

Aceste trei tipuri de efecte oferă date care sunt teoretic identice și pot fi utilizate atât în scopuri analitice, conducând astfel la două grupe de tehnici:

- spectrometrie de emisie secundară care include analiza fluorescenței cu raze X (XRF), emisia de particule X_Rays (PIXE),
- spectroscopia de absorbție care include spectrometria de absorbție atomică (AAS);
- spectroscopia de emisie care include plasma cuplată inductiv (ICP), etc.

Datele furnizate prin orice metodă spectrometrică sunt exprimate în termeni de procesare a spectrului care depinde de efectul fizic de bază.

Analiza calitativă ne obligă să identificăm un element dat prin intermediul uneia sau mai multor linii de emisie caracteristice sau liniilor de absorbție. Identificarea elementelor majore este în mare parte simplă. Analiza elementelor minore sau a oligoelementelor este determinată de sensibilitatea metodei; acesta poate varia într-o gamă largă, în funcție de procesul fizic implicat, de numărul atomic și de caracteristicile instrumentale.

Parametrul principal în analiza calitativă și cantitativă este limita de detecție a elementelor. Pentru o metodă analitică dată, limita de detecție depinde de elementul care trebuie analizat și de specimenul care îl conține. În spectrometria de emisie, un element dat este determinat de numărarea detectorului atunci când spectrometrul este reglat pe o linie caracteristică a elementului. În spectrometria de absorbție, intervalul de energie al numărării spectrului nu este atât de bine definit. În orice caz, măsurarea semnificativă este raportul semnal-zgomot. Scopul aplicării metodelor de analiză cantitativă este de a determina fracțiunea de masă a tuturor elementelor detectabile dintr-o probă. Pentru un element dat, trebuie măsurată intensitatea unei linii de emisie caracteristice asupra efectului caracteristic absorbit. Măsurarea intensității furnizate de un spectrometru depinde de trei tipuri de parametri: parametrii fizici care caracterizează natura și concentrația elementului care urmează să fie analizat; parametrii fizici datorate oricăror altor elemente din eșantion (efectele matricei); și parametrii instrumentali. În lucrarea noastră vor fi prezentate rezultatele obținute prin analiza elementelor minore și a oligoelementelor din bioindicatori, utilizând următoarele tehnici de sensibilitate ridicată: spectrometrie de absorbție atomică în flacără (FAAS) și cu tub cu grafit (GFAAS) [1,2,3,9,10,11]; Spectrometrie de emisie atomică (AES) în două variante; (ICP-OES) și spectrometria de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS) [2-4,14, 5-8, 11,13,14]. În această

etapă am analizat probe de soluri (substratul) în care se dezvoltă ciuperci sălbatice comestibile și se raportează rezultate intermediare.

2.a.Spectrometria de absorbție atomică (AAS): este o metodă spectroanalitică pentru determinarea cantitativă a oligoelementelor utilizând absorbția radiației optice (lumină) de către atomii liberi, în stare gazoasă. AAS se bazează pe legea exponențială Lambert-Beer. Legea L-B este respectată cu strictețe doar pentru radiație monocromatică. Intensitatea unui fascicul de radiații transmisă prin proba sub formă de gaz (atomi liberi) scade exponențial cu grosimea stratului de substanță. AAS se aplică în două variante, cu flacără (FAAS) și cu cuptor de grafit(GFAAS). AAS poate fi utilizat pentru a determina peste 70 de elemente diferite în soluție sau în probe solide (prelucrate în formă lichidă) conținute într-un spectru larg de probe materiale: mediu, industrie, arheologie, biologie etc. Metoda AAS se aplică numai în varianta relativă (se folosesc probe etalon). Nu este o metodă de analiză calitativă (de identificare a elementelor chimice dintr-o probă). Este o metodă de analiză cantitativă, monoelement. Limita de sensibilitate a metodei este în domeniul de concentrații elementale, ppb - ppm.

2.b. Spectrometria de emisie atomică (AES): se aplică în două variante: Plasma cuplată inductiv și spectrometrie cu emisie atomică (ICP-AES) și Plasma cuplată inductiv și spectrometru de masă (ICP-MS). Spectrometria de emisie atomică (AES) [5-7] este o metodă de analiză chimică care utilizează intensitatea luminii emise de o flacără, plasmă, arc sau scânteie la o anumită lungime de undă pentru a determina numărul de atomi dintr-o anumită probă materială (concentrația unui element dintr-o probă) [3]. Lungimea de undă a liniei spectrale emisă de atomi dă identitatea elementului, în timp ce intensitatea luminii emise este proporțională cu numărul de atomi ai elementului chimic identificat. Este o tehnică de analiză calitativă (identificarea elementelor din eșantion) cât și o metodă de analiză cantitativă (determinarea concentrațiilor de elemente în eșantion). Este o metodă de analiză multi-element de sensibilitate ridicată. Limitele de detecție pentru majoritatea elementelor determinate se încadrează în domeniul concentrațiilor (100 ppb - 1ppb).

3. SURSE ȘI EFECTE ALE METALELOR GRELE

Metalele grele [5, 32, 34] sunt emise în mediul înconjurător, în principal, ca urmare a diferitelor procese de ardere și a activităților industriale, cum ar fi prelucrările materialelor metalice și topitoriile. Contribuția diverselor surse din Europa la emisiile metalelor grele sa schimbat în ultimele decenii. Cele mai importante sectoare de emisie includ:

Industria metalelor (Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn); Alte industrii prelucratoare și construcții (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb); Producția de energie electrică și termică (Cd, Hg, Ni); Transportul rutier (Cu și Sb de la uzura frânelor, Pb, V, Zn din anvelope); Rafinarea petrolului (Ni, V); Îngrășăminte fosfatice în zonele agricole (Cd).

Pe lângă poluarea aerului, metalele grele sunt depozitate pe suprafețe terestre sau de apă și se acumulează ulterior în soluri sau sedimente. Metalele grele sunt persistente în mediu și pot fi bioacumulate în lanțurile alimentare. Depozitarea atmosferică a metalelor are un efect direct asupra contaminării culturilor utilizate pentru consumul uman și animal. În special, legumele cu frunze și culturile furajere pot acumula metale grele. Spălarea legumelor cu frunze înainte de consum reduce considerabil riscul de expunere la om.

4. STUDIUL ACUMULĂRII METALELOR GRELE ÎN SOLUL(SUBSTRATUL) CIUPERCILOR SĂLBATICE COMESTIBILE.

Scopul acestui studiu a fost de a determina conținutul de metale grele din ciupercile sălbatice comestibile, *Lycoperdon perlatum* și *Pleurotus ostreatus* și substratul lor colectat la diferite distanțe de topitorul metalic(Combinatul de Oțeluri) din județul Dâmbovița, România. Concentrațiile de Mn, Fe, Cu și Zn din eșantioane au fost determinate prin spectrometrie de absorbție atomică (AAS) iar concentrațiile de Cr, Ni, Se, Cd și Pb au fost determinate prin spectrometrie de emisie atomică (ICP-MS). S-a calculat coeficientul de acumulare a metalelor grele pentru toate probele de ciuperci analizate și s-a observat o acumulare mai mare de Fe, Cu și Zn din substrat. În plus, a fost observată o acumulare mare a Pb în ciupercile care se dezvoltă în apropierea topitoriei metalice. Determinarea concentrației de metale grele în corpurile fructifere ale ciupercilor este esențială în studiile de utilizare sub formă de alimente. Diferitele metale grele sunt toxice, cum ar fi As, Cd, Ni și Hg; pe de altă parte, multe elemente sunt esențiale pentru metabolismul uman, cum ar fi Fe, Zn, Mn, Cu, Cr și Se.

Speciile tinere de ciuperci *Lycoperdon perlatum* și *Pleurotus ostreatus* au fost colectate din diferite zone forestiere ușoare din județul Dâmbovița, la diferite distanțe (0,5 km, 4,5 km și, respectiv, 10,5 km) de topitorul metalic, în aceeași direcție de vânt. Din același punct de colectare s-au luat 5 probe din corpurile tinere de fructe din ciuperci și substratul lor. Substratul din *Pleurotus ostreatus* a fost colectat de pe coaja de plop, cu un pH cuprins între 7,35-7,50 iar *Lycoperdon perlatum* a fost prelevat din sol, cu un pH cuprins între 6,35-7,60.

Pregătirea probelor: Două grame din fiecare dintre cele 5 colectate la distanțe diferite de topitorul metalic din județul Dambovita, România, au fost prelucrate chimic, sub formă de soluție lichidă. Probele uscate au fost digerate într-o soluție acidă folosind un sistem de digestie cu microunde Berghof MWS-2. Probele fungice uscate (500 mg) au fost introduse în vasele de digestie împreună cu 3 ml de acid azotic și 5 ml de peroxid de hidrogen. După timpul de digestie (40 min), vasele s-au răcit la temperatura camerei (aproximativ 30 de minute). Volumul soluției limpezi a fost făcut până la 50 ml pentru fiecare probă folosind apă deionizată. Substanțele solide uscate (500 mg) au fost introduse în vasele de digestie împreună cu 3 ml acid azotic și 9 ml acid clorhidric (aqua regia). Concentrațiile de Cr, Ni, Se, Cd și Pb în probe au fost determinate prin spectrometrie de absorbție atomică utilizând spectrometrul AVANTA GBC cu lămpi cu catod și flacăra. Determinarea concentrațiilor elementale în probele de ciuperci și substratul lor au fost efectuate utilizând metoda curbei de calibrare în funcție de concentrația absorbantului. Au fost preparate mai multe soluții standard de diferite concentrații cunoscute, iar concentrația elementală în proba necunoscută a fost determinată prin extrapolare din curba de calibrare. Toate concentrațiile de probe au fost raportate în mg / kg de substanță uscată.

Rezultate și discuții: Concentrațiile de Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, Ni, Se, Cd și Pb, au fost determinate prin spectrometria AAS.

Conținutul de metale grele din corpurile fructifere din *Pleurotus ostreatus* este cuprins în intervalele: 1,08-1,81, 11,8-12,4, 284-387, 1,29-1,85, 10,2-12,5, 37,9-41,3, 2,57-2,79 și 0,87-0,95 mg / kg dw. pentru Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se și,

respectiv, Cd, Pb în fructul *Pleurotus ostreatus* a fost detectat numai în proba colectată în apropierea topitoriei metalice [12].

Conținutul de metale grele din corpurile fructifere din *Lycoperdon perlatum* este cuprins în intervalele: 1,87-1,94, 12,6-13,9, 623-782, 1,83-1,96, 10,2-11,8, 127-134, 14,2-15,4, 1,58-1,73 și 0,71-3,47 mg / kg d.w. pentru Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Cd și, respectiv, Pb[12].

Valorile deviației standard relativă (RSD), mai puțin de 10%, cu excepția rezultatelor pentru Fe, indică o măsurare cantitativă precisă în această lucrare. Deviația standard relativă mai mică de 13% pentru Fe poate fi făcută prin interferența liniilor de raze X de Mn și Fe.

O mare atenție a fost dată conținutului de Cd și Pb din ciupercile analizate, deoarece aceste elemente sunt elemente toxice incluse în normele de igienă privind siguranța alimentelor. Cel mai mare conținut de Cd determinat a fost 1,73 mg / kg în *perlatum Lycoperdon* colectat în vecinătatea topitoriei metalice. Cel mai mare conținut de Pb a fost de 3,47 mg / kg, de asemenea, în *Lycoperdon perlatum* colectat toate în vecinătatea topitoriei metalice. În comparație cu alte studii, nivelurile de Cd determinate în *Pleurotus ostreatus* și *Lycoperdon perlatum* sunt în concordanță cu valorile din literatură. Concentrațiile de Pb din studiile anterioare au fost între 0,1 și 40 mg / kg [12,14].

În speciile de ciuperci analizate are loc acumulara de metale grele. Coeficientul de acumulare a metalelor grele a fost calculat folosind relația: $K_a = C_m/C_s$, unde,

C_m este concentrația de metale grele în ciuperci și C_s este concentrația de metale grele în substratul (sol) ciupercilor.

În tabelele 6 și 7 sunt dați coeficienții de acumulare pentru Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Cd și respectiv Pb, determinate în probele de ciuperci analizate.

Tabelul 6.

Ka – coeficient de acumulare a metalelor grele în ciuperca *Pleurotus ostreatus*

Distanța până la topitorul metalic(km)	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Se	Cd	Pb
0.5	0.53	0.42	0.95	0.52	0.82	1.01	0.62	0.42	0.12
4.5	0.53	0.41	0.91	0.47	0.89	1.03	0.50	0.41	0.00
10.5	0.39	0.42	0.93	0.48	0.81	1.07	0.58	0.41	0.00

Tabelul 7.

Ka – coeficient de acumulare a metalelor grele în ciuperca *Lycoperdon perlatum*

Distanța până la topitorul metalic(km)	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Se	Cd	Pb
0.5	0.10	0.08	0.12	0.20	0.44	1.78	0.74	0.31	0.28
4.5	0.16	0.09	0.12	0.22	0.49	2.01	0.68	0.35	0.15

10.5	0.16	0.09	0.14	0.22	0.55	1.74	0.75	0.37	0.14
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Dependențele coeficienților de acumulare a Fe și Pb de distanța de la topitoria de metal rezultă din tabelele de mai sus.

Coeficienții de acumulare de Fe și Pb sunt mai mari, pentru ambele specii de ciuperci, în apropierea topitoriei metalice.

Coeficienții de acumulare de Zn și Pb sunt mai mari la *Lycoperdon perlatum* comparativ cu speciile *Pleurotus ostreatus* și au domeniile de variație, pentru Zn de la 1,01-1,07 și pentru Pb de la 0,14-0,28. În concluzie, specia *Lycoperdon perlatum* este un acumulator Zn și Pb.

Concentrațiile metalelor grele obținute în acest studiu în ciuperci și în substratul lor au fost comparate cu nivelul maxim admis pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare, stabilit de Comisia Uniunii Europene (Regulamentul (CE) nr. 466/2001 al Comisiei).

Nivelul maxim admis pentru Cd și Pb este stabilit în jur de 2 și 3 mg / kg greutate corporală, în ciupercile cultivate. Rezultatele noastre arată că numai probele de *Lycoperdon perlatum* colectate în vecinătatea cuptorului metalic au avut o concentrație de Pb mai mare decât limitele europene pentru ciupercile cultivate.

Combinatia a două tehnici diferite, AAS și ICP-MS, a fost potrivită pentru această analiză. Tehnica ICP-MS permite determinarea simultană a tuturor elementelor prezente în probe, necesită prepararea chimică a probei dar care nu introduce erori mari în determinare. Limita de detecție fiind de ordinul ppt face ca incertitudinea în determinare sa fie foarte mică. Elementele care au o concentrație de ordinul 10 mg / kg au fost studiate prin tehnica AAS.

Ciupercile studiate: *Lycoperdon perlatum* și *Pleurotus ostreatus* conțin minerale necesare în dieta umană, cum sunt Fe, Zn, Mn, Cu, Cr și Se, precum și elemente toxice precum Cd, Ni și Pb. Nivelul elementelor toxice a fost mai mic decât cel al mineralelor.

Trebuie să subliniem că rezultatele obținute în această lucrare sunt primele raportate în literatura de specialitate pentru ciupercile comestibile cultivate în sălbăticie, colectate din județul Dâmbovița, România. Aceste informații pot fi extrem de importante, având în vedere că ciupercile analizate sunt ciuperci comune, colectate în multe locuri de oameni pentru consum.

BIBLIOGRAFIE

- [1]. Koirtjohann, S. R. (1991). "A History Of Atomic Absorption Spectrometry". Analytical Chemistry. 63 (21): 1024A–1031A. doi:10.1021/ac00021a716. ISSN 0003-270
- [2]. L'vov, Boris (1990). Recent advances in absolute analysis by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. 45. pp. 633–655. Bibcode:1990 AcSpe. .45. .633L. doi:10.1016/0584-8547(90)80046-L
- [3]. I.V.Popescu, C.Stihi, Gh.V.Cimpoca, G.Dima, Gh.Vlaicu, A.Gheboianu, I.Bancuta, V.Ghisa, G.State, Environmental samples analysis by Atomic Absorption Spectrometry (AAS) and Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES), Romanian Journal of Physics, vol. 54, no. 7-8, (2009).
- [4]. R.W.J.M. Boumas, ICP Spectroscopy, John Willey and Sons (New York, USA, 1987)
- [5]. M.Tatro, Optical Emission ICP in Environmental Analysis, Enciclopedia of Analytical Chemistry, John Wiley&Sons Ltd.Chichester, ISBN 047197670 9 (1988)
- [6]. Hieftje, Gary; et al. (2006). "Effect of the plasma operating frequency on the figures of merit of an inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometer". Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 21 (2): 160–167. doi:10.1039/B515719F. Retrieved 5 April 2015
- [7]. Diane Beauchemin, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Anal. Chem., 2010, 82 (12), pp 47864810 DOI: 10.1021/ac101187p
- [8] Claudia Stih, Anca Bancuta, I. V. Popescu, M. Virgolici, V. Cimpoca, M. Gugiu, Gh. Vlaicu, Air Pollution Studies Using PIXE And ICP Methods, , IoP Journal of Physics: Conference Series 41, p. 565–568 (2006).

- [9].G. State, I. V. Popescu, A. Gheboianu, C. Radulescu, I. D. Dulama, I. Bancuta, R. Stirbescu, Lichens as biomonitors of heavy metal air pollution in the Targoviste area, *Journal of Science and Arts*, 1(12), 119-124, 2010.
- [10]. State, Gabriel; Popescu, Ion V.; Radulescu, Cristiana; et al, Comparative Studies of Metal Air Pollution by Atomic Spectrometry Techniques and Biomonitoring with Moss and Lichens, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **89**(3), pp. 580-586, 2012
- [11]. Ion V. Popescu, Marina Frontasyeva, Claudia Stihî, Gh. V. Cimpoa, Cristiana Radulescu, Anca Gheboianu, Calin Oros, Gh.Vlaicu, Iulian Bancuta, Ioana Daniela Dulama , Analysis of Cr, Fe, Mn, Ni AND Zn from mosses by NAA, AAS AND ICP-AES methods *Journal of Science and Arts* , Anul 9 Nr. 2(11), p. 292-299 ISSN 1844-9581, 2009.
- [12]. C.Stihî, C. Radulescu, G.Busuioc, I.V.Popescu, A.Gheboianu, A.Ene, Studies on accumulation of heavy metals from substrate to edible wild mushrooms,Rom. Journ. Phys., Vol. 56, Nos. 1–2, P. 257–264, Bucharest, 2011,
- [13].*Determination of Heavy Metal Contents in Surface Water by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry: A Case Study of Ialomita River, Romania*, Ioana-Daniela Dulama, Cristiana Radulescu, Elena Daniela Chelarescu, Claudia Stihî, Ioan Alin Bucurica, Sofia Teodorescu, Raluca Maria Stirbescu, Ion Valentin Gurgu, Dorin Dacian Let, Nicolae Mihail Stirbescu. *Romanian Journal of Physics* **62**, 807 (2017). **Lucrare publicată cu afiliere la AOSR.**
- [14]. Atomic and Nuclear Spectrometric Methods with High Sensitivity Applied in the Study of Environmental Pollution with Heavy Metals (synthesis). Autori:Ion V. POPESCU, Gheorghe Valerica CIMPOCA, Claudia STIHI, Cristiana RADULESCU, Elena Daniela CHELARESCU, Ioana Daniela DULAMA, Gabriel DIMA. *Se va publica în Annals of the Academy of Romanian Scientists, Series on Physics and Chemistry, 2019.*

Dr. Elena Daniela CHELARESCU