

Programul:	Resurse Umane
Tipul proiectului:	Proiecte de cercetare postdoctorala
Cod proiect:	PD_445

Sinteza privind activitatea de cercetare și obiectivele îndeplinite în cadrul proiectului
DEZVOLTAREA DE NOI SENZORI RAMAN ULTRA-SENZITIVI PENTRU DETECTIA SI
CUANTIFICAREA IONILOR METALELOR GRELE

la etapa: **finală an (unică) 2012**

Obiectivele etapei:

1. Detectarea și cuantificarea ionilor Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} și Cu^{2+} din probe de mediu.
2. Detectarea și cuantificarea ionilor Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} și Fe^{3+} din alimente și probe biologice.
3. Raportarea și diseminarea rezultatelor finale.

Valorificarea rezultatelor

a) Articole publicate în cadrul fazei

1. **Surface-enhanced Raman scattering and DFT investigation of 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol and its metal complexes with Al(III), Mn(II), Fe(III), Cu(II), Zn(II) and Pb(II)**, László Szabó, Krisztian Herman, Nicoleta E. Mircescu, Alexandra Fălămaș, Loredana F. Leopold, Nicolae Leopold, Claudia Buzumurgă, Vasile Chiș, Spectrochimica Acta Part A, 93, 2012, 266-273.
2. **Surface-enhanced Raman scattering and DFT investigation of 1,5-diphenylcarbazide and its metal complexes with Ca(II), Mn(II), Fe(III), Cu(II) and Pb(II)**, László Szabó, Krisztian Herman, Mircea Oltean, Nicolae Leopold, Vasile Chiș, Spectrochimica Acta Part A (submitted 2012).
3. **SERS Approach for Fe(III) Detection in Soil extracts**, László Szabó, Andreea Iordache, Nicoleta E. Mircescu, Mircea Oltean, Nicolae Leopold, Vasile Chiș, Studia Universitatis Babes-Bolyai, Physica, Issue no.1 (July), 2012.

b) Lucrări comunicate la conferințe

Surface-enhanced Raman scattering and DFT investigation of 1,5-diphenylcarbazide and its metal complexes with Mn(II), Fe(III), Cu(II) and Pb(II), L. Szabó, K. Herman, N. Leopold, V. Chiș, COST CUPFEL-Meeting CM0702, Cluj-Napoca 21-23 March, 2012

Abstract trimis la conferința XXXI EUCMOS 2012 Cluj-Napoca.

I. Determinarea ionilor metalici din probe de mediu folosind ionoforul PAR și metoda SERS

Ionoforul 4-(2-pyridylazo) resorcinol (PAR) este un bun chelator de ioni metalici, fiind de aceea deseori folosit ca indicator pentru aceștia.

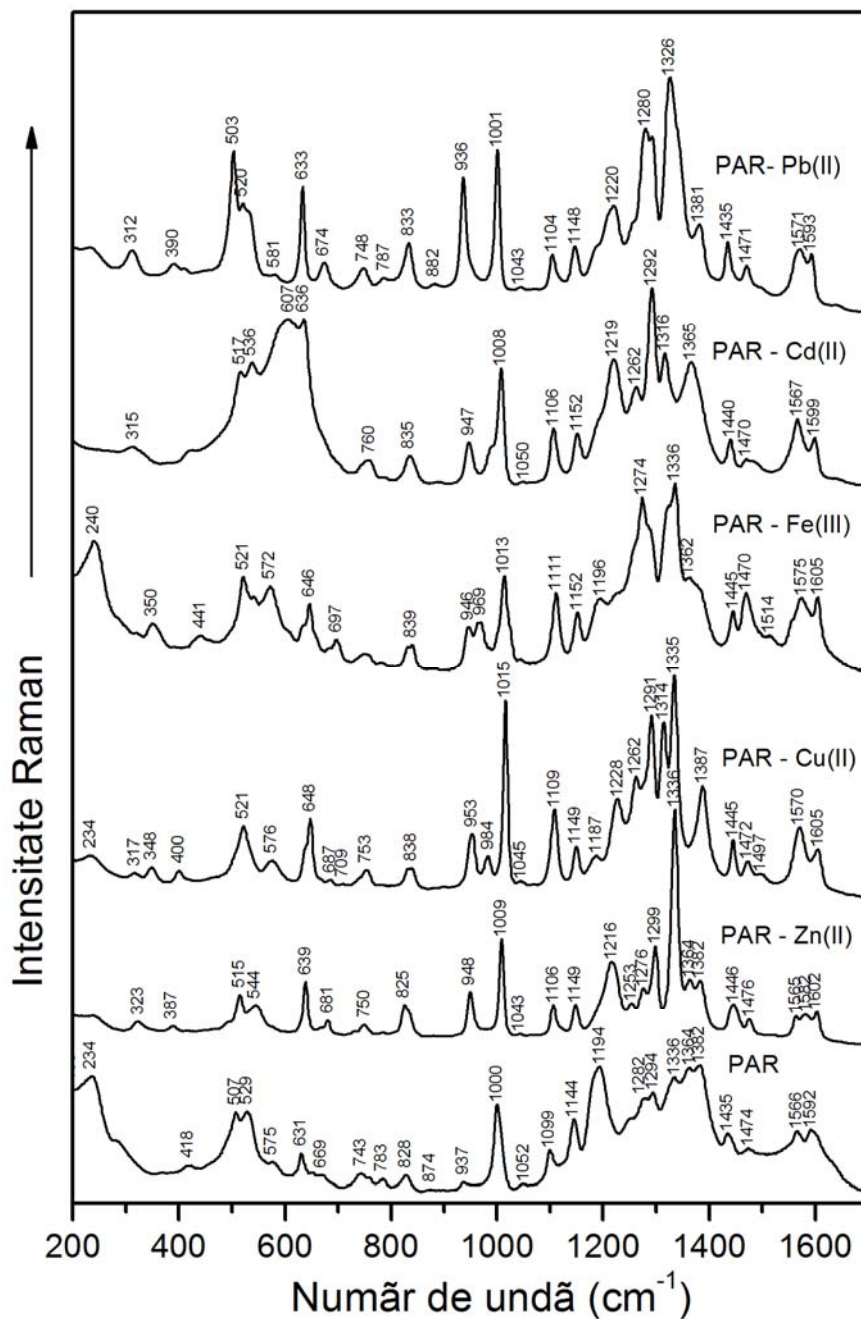


Fig. 1 Spectrele SERS ale complexelor PAR-Zn(II), Cu(II), Fe(III), Cd(II) și Pb(II) obținute din amestecul PAR-sare metalică în rapoartele molare 1:1.

Diverși complecși PAR-metal pot fi diferențiați prin caracteristicile spectrale SERS. În figura 1 sunt prezentate spectrele SERS ale complecșilor: PAR-Zn(II), Cu(II), Fe(III), Cd(II) și Pb(II). Fiecare spectru SERS al complecșilor PAR-metal prezintă o amprentă spectrală caracteristică. Anumite benzi sunt reprezentative pentru fiecare complex PAR-metal, acestea fiind prezentate în tabelul următor:

Tabel 1 Benzile SERS reprezentative pentru diferiții complecși PAR-metal în cm^{-1} .

Zn(PAR) ₂	Cu(PAR) ₂	PAR-Fe(III)	Cd(PAR) ₂	Pb(PAR) ₂
515				503
639	648	646	636	633
1009	1015	1013	1008	936
1216	1291	1247	1219	1001
1336	1314	1336	1292	1280
	1387	1470	1365	1326

Prezența benzilor marker, pentru fiecare complex PAR-metal, reprezintă o caracteristică deosebit de utilă în detecția ionilor metalici. Astfel, folosind ionoforul PAR ca agent de chelatare și tehnica SERS ca metodă traductoare, pot fi identificați ionii metalici pe baza amprentei spectrale.

În urma complexării se formează compuși ce adsorb în domeniul vizibil, spectroscopia UV-VIS fiind astfel și metoda cea mai uzuală pentru detecția și cuantificarea ionilor metalici. Dezavantaje în detecția ionilor metalici folosind ionofori ca agenți de chelatare și UV-VIS ca metodă de detecție sunt datorate interselectivității ionoforilor și a informației specifice moleculare reduse livrate de spectrele de adsorbție UV-VIS. Majoritatea ionoforilor chelatează un număr mare de ioni metalici, iar spectrele UV-VIS prezintă benzi largi cu profile asemănătoare pentru mai mulți complecși ionofor-metal. Figura 2 prezintă spectrele de adsorbție UV-VIS ale ionoforului PAR și a complecșilor Zn(PAR)₂ și Cu(PAR)₂.

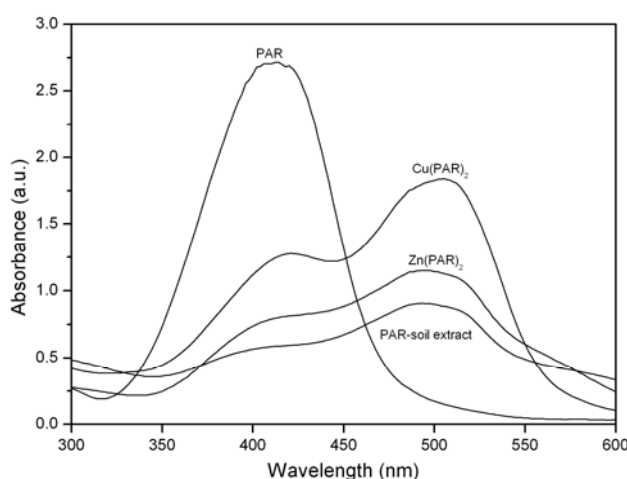


Fig. 2 Spectrele de adsorbție UV-VIS ale PAR și a complecșilor Zn(PAR)₂ și Cu(PAR)₂.

PAR prezintă un maxim de adsorbție la 414 nm, iar în urma complexării maximul se deplasează cu 40-50 nm spre lungimi de undă mai mari. Astfel, complexul Zn(PAR)₂ prezintă maximul de adsorbție la 494 nm, iar complexul Cu(PAR)₂ la 506 nm. Deoarece benzile de adsorbție prezintă un profil larg, diferențierea în mod vizual a spectrelor complecșilor Zn(PAR)₂ și Cu(PAR)₂ nu este foarte precisă. În acest sens, spectroscopia Raman prezintă un conținut de informație structurală moleculară mult mai ridicat, diferențierea spectrelor SERS pentru diferiți complecși metalici-PAR, fiind evidentă.

S-au preparat complecși metalici ai ionoforului PAR cu ionii Zn(II), Cu(II), Fe(III), Cd(II) și Pb(II) la concentrația 10^{-3} M. Complecșii metalici sunt bidentați, adică se formează sub formă de dimeri în sensul că două molecule PAR leagă un ion metalic. Pentru a asigura complexarea integrală a ionilor metalici, amestecurile au fost preparate în raport stoichiometric 1:1.

Pentru determinarea ionilor metalici din probe de mediu au fost prelevate probe de sol și apă din zona Copșa Mică, județul Sibiu. Această zonă este cunoscută ca fiind deosebit de poluată datorită cantităților mari de metale grele aflate în emisiile sursei SC Sometra SA Copșa Mica cu profil de activitate de metalurgie neferoasă. Forma sub care se află metalele grele în sol este în strânsă legătură cu reactivitatea lor precum și cu proprietățile fizico-chimice ale solului. Deși afinitatea metalelor grele față de componenții solului diferă, există câteva tendințe dominante ale metalelor grele de a apărea într-o anumită fracțiune sau combinație, după cum urmează:

- legați sub formă de carbonați: Mn, Cu, Cd, Zn
- legați de fosfați : Pb, Cd, Zn, Mn
- legați de materia organică: Pb, Cu, Ni, Zn, Cr
- legați structural în minerale : cele mai multe metale.

Pentru analiza solului, au fost efectuate extracții ale metalelor din sol folosind apă distilată, acid clorhidric 1 M și 0.1 M, și acid azotic 0.1 M

Protocolul de extracție a constat în adăugarea de 20 ml solvent la 20 g sol, agitare magnetică timp de 40 min și în final filtrare.

La 1 ml din soluția extrasă s-au adăugat 100 μ l PAR 10^{-3} M, soluția devenind instantaneu roșiatică, ceea ce demonstrează formarea complecșilor metalici. Prezența ionilor metalici în solul de la Copșa Mică este evidentă. Din această soluție s-au adăugat 100 μ l la 1 ml coloid de argint redus cu hidroxilamină, culoarea coloidului de argint devenind de culoare verzuie, ceea ce indică adsorbția moleculelor analit de suprafața metalică coloidală. Folosind PAR ca indicator metalic și SERS ca metodă de detecție este demonstrată poluarea cu Zn(II) a solului din zona Copșa-Mică.

Figura 3 prezintă spectrele SERS ale extractelor din sol. Spectrele SERS ale extraselor din sol efectuate cu apă, acid clorhidric, sau acid azotic prezintă profile spectrale foarte asemănătoare cu spectrul SERS al complexului Zn(PAR)₂. Spectrul SERS al extractului din sol efectuat cu apă prezintă o concordanță excelentă cu spectrul SERS al complexului Zn(PAR)₂. Poziția și profilul benzilor marker de la 1010 cm^{-1} și 1335 cm^{-1} sunt în foarte bună concordanță cu cele ale spectrului etalon.

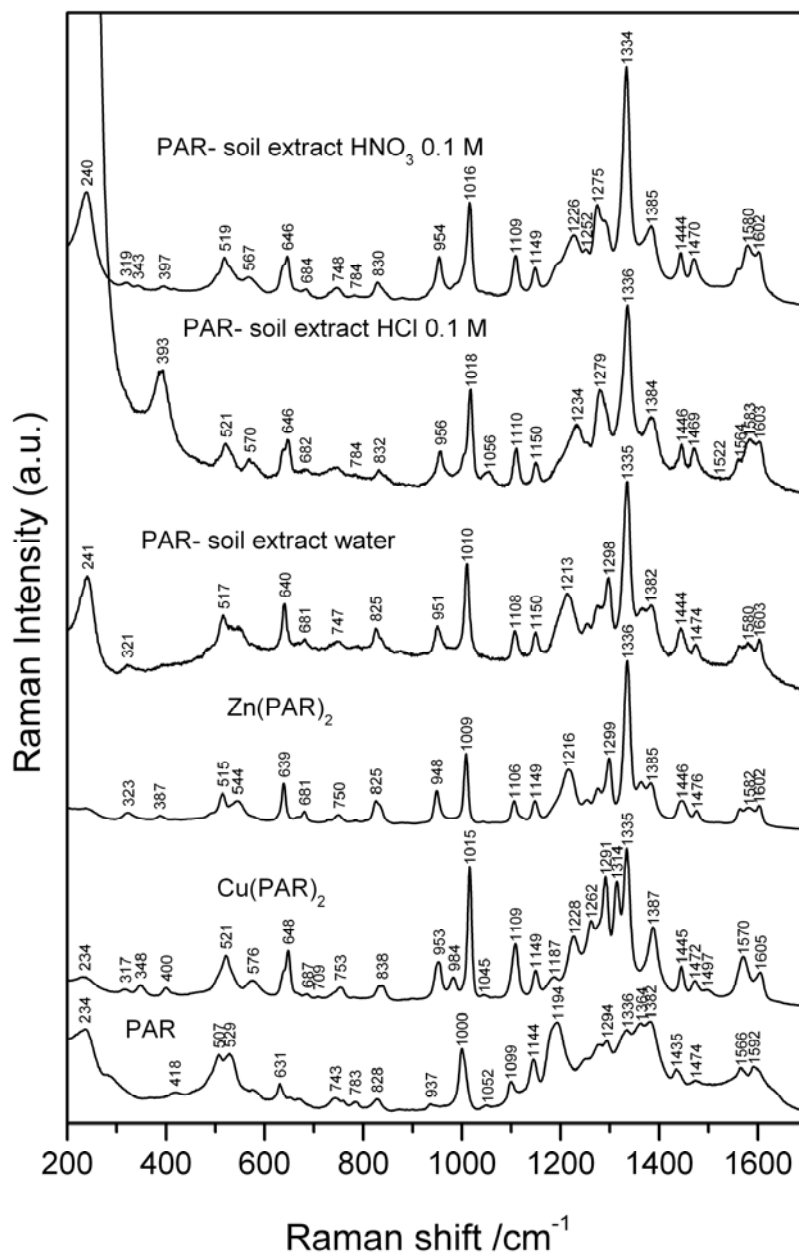


Fig. 3 Spectrele SERS ale extractelor din sol din regiunea Copșa-Mică.

De asemenea, benzile marker în extractele cu acid clorhidric și acid azotic apar la 1018 și 1336 cm^{-1} respectiv 1016 și 1330 cm^{-1} . Deplasarea benzilor de la 1009 cm^{-1} la valori mai mari (1018 cm^{-1} respectiv 1016 cm^{-1}) este pusă pe seama mediului mai acid în care au fost înregistrate, dar nu este exclusă posibilitatea contribuției și a altor complecși metalici extrași din sol, desigur într-o cantitate mult mai mică decât a zincului. De asemenea trebuie menționat că profilul spectral al spectrelor SERS al extractelor de sol efectuate cu HCl și HNO₃ sunt în excelentă concordanță cu profilul spectrului SERS etalon.

Spectrele SERS ale extractelor din sol din zona Copșa Mică indică doar calitativ prezența zincului. Pentru o analiză calitativă este necesară folosirea metodelor complementare cum ar fi spectroscopia UV-VIS.

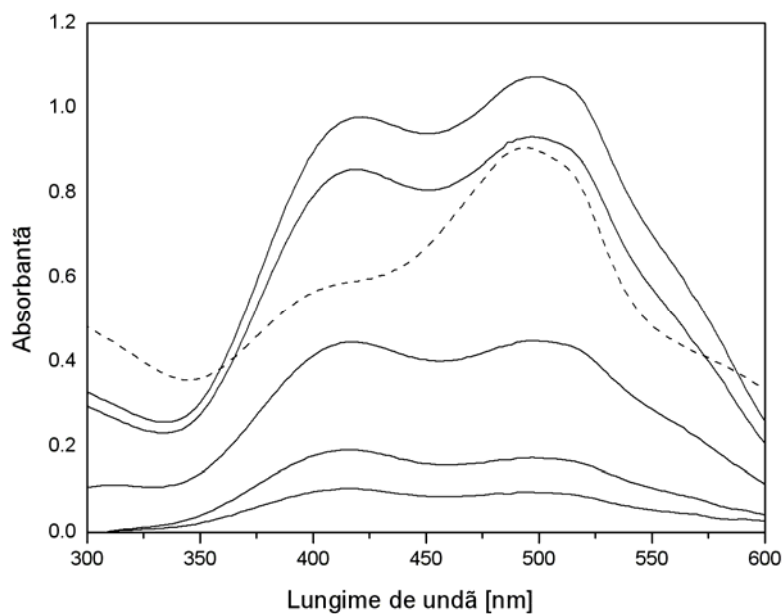


Fig. 4 Spectrele de absorbție UV-Vis al complexului $Zn(PAR)_2$ la diferite concentrații. Spectrul de absorbție al extractului apos de sol este prezentat punctat.

Figura 4 prezintă spectrele de absorbție al complexului $Zn(PAR)_2$ la diferite concentrații.

Curba de calibrare obținută prin spectroscopie UV-VIS este prezentată în figura 5.

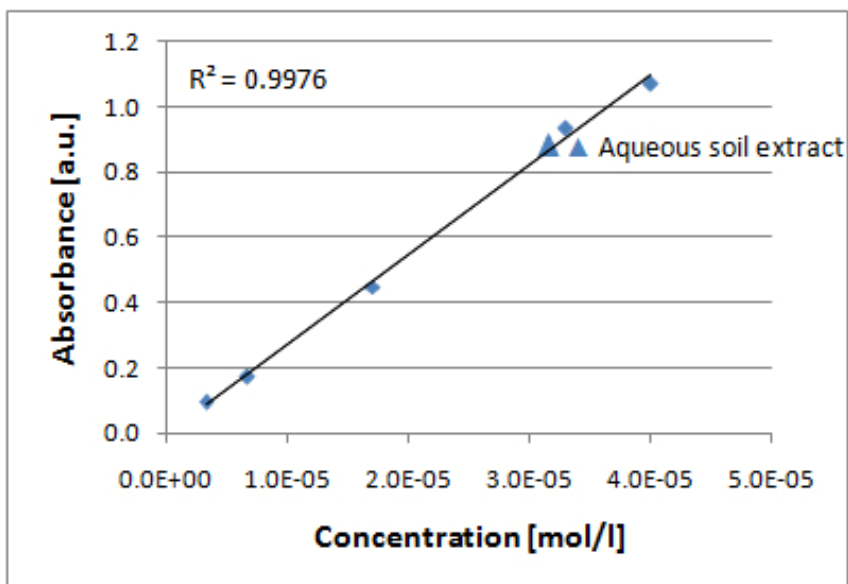


Fig. 5 Curba de calibrare obținută prin spectroscopie UV-VIS pentru complexii $Zn(PAR)_2$.

Ținând cont de curba de calibrare, soluția extractului apos de sol prezintă o concentrație de 6×10^{-4} M pentru ionii de Zn(II), deci, din 20 g sol au fost extrase 0.78 mg Zn(II). Astfel concentrația de Zn(II) este calculată ca fiind 390 mg/kg sol. Acest rezultat este în concordanță cu valorile estimate de APM în zona Copșa Mică.

Acest studiu demonstrează că cele două metode, SERS și absorbția UV-VIS, oferă informații complementare. Spectrele SERS conțin informații specific moleculare - deci informații calitative, iar absorbția se supune legii Lambert-Beer – conține deci informații cantitative.

Pentru a analiza prezența zincului în probele de sol, s-a folosit fluorescența de raze X. Figura 6 prezintă spectrometrul de fluorescență de raze X folosit pentru determinarea metalelor grele din extractele de sol.

Au fost analizate următoarele extracte efectuate cu apă și cu HCl 1M din sol și de asemenea proba de apă.

Din spectrele de fluorescență obținute se poate observa prezența liniilor K_{α} (Zn) în domeniul de valori 9-10 kV. Acest rezultat este în bună concordanță cu spectrul SERS al extractului apos de sol, din figura 3, care indică prezența Zn(II) în proba analizată.

Extracția cu acid HCl este mai eficientă, în sensul că sunt extrași pe lângă ionii de Zn(II) și ioni de Fe(III), așa cum se observă în figura 7.



Fig. 6 Spectrometru de fluorescență de raze X.

Spectrele SERS ale extractelor HCl și HNO₃ din figura 3 prezintă câteva diferențe față de spectrul SERS al extractului apos. Aceste diferențe pot fi puse și pe seama formării complexilor Fe:PAR pe lângă, complexii Zn(PAR)₂ preponderenți. Acest aspect este mai evident dacă se efectuează o extracție consecutivă în 2 pași:

1. extracție cu apă pentru extragerea preponderentă a ionilor Zn(II)
2. extracție cu acid pentru extragerea ionilor legați în săruri și de materia

organică.

Conținutul de metale grele din proba de apă recoltată din râu este sub limita de detecție a aparatului de fluorescență de raze X, și de asemenea nici spectrul SERS nu evidențiază prezența metalelor grele.

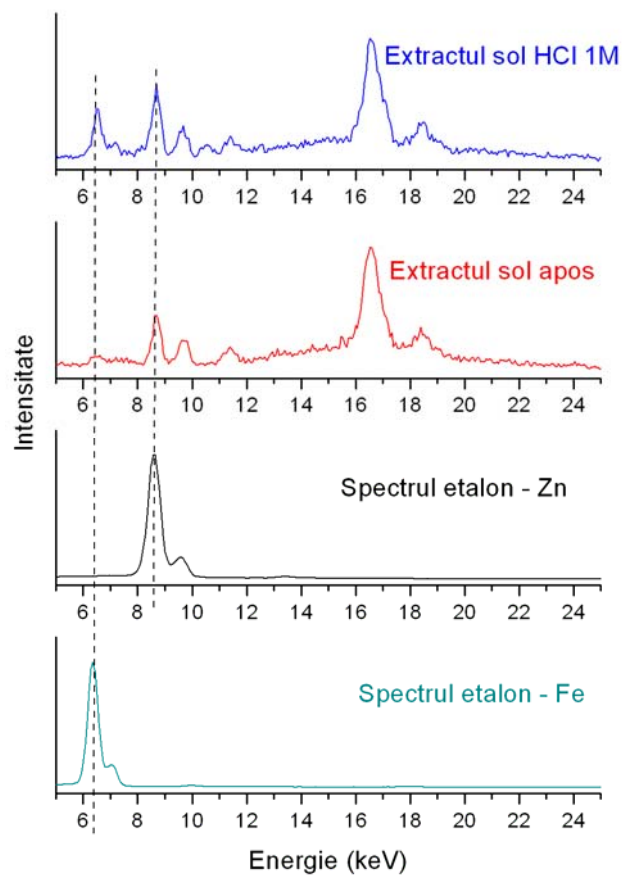


Fig. 7 Spectrele de fluorescență de raze X a probelor extract de sol 1M HCl, extract de sol apos, precum spectrele de etalon a zincului și a fierului.

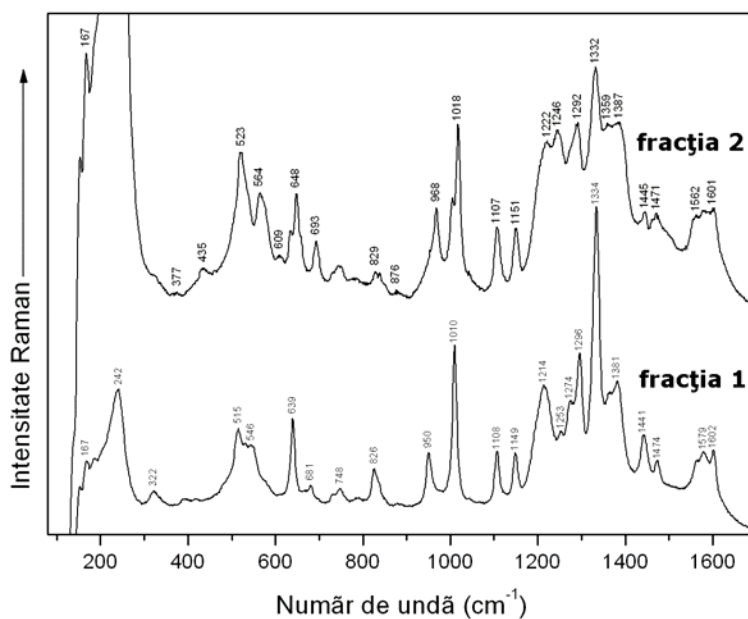


Fig. 8 Spectrele SERS ale celor două fracțiuni obținute în cele două etape de extracție.

Figura 8 prezintă spectrele SERS ale extractelor consecutive, din aceeași probe de sol, efectuate

mai întâi cu apă, apoi acid clorhidric 1 M. Spectrul SERS al fracției 1, extractul sfectuat cu apă, prezintă un profil spectral în excelentă concordanță cu spectrul SERS etalon Zn(PAR)₂ (figura 3). De asemenea benzile marker 1010 și 1334 cm⁻¹ confirmă prezența zincului ăan sol. În spectrul SERS al fracției 2 (extract HCl 1M) banda marker de la 1332 cm⁻¹ este în continuare cea mai intensă bandă, însă intensitatea ei este mult scăzută față de spectrul SERS al fracției 1. Acest aspect arată că majoritatea ionilor Zn(II) au fost extrași în cadrul primului proces de extracție, efectuat cu apă. Totuși, prezența Zn(II) este evidentă și în fracția 2. Prezența ionilor Fe(II), așa cum arată spectrele de fluorescență de raze X, în fracția 2 este relativ dificil de pus în evidență în spectrul SERS al fracției 2. Totuși, în urma unei analize atente, se observă prezența benzii de intensitate medie de la 968 cm⁻¹ poate fi un indicator pentru complexul PAR-Fe. În spectrul SERS etalon PAR-Fe (figura 1) această bandă lipsește în spectrul Zn(PAR)₂.

2. Determinarea ionilor metalici din probe de mediu folosind ionoforul deferoxamine (DFO) și metoda SERS

Ionoforul deferoxamine (DFO) este un bun chelatator pentru ionii de Fe(III) fiind de aceea deseori folosit ca indicator pentru aceștia.

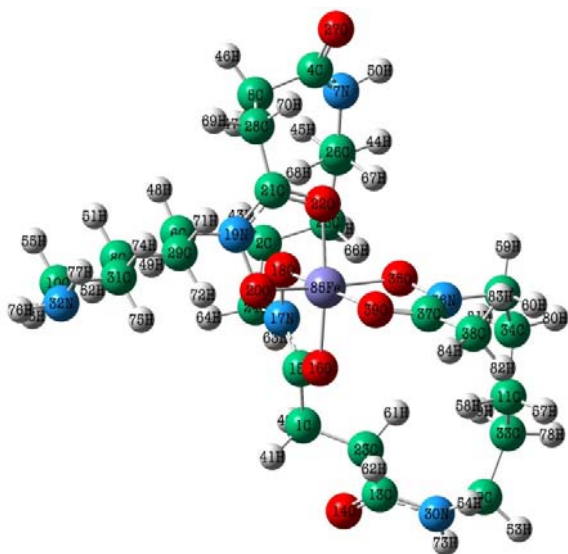


Fig. 9. Geometria optimizată cu metoda DFT B3LYP/6-31G(d) a complexului (DFO)Fe(III).

Au fost prelevate patru probe de sol din zona Murfatlar de la diferite adâncimi.

Cod proba	Adancime
M1	0-20 cm
M2	20-40 cm
M3	40-60 cm
M4	60-80 cm

A fost evidențiat existența ionilor de Fe(III) prin metoda SERS folosind ionoforul DFO.

După cum se vede în tabloul spectral din figura 10 se poate identifica existența ionilor de Fe(III) în probele de sol (banda de la 605 cm^{-1} indică legătura de Fe-O).

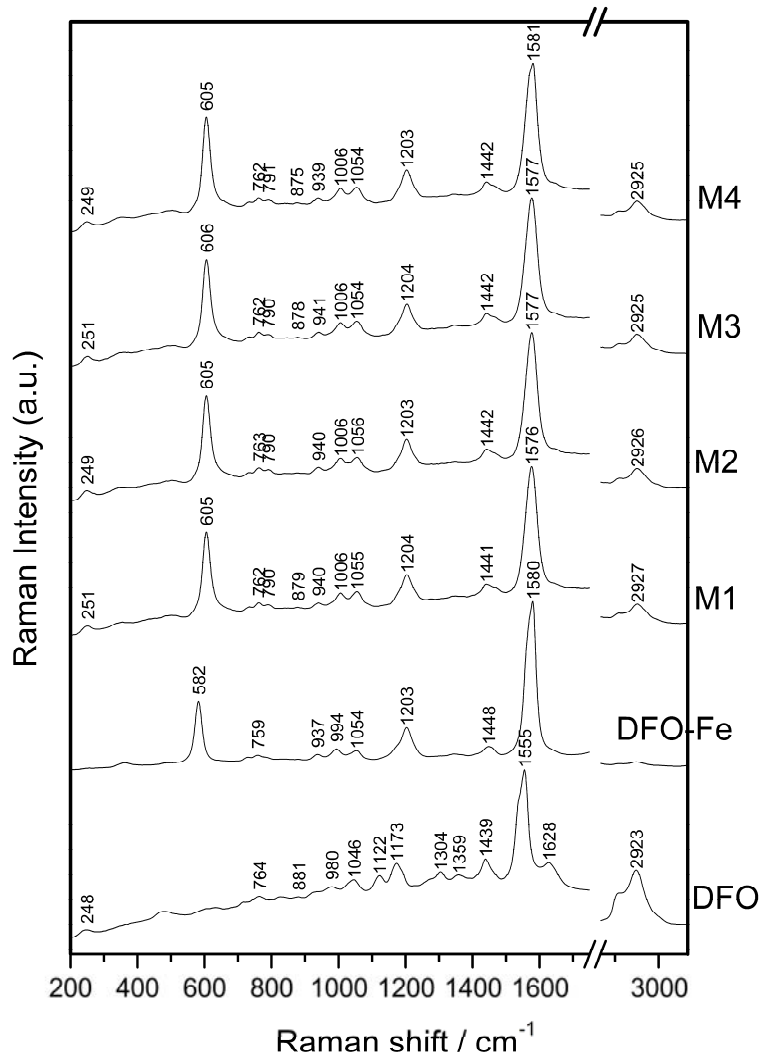


Fig. 10 Spectrele SERS ale extractelor din sol din regiunea Murfatlar.

3. Determinarea ionilor metalici din probe alimentare folosind ionoforul PAR și metoda SERS.

Evidențierea ionilor metalici din probe alimentare este dificilă datorită matricii complexe a acestora. Ca exemplu a fost aleasă leguma morcov, datorită matricii mai puțin complexe. Dezvoltarea acestuia în sol poate fi un bun marker pentru prezența ionilor metalelor grele.

Probele au fost măcinate și extracția a fost efectuată cu apă. La 1 ml extract au fost adăugate $100\ \mu\text{l}$ PAR 10^{-3} M. Din această mixtură au fost adăugate $100\ \mu\text{l}$ la 1 ml coloid de argint sintetizat prin reducere cu hidroxilamină.

Din spectrele SERS s-a dedus că prezența metalelor grele în extras este sub limita de detecție a acestei metode. În spectrele SERS se pot identifica doar benzile carotenoidelor.

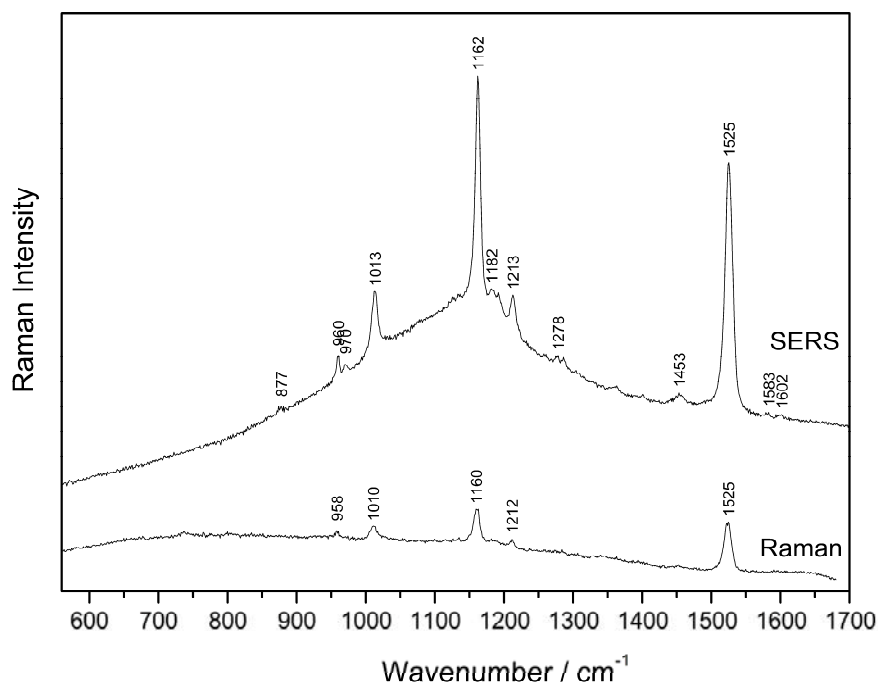


Fig. 11. Spectrele Raman și SERS ale extractului.

Concluzii

Detecția ionilor metalelor grele în probe alimentare și biologice este dificilă datorită matricii complexe. De asemenea prezența metalelor grele în probele alimentare este sub limita de detecție a sistemului experimental.

Contaminarea cu metale grele a solului din zona Copșa-Mică, județul Sibiu, a fost evaluată folosind PAR ca agent de chelatare și SERS ca metodă de detecție. În acest sens au fost efectuate extracte din sol cu apă, acid clorhidric 0.1 M și acid azotic 0.1 M. S-a observat o foarte bună concordanță în profil și poziția benzilor a spectrelor SERS ale acestor extracte cu spectrul SERS etalon $Zn(PAR)_2$. Evaluarea calitativă a zincului în solul de la Copșa-Mică a fost efectuată folosind spectroscopia de absorbție UV-VIS, concentrația determinată 390 mg zinc / kg sol este în bună concordanță cu valorile raportate de Agenția de Protecția Mediului pentru această zonă.

În acest studiu metodele Raman ultrasenzitiv – SERS și absorbția UV-VIS au fost folosite în mod complementar, metoda SERS oferind informație specific moleculară ce poate fi folosită pentru determinări calitative, iar din spectrul de absorbție s-a folosit informația cantitativă.

Prezența zincului în proba de sol din Copșa-Mică a fost evidențiată și din măsurători de fluorescență de raze X, validând astfel rezultatul obținut prin spectroscopia SERS.

Director proiect,
Dr. Szabo Laszlo