



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
CERCETĂRII
TÎNĂREȚII
ȘI SPORTULUI

OIPOSDRU



UNIVERSITATEA "POLITEHNICA"
din BUCUREȘTI

FONDUL SOCIAL EUROPEAN

Investește în oameni!

Programul Operațional Sectorial pentru Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 – 2013

Proiect POSDRU/107/1.5/S/76909 Valorificarea capitalului uman din cercetare prin burse doctorale (ValueDoc)



UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI

Facultatea de Chimie Aplicată și Știința Materialelor

Departamentul de Chimie Anorganică, Chimie Fizică și Electrochimie

Nr. Decizie Senat 223 din 07.06.2013

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Metode și metodologii în determinări analitice cu aplicații în evaluări de mediu și sănătate

*Methods and methodologies in analytical determinations with applications for
environmental and health assessments*

Conducător de doctorat:

Prof.Dr.Ing. Eleonora-Mihaela UNGUREANU

Autor:

Ing. Luisa-Roxana MANDOC (POPESCU)

București 2013

CUPRINS

CUPRINS	3
LISTA DE SIMBOLURI ȘI ABREVIERI	7
MULȚUMIRI	9
INTRODUCERE	10
I. REFERAT DE LITERATURĂ	15
CAPITOLUL 1. METODE MODERNE PENTRU DETERMINAREA METALELOR GRELE	16
1.1. Poluarea mediului cu metale grele	16
1.2. Metode de detecție a metalelor grele	31
CAPITOLUL 2. METODE FOLOSITE IN DETERMINARI ANALITICE SPECIFICE PROBELOR BIOCHIMICE	46
2.1. Biosenzori	46
2.1.1. Definiție	46
2.1.2. Evoluția biosenzorilor electrochimici	47
2.1.3. Metode de imobilizare	48
2.2. Enzime	49
2.2.1. Noțiuni de cinetică enzimatică	50
2.2.1.1. Cinetica enzimatică în fază omogenă	50
2.2.1.2. Cinetica enzimatică în fază eterogenă	52
2.2.2. Glucozoxidaza (GOX)	54
2.2.3. Polifenoloxidaza (PPO)	55
2.3. Biocaptori bazați pe polimeri electrogenerați	55
2.4. Biocaptori bazați pe arhitecturi tridimensionale	60
2.4.1. Funcționalizarea chimică și solubilitatea nanotuburilor de carbon	60
2.4.2. Utilizarea nanotuburilor de carbon pentru realizarea de arhitecturi tridimensionale	61
2.5. Arhitecturi biomoleculare bazate pe polimeri de acid (pirol-nitriлотriacetic) (pirol-NTA)	65
2.5.1. Generalități	65
2.5.2. Acidul nitriлотriacetic (NTA) și complexul NTA/Cu ²⁺	66
2.5.3. Interacția NTA/Cu ²⁺ /Histidină	67
2.5.4. Poli(pirol-NTA)	68
2.5.4.1. Sinteza de pirol-NTA	68
2.5.4.2. Caracterizarea de pirol-NTA	68
2.5.5. Studii electrochimice pentru pirol-NTA	69
2.5.5.1. Stabilirea proprietatilor electrochimice pentru pirol-NTA	69
2.5.5.2. Polimerizarea de pirol-NTA	69
2.5.5.3. Polimerizare prin voltametrie ciclică	70
2.5.5.4. Polimerizare la potențial controlat	71
2.5.5.5. Studiu de permeabilitate	72
CAPITOLUL 3. TEHNICI EXPERIMENTALE FOLOSITE IN STUDIILE EFECTUATE	76
3.1. Spectroscopia de absorbție atomică (AAS)	76
3.2. Spectrometrie de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv, cuplată cu generator de hidruri în flux (FIAS-ICP-EOS)	80
3.3. Metode electrochimice	81
3.3.1. Voltametrie ciclică (CV)	81
3.3.2. Voltametrie puls-diferențială (DPV)	85
3.3.3. Electrode disc-rotator (RDE)	87
3.3.4. Metode bazate pe electrozi modificați chimic (CME)	92
II. CONTRIBUȚII ORIGINALE	97
CAPITOLUL 4. DETALII EXPERIMENTALE PRIVITOARE LA STUDIILE EFECTUATE	98

4.1. Aparatura folosită	98
4.1.1. Aparatura pentru AAS	98
4.1.2. Aparatura pentru FIAS-ICP-EOS	98
4.1.3. Aparatura pentru studii electrochimice și formare de filme	98
4.2. Reactivi utilizați	99
4.2.1. Reactivii pentru AAS	99
4.2.2. Reactivii pentru FIAS-ICP-EOS	100
4.2.3. Reactivi pentru studii electrochimice și formare de filme	100
4.2.3.1. Reactivi utilizați pentru prepararea electrozilor enzimatici	100
4.2.3.2. Reactivi utilizați pentru CME pe bază de compuși azulenici pentru detecția ionilor de metale grele	100
4.2.3.3. Reactivi utilizați pentru prepararea electrozilor pe bază de TEMPO–piren	101
4.3. Modul de lucru pentru studiile efectuate	101
4.3.1. Modul de lucru pentru AAS	101
4.3.2. Modul de lucru pentru FIAS-ICP-EOS	102
4.3.2.1. Pregătirea probelor pentru FIAS-ICP-EOS	102
4.3.2.2. Metoda de determinare FIAS-ICP-EOS	102
4.3.3. Modul de lucru pentru studii electrochimice și formare de filme	103
4.3.3.1. Modul de lucru pentru studiile realizate pe electrozi modificați cu nano-CaCO ₃ pentru detecția glucozei și catecolului	103
4.3.3.2. Modul de lucru pentru studiile realizate pe electrozi modificați cu poliL pentru detecția metalelor grele	104
4.3.3.3. Modul de lucru pentru studiile realizate pe electrozi modificați cu TEMPO-piren pentru detecția fierului(II)	104
4.4. Prelevarea probelor	105
4.4.1. Prelevarea de probe din Bazinul Hidrografic Olt (BH Olt)	105
4.4.2. Prelevarea de probe din platforme industriale	110
4.4.2.1. Delimitarea zonei de studiu	110
4.4.2.2. Colectarea, pregătirea și analiza probelor	110
4.4.2.2.1. Probe de ape de suprafață	111
4.4.2.2.2. Probe de sedimente și sol	111
CAPITOLUL 5. EVALUĂRI ANALITICE DE METALE GRELE PRIN AAS DIN PROBE REALE DIN ZONA UNEI PLATFORME INDUSTRIALE	
	113
5.1. Scopul studiului	113
5.2. Evaluarea conținutului de metale grele din apă	113
5.3. Evaluarea conținutului de metale grele din sedimente	114
5.4. Evaluarea conținutului de metale grele din sol	117
5.5. Concluzii privitoare la poluarea cu metale grele a platformei industriale	118
CAPITOLUL 6. EVALUĂRI DE MERCUR PRIN AAS CU VAPORI RECI DIN PROBE REALE DIN BH OLT	
	120
6.1. Scopul și obiectivul studiului	120
6.2. Determinări de mercur din probe de apă din BH Olt	120
6.3. Determinări de mercur din probe de sedimente din BH Olt	123
6.4. Determinări de mercur din probe de sol de pe platforme industriale situate în vecinătatea BH Olt	127
6.5. Concluzii privitoare la poluarea cu mercur a BH Olt	132
CAPITOLUL 7. ELABORAREA UNOR NOI METODE ȘI METODOLOGII DE ANALIZĂ A MERCURULUI ȘI COMPARAREA ACESTORA CU CELE CONVENȚIONALE	
	134
7.1. Elaborarea unei metodologii bazate pe metoda FIAS-ICP-EOS pentru detecția mercurului și compararea acesteia cu metoda AAS cu vapori reci	134

7.1.1. Scopul utilizării metodei FIAS-ICP-EOS	134
7.1.2. Parametrii analitici obținuți prin FIAS-ICP-EOS	134
7.1.3. Compararea parametrilor analitici obținuți prin FIAS-ICP-EOS și AAS	142
7.1.4. Aplicații ale metodelor FIAS-ICP-EOS și AAS pentru detecția mercurului din probe reale de apă	143
7.1.5. Concluzii asupra utilizării metodei FIAS-ICP-EOS pentru determinarea mercurului	144
7.2. Elaborarea unei metode pentru determinarea mercurului prin voltametrie de stripping anodic (ASV) pe electrozi modificați și compararea acesteia cu metoda AAS cu vapori reci	144
7.2.1. Măsurători folosind metoda AAS	145
7.2.2. Măsurători prin ASV	146
7.2.3. Comparatia metodelor AAS și ASV pentru determinarea mercurului	149
CAPITOLUL 8. REALIZAREA UNEI METODE BAZATE PE ELECTROZI MODIFICAȚI CU ENZIME PENTRU DETERMINĂRI ANALITICE DE FENOLI ȘI GLUCOZĂ	
	151
8.1. Optimizarea condițiilor de lucru	151
8.2. Obținerea de CME prin polimerizare la potențial controlat	152
8.3. Realizarea și regenerarea biocaptorilor pe bază de nano-CaCO ₃ și poli(pirol-NTA)	154
8.4. Calculul permeabilității filmelor de polipirol-NTA și nano-CaCO ₃	155
8.5. Caracterizarea CME cu polipirol-NTA și nano-CaCO ₃	160
8.6. Aplicații ale CME cu polipirol-NTA și nano-CaCO ₃	160
8.6.1. Aplicații ale CME cu polipirol-NTA și nano-CaCO ₃ pentru detecția glucozei	161
8.6.2. Aplicații ale CME cu polipirol-NTA și nano-CaCO ₃ pentru detecția catecolului	164
CAPITOLUL 9. REALIZAREA UNEI METODE BAZATE PE ELECTROZI MODIFICAȚI CU FILME COMPLEXANTE DE POLI(4-AZULEN-1-IL-2,6-BIS(2-TIENIL)PIRIDINA) (POLIL) PENTRU DETERMINARI VOLTAMETRICE DE IONI DE PLUMB SI CADMIU	
	167
9.1. Stabilirea potențialului de polimerizare	168
9.2. Aplicații ale electrozilor modificați poliL în determinarea ionilor metalici	170
9.3. Experimente de reproductibilitate și precizie a măsurătorilor	175
9.4. Experimente de selectivitate și interferență	176
9.5. Determinarea ionilor de plumb din probe reale folosind CME cu poliL	178
9.6. Concluzii asupra CME cu poliL	178
CAPITOLUL 10. REALIZAREA UNEI METODE BAZATE PE CME CU NANOTUBURI DE CARBON MWCNT ȘI TETRAMETILPIPERIDINIL-PIREN (TEMPO-PIREN) PENTRU ANALIZA IONILOR DE FIER(II)	
	179
10.1. Optimizarea condițiilor de lucru	179
10.2. Detecția ionilor de fier(II) pe electrozi de carbon vitros în soluție de TEMPO-piren	181
10.2.1. Experimente pentru detecția ionilor de fier în mediu de acetonitril și TBAP	181
10.2.2. Experimente pentru detecția ionilor de fier în mediu de dimetilformamidă (DMF) și TBAP	182
10.3. Detecția ionilor de fier(II) pe electrozi modificați cu matricea MWCNT/TEMPO-piren	183
10.3.1. Experimente realizate în aer	183
10.3.1.1. Măsurători folosind metoda voltametriei ciclice	184
10.3.1.2. Măsurători folosind metoda cronoamperometrică	185
10.3.2. Experimente realizate în atmosfera controlată (sub argon în camera cu mănuși)	187
10.3.3. Reproductibilitatea experimente pe CME cu matricea MWCNT/TEMPO-piren	188
10.4. Concluzii asupra CME cu matricea MWCNT/ TEMPO-piren	188
III. CONCLUZII FINALE	189
LUCRĂRI ELABORATE PE PARCURSUL TEZEI DE DOCTORAT	192
BIBLIOGRAFIE	194

MULȚUMIRI

În elaborarea acestei lucrări m-am bucurat de colaborarea unor specialiști cu calități profesionale și umane de excepție, cărora doresc să le mulțumesc.

Doresc să exprim recunoștința, respectul și mulțumirile mele doamnei Prof. Dr. Ing. Eleonora-Mihaela Ungureanu de la Departamentul de Chimie Anorganică, Chimie Fizică și Electrochimie, Facultatea de Chimie Aplicată și Știința Materialelor, Universitatea Politehnică din București, pentru răbdarea cu care m-a susținut pe parcursul anilor de studii doctorale, pentru competența profesională și calitățile umane deosebite, cu care m-a îndrumat pe tot parcursul elaborării tezei de doctorat.

Mulțumesc în mod deosebit domnului Dr. Serge Cosnier, Director de Cercetare CNRS Departamentul de Chimie Moleculară, Universitatea Joseph Fourier, Grenoble, Franța, pentru sprijinul profesional acordat în perioada stagiilor pe care le-am efectuat (în cadrul programului POSDRU 76909) care a făcut obiectul a două capitole importante ale acestei teze. De asemenea, mulțumesc doamnei dr. Karine Gorgy, domnului dr. Michael Holzinger și domnului dr. Kamal Elouarzaki pentru amabilitatea cu care m-au îndrumat în perioada stagiilor doctorale.

Mulțumesc în mod deosebit și doamnei doamnei Dr. Chim. Margareta Nicolau, director general INCD ECOIND, care m-a inspirat prin curajul, profesionalismul, puterea de muncă și modalitatea de a face față greutăților și obstacolelor întâmpinate, atât pe plan profesional cât și personal, pentru înțelegerea și sprijinul acordat pe parcursul elaborării tezei de doctorat.

Mulțumesc în mod deosebit și doamnei Dr. Ing. Maria Jitaru, datorită căreia m-am înscris la doctorat, pentru sprijinul și ajutorul acordat în formarea mea profesională, pentru devotamentul cu care m-a îndrumat și călăuzit la începutul „drumului” în domeniul cercetării și mi-a arătat calea pe care ar trebui să o urmez.

Mulțumesc foarte mult profesorilor Dr. Ing. Teodor Vișan, Dr. Elena Diacu, Dr. Ing. Raluca Isopescu de la care am învățat multe noțiuni necesare în activitatea de cercetare. Mulțumesc în mod special colegilor Dr. Ing. George Buică, Dr. Ing. Magdalena-Rodica Bujduveanu, Drd. Biochim. Georgiana Inel, Ing. Alexandru - Anton Ivanov, Ing. Cristina - Andreea Amarandei, Ing. Cristina Dinu, Drd. Cătălina Neagu, pentru ajutorul profesional, răbdarea și prietenia lor, precum și pentru colaborarea științifică fructuoasă.

Mulțumesc mamei mele adoptive, Rus Elvira pentru ajutorul, susținerea, sfaturile și răbdarea cu care m-a îndrumat încă din anii facultății; îi mulțumesc pentru că am găsit la ea sprijinul, iubirea pe care o mamă ar trebui să le ofere ficei sale.

Mulțumesc soțului meu, Valentin - Cosmin Popescu pentru susținerea, ajutorul și înțelegerea acordată, pentru că a îngrijit-o „ca pe o floare” pe fetița noastră atunci când eu eram plecată în al doilea stadiu doctoral și pentru că m-a iertat atunci când nu i-am acordat atenția cuvenită, pe parcursul elaborării tezei de doctorat.

Mulțumesc ficei mele, Maria - Amelia Popescu, care a crescut odată cu teza mea de doctorat și mamei mele Elena Mandoc, care m-a însoțit, alături de fiica mea, în primul stadiu doctoral, pentru înțelegerea tacită, răbdarea acordată și pentru că m-au iertat atunci când nu le-am acordat atenția cuvenită.

Mulțumesc călduros domnilor profesori și cercetători care au acceptat să fie referenți ai tezei mele de doctorat, pentru solitudinea cu care au analizat lucrarea mea, tuturor celor care în mod direct sau indirect au contribuit la finalizarea acestei lucrări.

Această lucrare a fost finanțată de programul POSDRU/107/1.5/S/76909 (ValueDoc) iar parțial din contractul de cercetare numărul 21943 / 31.12.2010 al Agenției Universitare a Francofoniei.

Autoarea

INTRODUCERE

Chimia electroanalitică joacă un rol foarte important în protecția mediului înconjurător, în particular, senzorii electrochimici prezintă un mare interes pentru monitorizarea poluanților prioritari pe teren, precum și pentru rezolvarea altor necesități de mediu. Ei trebuie să fie sensibili și selectivi față de speciile electroactive, rapizi, preciși, compacți, portabili și având un cost redus. Aceste caracteristici au avut deja un puternic impact și asupra descentralizării analizei clinice. Cu toate că prezintă un mare potențial pentru monitorizări de mediu, aplicațiile senzorilor electrochimici pentru controlul poluării sunt încă în stadiu incipient.

Teza de doctorat intitulată: **METODE ȘI METODOLOGII ÎN DETERMINĂRI ANALITICE CU APLICAȚII ÎN EVALUĂRI DE MEDIU ȘI SĂNĂTATE** aduce o contribuție importantă la dezvoltarea cunoștințelor din domeniul metodelor analitice de mediu și sănătate, urmărind elaborarea de noi senzori electrochimici. Tema tezei se integrează în domeniul dezvoltării de noi metode pentru analizele de mediu precum și al elaborării de senzori electrochimici bazați pe electrozi modificați, cu aplicabilitate în laboratoarele de analize de mediu și sănătate. Acest domeniu este de interes major în cercetarea internațională. Studiul propus a urmărit obținerea unor senzori amperometrici cu aplicabilitate în mediul și sănătății, bazați pe electrozi modificați cu filme polimerice, sensibili la poluanți, precum ionii de metale grele, (în special, ionii de mercur, cupru, plumb, cadmiu și fier(II)), compuși fenolici și glucoză.

Teza de doctorat se încadrează în cercetarea globală privind sistemele macromoleculare de tip gazdă, create prin polimerizarea unor monomeri derivați de azulenă sau adsorbția derivaților de piren. Sistemele studiate pentru realizarea de electrozi modificați chimic (CME) au la baza Na^+ , $\text{N}\alpha$ -Bis(carboximetil)-L-lisin amida acidului 11-pirol-1-il-undecanoic acid (pirol-NTA), tetrafluoroboratul de (11-pirolil-1-undecil) trietil-ammoniu (pirol-amoniu), 4-azulen-1-il-2,6-bis(2-tienil) piridină, etilendi-aminotetra-N-(3-pirol-1-il) propilacetamidă și tetrametilpiperidinil-piren (TEMPO-piren). Aceste molecule sunt relevante în chimia supramoleculară, fiind capabile să lege selectiv anumite specii organice sau anorganice. Ele prezintă proprietăți de recunoaștere pe baza cărora, după electropolimerizare sau adsorbție, se poate obține un film subțire cu proprietăți senzoriale. Transpoziția proprietăților de recunoaștere de la un sistem omogen la unul heterogen are în vedere următoarele avantaje: utilizarea unei cantități semnificativ mai mici de ligand în comparație cu același sistem în stare omogenă, posibilitatea de automatizare a metodei de analiză într-un flux tehnologic (sistem on-line), miniaturizarea sistemului de detecție.

În cadrul tezei, s-au realizat noi electrozi modificați, precursorii unor echipamente și aparate de înaltă precizie, ce pot fi folosiți pentru analiza metalelor grele din probe reale de mediu (apă, sol și sedimente), precum și a unor molecule de interes în biologie și sănătate (glucoza, fenoli). Teza se bazează pe sinergia laboratoarelor de cercetare unde s-au realizat experimentele: laboratorul de electrochimie organică din Departamentul de Chimie anorganică, chimie fizică și electrochimie din cadrul Universității Politehnice din București (UPB), laboratoarele de analiză instrumentală de la Institutul Național de Cercetare și Dezvoltare

pentru Ecologie Industrială (INCD ECOIND), precum și laboratorul CNRS 2619 "Microbiocapteurs" de la Universitatea Joseph Fourier (UJF), din Grenoble, Franța. În ultimul laborator menționat, s-au realizat studiile experimentale cu privire la elaborarea de biosenzori electrochimici pe parcursul a două stagii doctorale desfășurate în perioada martie – iulie 2012 și aprilie – iulie 2013.

Activitățile de cercetare din cadrul tezei au fost compatibile cu specificul laboratoarelor unde s-au desfășurat experimentele, ele fiind legate de: sinteza și caracterizarea unor liganzi (pirol-NTA, pirol-amonium și TEMPO-piren), realizarea de senzori electrochimici (UPB, UJF), testare pe probe reale de sol a senzorilor electrochimici realizați (UPB), evaluarea conținutului de ioni metalici din probe reale de sol, apă și sedimente utilizând metode clasice și moderne de analiză (INCD ECOIND).

Obținerea de electrozi modificați pe bază de polimeri conductori pentru recunoaștere, subiect ce reprezintă obiectivul principal al tezei, este o preocupare majoră în cercetările desfășurate în prezent la nivel mondial. Electrozii modificați chimic (Chemically Modified Electrodes, CME) au suscitat un interes constant de-a lungul timpului, cercetătorii încercând să înțeleagă și să controleze natura chimică a electrozilor în așa fel încât aceștia să răspundă unor criterii analitice de performanță cât mai ridicate.

Electrozii modificați chimic, CME, și-au găsit numeroase aplicații în conversia și stocarea energiei, electronică moleculară, display-uri electronice, protecție anticorozivă, electroanaliză și electrosinteză organică selectivă. Trăsătura caracteristică a electrozilor modificați chimic este aceea că suprafața electrodului este acoperită cu un film foarte subțire de compus chimic (de la un monostrat molecular la multistraturi de câțiva micrometri grosime). Această modificare conferă electrodului proprietățile chimice, electrochimice, optice, electrice, de transport, etc. ale substanței immobilizate pe suprafața lui. Astfel, posibilitățile de investigație conferite suprafeței electrodului modificat sunt cu mult mai extinse decât în cazul electrozilor ion-selectivi, care se axează în special pe partiția și proprietățile de schimb ionic ale membranelor electrodice.

În dezvoltarea senzorilor chimici, o etapă importantă a constituit-o obținerea și utilizarea de polimeri conductori. Aceștia prezintă o conductivitate mixtă, ionică și electronică, prin urmare se comportă ca traductori ionici și electronici. Datorită acestei proprietăți, polimerii conductori promit obținerea și dezvoltarea de senzori electrochimici robuști, reproductibili, ușor de realizat și întreținut, proprietăți care sunt de dorit pentru aplicații punctuale, cum ar fi monitorizarea on-line a proceselor de analiză și determinări clinice. Acest tip de senzori poate oferi performanțe analitice ridicate, cum ar fi o limită de detecție ridicată la costuri reduse, existând și posibilitatea miniaturizării electrozilor și de automatizare a determinărilor.

În acest context, este pe deplin justificată tema tezei de doctorat: „**METODE ȘI METODOLOGII ÎN DETERMINĂRI ANALITICE CU APLICAȚII ÎN EVALUĂRI DE MEDIU ȘI SĂNĂTATE**” care și-a propus să pună la punct noi metode bazate pe senzori electrochimici în vederea unor aplicații în laboratoarele de analiză de mediu și sănătate, să testeze aceste metode pe probe reale și să evalueze poluarea cu metale grele din sol, apă și sedimente în zone de interes stabilite prin programe naționale, în paralel cu metodele clasice utilizate în prezent

Scopul definit al acestei teze de doctorat este de a efectua studii în vederea găsirii de noi metode și metodologii pentru determinări analitice utilizate în domeniul medical și al mediului (determinări de glucoză, compuși fenolici și ioni de metale grele). Aceste cercetări sunt necesare și oportune și au condus la o examinare complexă și comparativă a metodelor utilizate în prezent în laboratoarele de analize de mediu și sănătate. Au fost puse în evidență performanțele noilor metode propuse spre utilizare, bazate pe folosirea de electrozi modificați.

În vederea atingerii scopului propus, activitatea de cercetare a fost structurată pe următoarele **obiectivele majore**:

- evaluarea conținutului de ioni metalici (metale grele îndeosebi) din probe reale de sol, apă și sedimente, prin metode convenționale recunoscute ca spectroscopia de absorbție atomică (AAS);
- stabilirea metodologiei pentru detecția ionilor metalici, folosind metode moderne ce se impun a fi implementate în România, ca de exemplu spectrometria de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv, cuplată cu generator de hidruri în flux (FIAS-ICP-EOS) pentru analiza ionilor metalici;
- punerea la punct a unor metode noi de analiză a ionilor metalici și a unor molecule de interes biologic, bazate pe electrozi modificați chimic (CME) pentru determinări de mediu și sănătate;
- optimizarea condițiilor de lucru pentru realizarea de senzori performanți utilizați pentru aplicații în domeniul mediului și în cel medical;
- testarea senzorilor realizați pe probe reale de ape, sol și sedimente;
- compararea rezultatelor obținute prin metodele noi propuse cu cele obținute prin metodele clasice de determinare.

Teza de față este structurată în două părți (I și II) grupate în 10 capitole.

PARTEA I - Cercetarea bibliografică, conține un studiu de literatură cu privire la metodele convenționale și moderne pentru analiza ionilor metalici și a unor specii de interes biologic utilizate în laboratoarele de mediu și sănătate. Prima parte este sistematizată în trei capitole după cum urmează:

Capitolul 1. Metode moderne pentru determinarea metalelor grele;

Capitolul 2. Metode moderne pentru determinări analitice specifice probelor biochimice;

Capitolul 3. Tehnici experimentale folosite în studiile efectuate.

PARTEA a II-a „Contribuții originale”, conține rezultatele cercetărilor proprii, prezentate în șapte capitole, cu următorul conținut:

Capitolul 4. Detalii experimentale privitoare la studiile efectuate;

Capitolul 5. Evaluări analitice de metale grele prin AAS, din probe reale prelevate din zona unei platforme industriale;

Capitolul 6. Evaluări de mercur prin AAS din probe reale din Bazinul Hidrografic Olt;

Capitolul 7. Elaborarea unor metode și metodologii de analiză a mercurului și compararea acestora cu cele convenționale;

Capitolul 8. Realizarea unei metode bazate pe electrozi modificați cu enzime pentru determinări analitice de fenoli și glucoză;

Capitolul 9. Realizarea unei metode bazate pe electrozi modificați cu filme complexante de poli(4-azulen-1-il-2,6-bis(2-tienil)piridină) pentru determinări voltametrice de ioni de plumb și cadmiu;

Capitolul 10. Realizarea unei metode bazate pe electrozi modificați cu nanotuburi de carbon MWCNT și tetrametilpiperidinil-piren (TEMPO-piren) pentru analiza ionilor de fier(II).

La sfârșitul lucrării sunt prezentate **concluziile** generale ale tezei de doctorat, din care rezultă că scopul și obiectivele stabilite au fost integral îndeplinite. Astfel, au fost obținuți noi electrozi modificați care au fost testați pentru detecția ionilor metalici (îndeosebi ioni de metale grele) și a unor specii de interes biologic (glucoză și fenoli), s-a realizat analiza unor probe reale de sol folosind acești electrozi modificați, s-au comparat rezultatele astfel obținute cu cele obținute prin metodele analitice convenționale. Folosind metodele analitice convenționale, s-a realizat evaluarea poluării cu metale grele a probelor reale de sol, apă și sedimente, ceea ce este o preocupare prezentă a laboratoarelor de mediu.

Elaborarea de noi senzori electrochimici robuști, reproductibili, ușor de realizat și întreținut, proprietăți care sunt de dorit pentru aplicații punctuale, cum ar fi monitorizarea on-line a proceselor de analiză și determinări clinice, oferă performanțe analitice ridicate, limită de detecție cât mai scăzută la costuri reduse, existând și posibilitatea miniaturizării electrozilor și de automatizare a determinărilor. De asemenea, determinarea permanentă a poluanților chimici, în vederea luării unor măsuri corespunzătoare de reducere a lor, este permanent necesară, deoarece semnalează pericolele iminente de poluare a mediului înconjurător.

CONTRIBUȚII ORIGINALE

CAPITOLUL 4.

DETALII EXPERIMENTALE REFERITOARE LA STUDIILE EFECTUATE

4.1. APARATURA FOLOSITĂ

4.1.1. Aparatura pentru AAS

Măsurătorile pentru detecția mercurului au fost efectuate cu ajutorul unui spectrometru de absorbție atomică, AAS Unicam. Probele au fost analizate prin AAS în conformitate cu metoda descrisă în SR ISO 11466:1999 și SR EN 1483: 2007 [6, 7].

Ionii de Cu, Ni și Cd au fost determinați folosind un spectrometru de absorbție atomică ATI UNICAM 929 SOLAAR, echipat cu o flacără aer-acetilenă. Concentrațiile de metale grele din apă, sedimente și sol au fost evaluate folosind aparatura precizată în standardele din legislația de mediu. Lungimile de undă la care s-au analizat Cu, Cd și Ni au fost 324,8, 228,8 și respectiv 232.0 nm.

În paralel analizele de probe reale au fost realizate cu spectrometrul de absorbție atomică Graphite Furnace de la Analytik Jena ZeEnit 650, Autosampler MPE60.

4.1.2. Aparatura pentru FIAS-ICP-EOS

Studiile pentru mercur au fost efectuate cu spectrometru ICP –EOS, tip OPTIMA 5300 DV, Perkin Elmer, dotat cu doi detectori (UV și VIS), cu determinare simultană a elementelor, citirea plasmăi atât axial cât și radial în cadrul aceleiași metode cuplat cu generator de hidruri în flux , FIAS 400 Perkin Elmer.

Cântărirea reactivilor s-a realizat cu Balanta analitică Kern ABT 220-50M, iar incubarea probelor a fost realizată cu ajutorul băi de apă Bandelin Sonorex.

4.1.3. Aparatura pentru studii electrochimice și formare de filme

Investigațiile electrochimice au fost realizate în mediu de argon folosind un potențostat AUTOLAB 100 (EcoChemie, Utrecht, The Netherlands) sau un PGSTAT 12 AUTOLAB, iar măsurătorile amperometrice au fost realizate cu un potențostat Tacussel PRG-DL.

Experimentele electrochimice au fost efectuate folosind un sistem convențional de trei electrozi. Pentru mediu apos ca electrod de referință s-a folosit un electrod saturat de calomel, iar o foaie de platină ca și contraelectrod. Pentru mediul organic (în electrolitul pe bază de acetonitril) au fost utilizați ca referință electrozii de Ag/Ag⁺ (AgNO₃ 10⁻² mol L⁻¹ în CH₃CN + 0,1 mol L⁻¹ LiClO₄, respectiv 0,1 mol L⁻¹ TBAP). Electrozii de lucru au fost discuri de carbon vitros (3 și 5 mm) și platină (5 mm) modificați în funcție de scop cu diferite substraturi: poli(pirol-NTA), poli(pirol-amonium), poli(etilendiaminotetra-N-(3-pirol-1-il)propilacetamida) (poliL1), 4-azulen-1-il-2, 6 - bis (2-tienil) piridină (poliL) și TEMPO-piren. Înainte de utilizare electrozii de carbon vitros au fost curățați cu pastă diamantată de 200 μm pe pâslă electrodică și au fost clătiți ulterior cu acetonă și etanol.

Pentru a măsura pH-ul a fost utilizat pH-metrul Denver Instrument model 220.

Măsurătorile spectrofotometrice au fost realizate cu ajutorul unui spectrofotometru UV/Vis UV-2550 (Shimadzu, Japan).

Morfologia electrozilor de carbon vitros modificați cu nano-CaCO₃ a fost evaluată cu ajutorul unui microscop Keyence laser 3D.

Faza solidă a CaCO₃ a fost caracterizată prin următoarele metode: spectroscopie de infraroșu cu transformata Fourier (FT -IR), folosind un spectrofotometru Perkin-Elmer, difracție de raze X (XRD) cu un difractometru Bruker D8 Advance, iar distribuția dimensiunii particulelor a fost determinată prin Dynamic Light Scattering (DLS) cu Mastersizer 2000 cu o unitate de dispersie semi-automată Hydro2000MU, Malvern Instruments. Aparatul a fost prevăzut cu un dispersor în câmp ultrasonic care sparge aglomeratele neconsolidate de particule.

4.2. REACTIVI

4.2.1. Reactivi pentru AAS

Pentru măsurătorile prin AAS cu vapori reci) au fost folosite soluții Merck de SnCl₂ 10% și acid azotic concentrat. Probele au fost analizate prin AAS în conformitate cu metoda descrisă în SR ISO 11466:1999 și SR EN 1483: 2007 [6, 7].

Pentru detecția de metale grele din probe reale toți reactivii folosiți au fost de puritate analitică. Toate soluțiile au fost preparate cu apă distilată deionizată sau dublu deionizată. Toți reactivii au fost cunoscuți, astfel încât utilizarea lor să nu afecteze precizia de determinare, acid azotic 65% (Merck, Germania), acid clorhidric 38% (Merck, Germania); soluțiile standard de metale stoc conținând 1000 mg de metal / ml (Titrisol-Merck , Germania).

4.2.2. Reactivi pentru FIAS-ICP-EOS

Pentru trasarea curbei de etalonare a mercurului și analiza probelor reale de apă prin FIAS-ICP-EOS au fost folosite soluții de puritate Merck (soluție standard de mercur 1000 mg Hg / l, acid clorhidric (37%), borohidruță de sodiu (> 96%), hidroxid de sodiu, dicromat de potasiu, acid azotic (65%), acid sulfuric (98%), permanganat de potasiu, persulfat de potasiu, clorhidrat de hidroxilamină), precum și argon 99,996% și azot 99,999% de la Linde-Gaz. Toate soluțiile apoase au fost preparate în apă ultra pură.

4.2.3. Reactivi pentru studii electrochimice și formare de filme

4.2.3.1. Reactivi utilizați pentru prepararea electrozilor enzimatici

Glucosoxidaza marcată cu histidină a fost sintetizată așa cum s-a descris în literatură [8]. Nanoparticulele de CaCO₃ (nano-CaCO₃) cu diferite structuri morfologice (Tabelul 4.1.) au fost preparate prin precipitare reactivă în câmp gravitațional înalt [9] sau prin precipitare ultrasonică folosind aditivi organici [10, 11]. Toți ceilalți reactivi au fost de puritate analitică și s-au utilizat ca atare fără o purificare suplimentară. Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, au fost luate de la Sigma în timp ce hidrochinona, glucoza și CuCl₂ au fost furnizate de Prolabo. Toate soluțiile apoase au fost preparate în apă distilată deionizată. Soluția de glucoză a fost preparată zilnic și depozitată peste noapte pentru a atinge echilibru mutarotațional înainte de utilizare. Soluțiile fenolice (de catecol) au fost preparate zilnic în soluție de tampon fosfat (PBS) 0,1 M. LiClO₄ a fost de proveniență Fluka, iar acetonitrilul (pentru HPLC) RATHBURN.

Tabelul 4.1. Caracteristicile probelor de CaCO₃

PROBĂ	d (0,1)	d (0,9)	D₄₃
P1	0,22 μm	0,34 m	6,64
P2	0,23 μm	0,42 m	4,4
P3	0,20 μm	0,34 m	4,27
P4	0,21 μm	0,70 m	15,9
P5	0,45 μm	1,56 m	3,15
P6	0,45 μm	1,55 m	6,62

4.2.3.2. Reactivi utilizați pentru CME pe bază de compuși azulenici pentru detecția ionilor de metale grele

Acetonitrilul (Rathburn, pentru HPLC grad S) și percloratul de tetra *n*-butilamoniu (TBAP), (Fluka, puriss) au fost folosiți ca atare. Sarea disodică a acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA) a fost achiziționată de la firma Roth. Fe (NO₃)₃ 9H₂O, Co (NO₃)₂ 6H₂O, Ni (NO₃)₂ 6H₂O, Zn (NO₃)₂ 6H₂O, Cu (OAc)₂ H₂O și Hg (OAc)₂ cu puritatea analitică de la Sigma Aldrich au fost folosite surse de ioni metalici pentru studiul interferențelor. Nitratul de plumb, Pb (NO₃)₂ 2H₂O (VWR, pa, ≥ 99.5%) și nitratul de cadmiu, Cd (NO₃)₂ 4H₂O (Merck, ≥ 99%) au fost folosite ca atare. Apa distilată a fost obținută de la un sistem de purificare a apei Elgastat (5 MΩ cm). Flacoanele de sticlă au fost spălate cu KMnO₄ – H₂SO₄, clătite cu o soluție de H₂SO₄ – H₂O₂ și apoi înainte de folosire curățate cu apă distilată pentru evitarea contaminării.

Sinteza de 4-azulen-1-il-2,6-bis (2-tienil) piridină (L) a fost efectuată conform procedurii descrise în literatură [12].

4.2.3.4. Reactivi utilizați pentru prepararea electrozilor pe bază de TEMPO–piren

Toți reactivii folosiți au fost de calitate analitică fiind achiziționați de la firme recunoscute, astfel încât utilizarea lor să nu afecteze precizia de determinare: 4-amino Tempo și FeClO₄ au fost procurate de la SIGMA-ALDRICH, iar TEMPO – pirenul a fost sintetizat în laborator și verificat analitic în prealabil. Toate soluțiile au fost preparate în acetonitril (pentru HPLC) de la RATHBURN și 0,1 mol · L⁻¹ TBAP (de la Fluka).

Nanotuburile de carbon cu pereți multipli (MWCNT) utilizate au fost de calitate comercială (diametru 9,5 nm, puritate > 95%,) obținută de la Nanocyl fără alte etape de purificare și s-au preparat suspendat în soluție de 1-metil-2-pirolidonă, anhidră (NMP) de puritate 99 % (SIGMA-ALDRICH)

4.3. MODUL DE LUCRU PENTRU STUDIILE EFECTUATE

4.3.1. Modul de lucru pentru AAS

Probele reale de sol au fost colectate și preparate conform metodei standard. În prealabil le-a fost determinat conținutul de substanță uscată, după care acestea au fost mineralizate, după metoda standardizată, SR ISO 11466:1999 [6]. Soluțiile de sol, astfel preparate au fost analizate prin AAS în conformitate cu metoda descrisă în SR ISO 11466:1999 și SR EN 1483: 2007 [6, 7] și prin ASV, iar rezultatele au fost exprimate în mg / kg față de substanța uscată (S.U.).

Determinarea metalelor grele din sedimente și soluri a fost efectuată în conformitate cu ISO 11466/1999 și ISO 11047/1999.

4.3.2. Modul de lucru pentru FIAS-ICP-EOS

4.3.2.1. Pregătirea probelor pentru FIAS-ICP-EOS

În sistemul de generare de hidruri, hidrogenul care este format și introdus în plasmă poate schimba caracteristicile și stabilitatea plasmă dacă nu este continuu descărcat în plasmă. Pentru a preveni această problemă, producerea continuă de hidrogen a fost garantată de soluția purtătoare de acid clorhidric care a fost amestecată în continuu cu agentul de reducere, în timpul măsurărilor. Vaporii generați au fost uscați înainte de a fi introduși în plasmă evitând interferențele dintre apă și vaporii acizi.

4.3.2.2. Metoda de determinare FIAS-ICP-EOS

S-a adus spectrometrul în parametrii de lucru. S-a aprins plasma și s-a lăsat să se stabilizeze minim 10 minute. S-a creat metoda de lucru, în care s-a introdus ca element de analizat Hg. S-au selectat lungimile de undă și s-au introdus concentrațiile etaloanelor utilizate la trasarea curbei de etalonare. Lungimea de undă a Hg la care s-au realizat experimentele este 194,168 nm.

S-au selectat parametrii plasmă (debit argon, debit aer, volum de lichid aspirat, timp de citire, număr de replici), s-a creat fișierul de date pentru probele determinate, fișier care conține denumirea probei, volumul luat în lucru, volumul balonului cotate, diluțiile utilizate și fișierul de rezultate.

Din soluția de 5mg/L mercur s-au luat 2 mL, s-a adăugat 1 mL soluție $K_2Cr_2O_7$ și s-a adus la balon cotate de 100 mL. S-a obținut o soluție de mercur de concentrație 0,1mg/L (soluția de lucru).

Pentru trasarea curbei de etalonare s-a procedat astfel : curba de etalonare s-a trasat pe domeniul 1-18 μ g/L (0,5 mL; 1,5 mL ; 3 mL ; 4,5 mL ; 6 mL ; 7,5 mL și 9 mL din soluția de lucru de 0,1mg/L s-au adus la balon cotate de 50 mL). În fiecare balon s-au adăugat, înainte de a fi adus la semn câte 0,5 mL soluție de stabilizare (0,5% $K_2Cr_2O_7$ în HNO_3 concentrat); 0,5 mL H_2SO_4 concentrat; 0,5 mL HNO_3 concentrat; 0,5 mL soluție 5% $KMnO_4$ și 1 mL soluție 4% $K_2S_2O_8$. Acest amestec s-a încălzit la 50°C timp de o oră într-o baie ultrasonică. O altă etapă înaintea generării atomilor de mercur a fost decolorarea soluției obținute cu soluție 10% clorhidrat de hidroxilamina (3-4 picături), apoi balonul cotate în care se găsește proba astfel tratată s-a adus la semn cu apă ultrapură. Probele s-au citit imediat ce au fost decolorate.

Probele de apă potabilă au fost tratate la fel ca soluțiile de etalonare. Pentru generarea de hidruri s-a folosit soluția reducătoare: $NaBH_4$ 0,3%(m/V) în $NaOH$ 0,5%(m/V); soluția purtătoare utilizată este acid clorhidric 3%.

4.3.3. Modul de lucru pentru studii electrochimice și formare de filme

4.3.3.1. Modul de lucru pentru studiile realizate pe electrozi modificați cu nano- $CaCO_3$ pentru detecția glucozei și catecolului

S-a preparat o suspensie coloidală de nano- $CaCO_3$, prin dispersarea de nano- $CaCO_3$ în apă deionizată sub agitare peste noapte. O anumită cantitate (20 μ L) de amestec de nano- $CaCO_3$ în suspensie în apă s-a pus pe suprafața unui electrod. Electrocul a fost uscat în etuvă timp de 5 minute. Această procedură a condus la un film aderent de nano- $CaCO_3$. Procedura s-a repetat de câteva ori în funcție de numărul dorit de straturi depuse.

O picătură de pirol NTA (4 mol /L) în acetonitril respectiv pirol – amoniu (3 mol /L) a fost pusă pe suprafața electrodului astfel preparat, care s-a uscat la temperatura camerei timp de 20 minute. Apoi electrodul a fost imersat în soluția de electropolimerizare conținând 0,1 M LiClO₄ în acetonitril și polarizat la + 0,9 V vs. Ag/AgCl. Pentru a se evalua permeabilitatea filmului electroactivitatea pirolului a fost distrusă prin baleiajul electrodului între 0 V și 1,2 V cu o viteză de baleiaj de 0,1 V/ s timp de 10 cicluri și în final electrodul a fost spălat cu apă distilată.

Pentru a se dizolva particulele de CaCO₃ electrozii au fost menținuți sub agitare în soluții acide (HCl, pH = 2), timp de o oră și apoi au fost spălați sub agitare cu LiClO₄ în apă 0,1 mol / L, timp de o jumătate de oră.

Pentru a se imobiliza enzima (glucoz-oxidaza histidinilată, respectiv PPO-biotina) electrozii modificați obținuți (înainte sau după tratamentul cu acid au fost imersați succesiv sub agitare în soluții de Cu²⁺ 10⁻² mol/L în tampon acetat (0,1 mol / L), la pH = 4,8 timp de 20 minute, NaCl 0,5 mol/ L timp de 5 minute și tampon (pH = 7) fosfat (0,1 mol / L) și uscați la temperatura camerei. Apoi pe suprafața acestor electrozi s-a depus 20 μL de soluție apoasă de GOX-histidina (2 mg/ mL) și au fost lăsați să se usuce timp de 15 minute la temperatura camerei. Electrozii au fost apoi clătiți sub agitare în soluție tampon (pH = 7) fosfat (0,1 mol/ L), timp de 5 minute pentru a se îndepărta enzima care nu a fost imobilizată bine.

Electrozii astfel pregătiți au fost stocați în soluție de tampon (pH = 7) fosfat (0,1 mol/ L).

Măsurătorile de permeabilitate ale filmelor depuse s-au realizat folosind metoda ADR în soluții conținând ca sondă redox hidrochinonă 10⁻³ mol.L⁻¹ în tampon fosfat 0,1 mol. L⁻¹.

4.3.3.2. Modul de lucru pentru studiile realizate pe electrozi modificați cu poliL pentru detecția metalelor grele

Electrozii modificați au fost preparați în conformitate cu procedura descrisă în [13], prin oxidare la potențial controlată (CPE). Electropolimerizarea fost efectuată la 0,85 V vs Ag/ Ag⁺, până la 1,5 mC încărcare de polimerizare (ceea ce corespunde la o concentrație de suprafață a monomerului $\Gamma = 10^{-8}$ mol cm⁻²). Semnalul caracteristic al filmului polyL a fost evidențiat prin voltametrie ciclică în soluție de transfer (CH₃CN + 0,1 mol L⁻¹ TBAP). Apoi electroactivitatea matricei polipirolului a fost distrusă în timpul celor 15 cicluri între -0,2 V și +1,2 V într-o soluție tampon de acetat (pH = 4,5), în scopul de a obține voltamogramele curate în regiunea potențialului pozitiv.

Acumularea ionilor metalici în circuit deschis și procedurile voltametrice de detecție

Acumularea ionilor metalici în filmele de polyL a fost efectuată în circuit deschis prin imersarea electrodului modificat timp de 10 min (cu excepția altor specificări) în 30 ml soluție tampon de acetat agitat ce conținea cationi metalici. Electrodul a fost apoi, foarte bine spălat cu apă purificată pentru a elimina surplusul de ioni de la suprafață. Ulterior acesta a fost transferat într-o celulă electrochimică care conținea 0,1 mol L⁻¹ soluție tampon de acetat, și caracterizat în condiții pasive prin voltametrie puls diferențială

(DPV). Înainte de a înregistra curbele DPV, ionii de metal acumulați au fost reduși prin polarizarea electrozului modificat la $-1,2$ V timp de 1 min pentru a asigura reducerea completă a ionilor metalici capturați. Cu excepția altor specificații, fiecare determinare a ionului metalic a fost efectuată cu un electrod modificat proaspăt preparat.

Experimentele DPV au fost efectuate la 10 mV s^{-1} cu amplitudine de 50 mV și perioade de puls de 0,2 s. Soluțiile au fost degazate sub atmosferă de Ar pentru 20 min înainte de fiecare măsurătoare și s-au menținute sub atmosferă de Ar pe parcursul întregului experiment realizat la 25 °C.

4.3.3.3. Modul de lucru pentru studiile realizate pe electrozi modificați cu TEMPO-piren pentru detecția fierului(II)

Pentru modificarea electrozilor de carbon vitros (diametru de 3 mm) utilizați pentru detecția fierului(II), s-a pregătit o suspensie de 100 mg nanotuburi de carbon cu pereți multipli (MWCNT) într-un mL de 1-metil-2-pirolidonă, anhidră (NMP). 20 microL din această suspensie au fost puși pe fiecare electrod de carbon vitros, care a fost lăsat să se usuce la vid în atmosferă de azot lichid. Electrozii astfel modificați au fost imersați timp de 30 minute într-o soluție de 1 mM TEMPO-piren CH_3CN după care au fost clătiți cu acetonitril. Ulterior pe acești electrozii s-au trasat voltamograme ciclice între $-0,6$ V și $+0,6$ V în soluție de $\text{CH}_3\text{CN} + 0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TBAP și treptat s-a adăugat soluție de fier de diferite concentrații ($0,02 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ și $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$).

Experimentele de voltametrie ciclică (CV) au fost efectuate la diferite viteze de baleiaj în funcție de studiul efectuat, în general la $0,1 \text{ V/s}$ sau $0,02 \text{ V/s}$. Voltamogramele pe electrod disc-rotitor au fost înregistrate la 20 mV s^{-1} cu o viteză de rotație variind între 250 și 1500 rpm.

CAPITOLUL 5.

EVALUĂRI ANALITICE DE METALE GRELE PRIN AAS DIN PROBE REALE DIN ZONA UNEI PLATFORME INDUSTRIALE

5. 1. Scopul studiului

Acest studiu a fost realizat în scopul de a determina gradul de poluare cu metale grele din apă, sedimente și sol, din zona platformei industriale Râmnicu Vâlcea, România. Probe de apă și sedimente au fost colectate din trei locații diferite, din râul Olt, în două campanii, în februarie și iunie 2010. Probele de sol au fost colectate din opt puncte diferite, în aceleasi perioade ca și celelalte probe. Pentru toate probele au fost analizate concentrațiile de nichel, cupru și cadmiu.

Rezultatele obținute pentru de apă și sedimente au fost comparate [13] cu *Normele privind clasificarea calității apelor de suprafață* cu scopul stabilirii stării ecologice a corpurilor de apă. Probele de sol au fost comparate cu valorile de referință pentru elemente chimice urme în sol.

5.2. Evaluarea conținutului de metale grele din apă

Probele reale de apă au fost colectate din râul Olt, un punct în amonte și două puncte aval de zona industrială (platformă). Distribuția acestor puncte a fost condiționată de caracteristicile hidro-geografice din bazinul râului Olt: fluxul, efluenți, baraje, etc

Apele uzate rezultate de pe platforma industrială, după un tratament specific, sunt deversate în râul Olt prin doi efluenți. Concentrațiile maxime de poluanți din probele analizate au fost: nichel 0,31 mg/L, cupru 0,09 mg/L, cadmiu 0,084 mg/L.

Concentrațiile de nichel și cadmiu în amonte de platforma industrială (punctul PO) au fost sub limita cerută de legislația românească de mediu pentru apele de suprafață, valori care sunt similare cu valorile din legislația europeană. După concentrația de cupru apa de suprafață s-a încadrat în clasa a 3-a de calitate la distanță de aproximativ 8-10 km de deversare a apelor uzate industriale și la aproximativ 12 km de PO (punctul C), unde concentrațiile de cupru și cadmiu s-au încadrat sub limitele legislației de mediu pentru apele de suprafață, iar după concentrația de nichel apa a fost repartizată la clasa a 4-a de calitate. Pentru secțiunea din aval de platforma industrială, (punctul M), la aproximativ 12 km de secțiunea C, metalele grele (nichel, cadmiu) au avut concentrații sub limitele legislației naționale pentru apele de suprafață, iar după concentrația de cupru apa s-a încadrat în clasa a 3-a de calitate, ca și în punctul anterior analizat. În multe cazuri, concentrațiile au fost aproape de limita de detecție a metodei. Pentru studiile viitoare în râul Olt se recomandă să se examineze dacă metoda AAS este adecvată pentru determinarea acestor metale. Se propune ca studiile viitoare să se realizeze prin metoda ICP-EOS.

Concentrația de cupru mai mare la punctul (M) se poate datora tratamentelor agricole (pesticide cu conținut de cupru) prin transportul sărurilor de cupru în râul Olt cu ajutorul apei de ploaie de la podgoriile învecinate [14]. Studiile anterioare similare au arătat că concentrațiile de Ni, Cu și Cd din râul Olt variază în același interval ca în studiul de față [15, 16 și 17].

5.3. Evaluarea conținutului de metale grele din sedimente

Pentru a evalua gradul de contaminare a sedimentelor, au fost colectate probe din stratul superior de sedimente ale zonei studiate în trei puncte: PO, C, M.

Concentrația de metale în sedimente a variat în funcție de punctele de prelevare a probelor și de campaniile de prelevare. Concentrația de metale în sedimente a variat între: 10,5-116,36 mg/kg S.U. pentru nichel, 6,24 - 98,68 mg/kg S.U. pentru cupru și 2,1 - 2,93 mg/kg S.U. pentru cadmiu. Valorile limită standard impuse de autoritățile de mediu [14] pentru aceste trei metale în sediment sunt: 35 mg/kg S.U., 40,0 mg/kg S.U. și respectiv 0,8 mg/kg S.U. Nivelul de cupru și nichel din probele de sedimente a variat destul de mult în timp. Variația nivelului cadmiului din sedimente nu a fost semnificativă, în comparație cu nivelul de cupru și nichel. Cea mai mare concentrație de metale grele în sedimente a fost la punctul de PO, unde cuprul și nichelul au atins nivelul maxim în luna februarie, în timp ce cadmiul a fost maxim în iunie.

În proba S-PO / I concentrațiile de nichel a fost de 3,0 ori mai mare decât valoarea din iarnă, în timp ce pentru cupru și cadmiu de 2,5 și respectiv 2,6 ori. În probele S-PO / I și SC / II concentrația de cadmiu a fost de 3,0 și respectiv 2,5 ori mai mare față de valoarea din iarnă.

Din datele indicate s-a concluzionat că în sedimente concentrațiile de metale grele din punctul amonte (PO) sunt mai mari în comparație cu punctele din aval (C, M). Asta înseamnă că o sursă importantă de poluare cu metale grele provine din amonte platformei industriale. Sursele de poluare pot fi orașul Râmnicu Vâlcea și activitățile industriale situate în partea superioară a râului Olt. O altă explicație pentru concentrațiile mai mici de metale grele din punctele C și M este existența barajului Govora care reține cantități importante de sedimente.

Evaluarea indicelui de geo-acumulare

Indicele de geo-acumulare I_{geo} a fost introdus pentru prima dată de către Müller în 1969 [18]. I_{geo} este un indice cantitativ care indică contaminarea cu metale grele în sedimentele acvatice și a fost utilizat pe scară largă în scopul de a evalua gradul de contaminare cu metale grele al sedimentelor de suprafață. Formula de calcul este următoarea (ecuația 5.1):

$$I_{geo} = \log_2 [(C_n / (K \times B_n))] \quad (\text{ecuația 5.1})$$

unde, C_n este concentrația de metale grele măsurată în sedimente; B_n este valoarea de fond normată (care este pentru Cd, Ni și Cu de 0,8, 35, 40 mg / kg, respectiv). K este matricea pentru factorul de corecție de fond, care ține seama de variația urmelor de metal în suporturi din cauza efectelor litogene ($K = 1,5$). I_{geo} oferă un sistem de clasificare a gradului de poluare, în comparație cu fondul, Tabelul 5.4, [19, 20 și 21]. Rezultatele clasificării sedimentelor sunt prezentate în tabelul 5.5. și au sugerat pentru sedimentele din râul Olt o poluare moderată cu nichel și cadmiu, și de la nepoluat până la poluat moderat pentru cupru.

Tabelul 5.4. Clasele I_{geo} cu privire la calitatea sedimentelor

Valori I_{geo}	Clasa de poluare (C_p) conform I_{geo}	Nivel de poluare
≤ 0	0	Nepoluat
0-1	1	Nepoluat până la poluat moderată
1-2	2	Poluat moderat
2-3	3	Poluat moderat până la puternic poluat
3-4	4	Puternic poluat
4-5	5	Puternic poluat până la foarte puternic poluat
> 5	6	Foarte puternic poluat

5.4. Evaluarea conținutului de metale grele din sol

În scopul de a investiga poluarea solului cu metale grele din zona industrială Ramnicu Valcea au fost colectate probe de sol de pe o suprafață de 2 km². Punctele de colectare sunt situate la aproximativ 50 m de instalațiile cu risc de poluare accidentală. Acestea sunt instalațiile de prelucrare catalizatori, reactoare catalitice, catalizatori și depozite de deșeuri.

Rezultatele obținute au aratat ca poluarea solului a depins de debitul de ape uzate industriale al platformei chimice. Valorile de metal în sol sunt comparabile cu rezultatele indicate de alte studii [22, 23, 24 și 25].

Tablul 5.5. Valorile I_{geo} de clasificare a probelor de sedimente (S) din locatiile PO, C, M

Probe reale	Nichel			Cupru			Cadmium		
	mg/kg	I_{geo}	Cp*	mg/kg	I_{geo}	Cp*	mg/kg	I_{geo}	Cp*
	S.U.			S.U.			S.U.		
S-PO/I	116.4	1.1	2	98.7	0.7	1	2.1	0.8	1
S-PO/II	38.9	-0.4	0	43.6	-0.5	0	2.9	1.3	2
S-C/I	41.1	-0.4	0	44.3	-0.4	0	2.1	0.8	1
S-C/II	19.3	-1.5	0	6.2	-3.3	0	2.8	1.2	2
S-M/I	21.4	-1.3	0	18.1	-1.7	0	<1.0**	-0.3	0
S-M/II	10.5	-2.3	0	<1.0**	-5.8	0	<1.0**	-0.3	0

* Clasa de poluare (Cp) conform I_{geo} ; ** limita de detecție a metodei

Clasa de poluare: 2 - poluat moderat; 1 - nepoluat până la poluat moderat; 0 - nepoluat.

CAPITOLUL 6.

EVALUARI DE MERCUR PRIN AAS DIN PROBE REALE DIN BH OLT

6.1. Scopul și obiectivele studiului

În acest capitol sunt prezentate rezultatele privitoare la urmărirea calității apei și sedimentelor din Bazinul Hidrografic Olt (BH Olt) și a solului din vecinătatea BH Olt. Indicatorul de calitate urmărit, concentrația de mercur a fost determinat prin metoda spectrometriei de absorbție atomică cu vapori reci (AAS).

Obiectivele studiului au fost:

- Prelevarea de probe de sol, apă/sediment din BH Olt , de la izvoare și până la varsare în Dunăre, în trei luni diferite. Punctele de prelevare s-au stabilit în funcție de sursele de poluare identificate.
- Evaluarea poluării (acumulării) cu mercur în ecosistemele sol, apă/sediment în BH Olt
- Stabilirea nivelului actual de poluare cu mercur în aria de influență a unor activități industriale pe cursul râului Olt.

6.2. Determinari de mercur din probe de apă din BH Olt

În figura 6.2. sunt reprezentate valorile concentrațiilor de mercur determinate în probele de apă prelevate din BH Olt în august, septembrie și noiembrie 2012. Așa cum se vede în această figură, concentrația de mercur depășește limita impusă conform Ordinului 161/2006 [29] în zona localităților Sâncrăieni, Zărnești, Codlea, Slatina și Râmnicu Vâlcea.

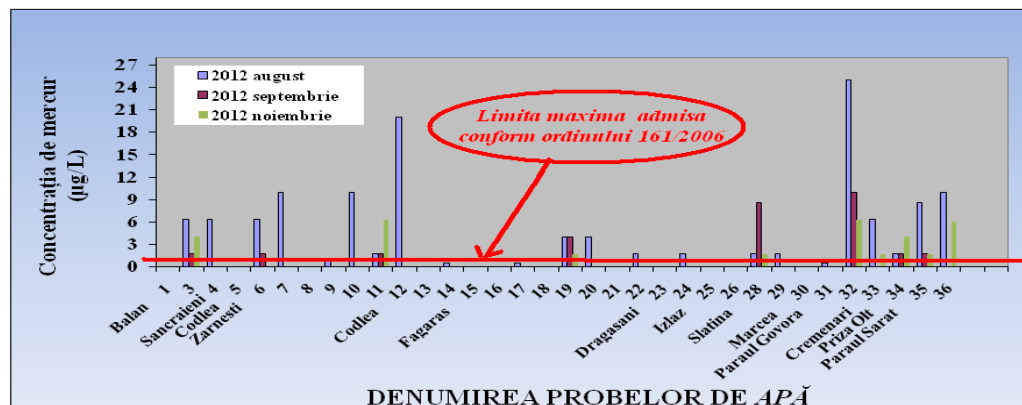


Figura 6.2. Variația concentrației de mercur pentru probele de apă recoltate din BH Olt

6.3. Determinari de mercur din probe de sedimente din BH Olt

Probele de sediment (Figura 6.3), recoltate din BH Olt din aceleași puncte ca și probele de apă, depășesc limita admisă conform ordinului 161/2006 în zona localităților de unde s-au prelevat probele în perioada investigată. Concentrații de mercur mai mari față de limita admisă conform legislației în vigoare, pentru probele de sediment s-au întâlnit în localitățile Sântimbru, Zărnești, Codlea, Făgăraș, Slatăna și Râmnicu Vâlcea.

Evaluarea indicelui de geo-acumulare

Indicele de geo-acumulare (I_{geo}) este un indice cantitativ de evaluare a contaminării cu metale grele în sedimente acvatic [18] și a fost utilizat pentru a evalua gradul de contaminare cu metale grele din sedimentele de suprafață. S-a calculat cu formula (5.1):

$$I_{geo} = \log_2[(C_n / (K \times B_n))] \quad (5.1)$$

unde, C_n este concentrația de metale grele măsurată în sedimente, B_n este conținutul standard. B_n pentru Hg este 0.3 mg / kg. K este matricea de fond - factor de corecție care ține cont de variația de urme de metal în materialele de fond ca urmare a efectelor litogenice ($K = 1,5$). I_{geo} permite o clasificare după gradul de poluare.

Rezultatele monitorizării mercurului din sedimente (conținutul mercurului din sedimentele recoltate din BH Olt, indicele de geoacumulare calculat precum și clasa de poluare) sunt prezentate în tabelul 6.6. În general în perioada investigată, multe din probele analizate s-au încadrat în clasa 0 de poluare conform indicelui de geo-acumulare și au avut un nivel de poluare "Nepoluat". Excepție au făcut probele recoltate în aval de mina de mercur Sântimbru care s-au încadrat în clasa de poluare 2 respectiv 3 având un nivel de "moderat poluat până la puternic poluat" și respectiv "moderat poluat", probele din aval de Zărnești (clasa

1) cu nivel de poluare “Nepoluat până la moderat poluat”, probele din amonte și aval Slatina (clasa de poluare 2) cu nivel de “moderat poluat” și 1 la a doua recoltare (nivel de poluare “Nepoluat până la moderat poluat”, probele din amonte de Platforma Industrială investigată – Priza Olt Nr.2, amonte de Priza Olt și Paraul Sărat (clasa de poluare 2) cu nivel de “moderat poluat”, probele aval de Platforma industrială investigată, Secțiunea Cremerari (clasa de poluare 1), cu nivel de poluare “Nepoluat până la moderat poluat”.

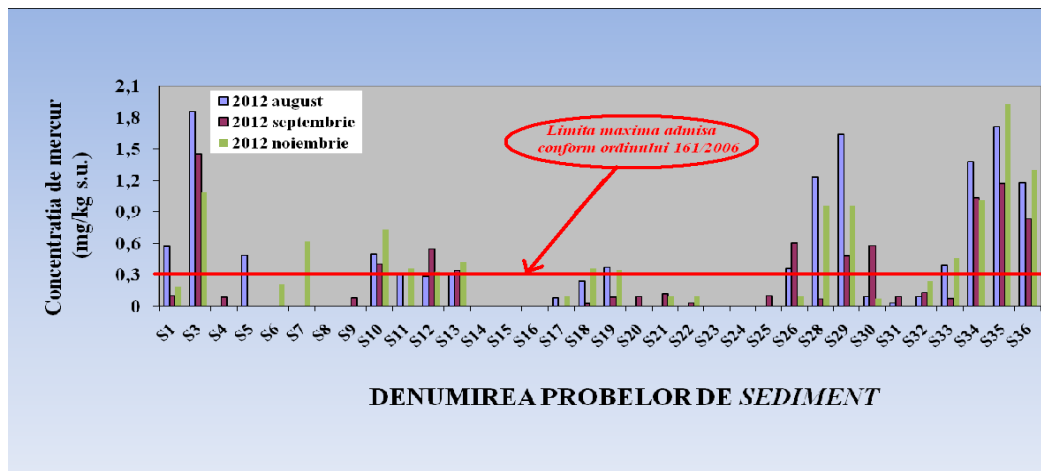


Figura 6.3. Variația concentrației de mercur pentru probele de sediment recoltate din BH Olt.

CAPITOLUL 7.

ELABORAREA UNOR METODEDE ȘI METODOLOGII DE ANALIZĂ A MERCURULUI ȘI COMPARAREA ACESTORA CU CELE CONVENȚIONALE

7.1. Elaborarea unei metodologii bazate pe metoda FIAS-ICP-EOS pentru detecția mercurului și compararea acesteia cu metoda AAS cu vapori reci

7.1.1. Scopul utilizării metodei FIAS-ICP-EOS

Determinarea mercurului din apă potabilă s-a realizat cu metoda FIAS-ICP-EOS cu scopul de a dovedi că această metodă (metodă standardizată SR EN ISO 11885/2009) [26] este adecvată și pentru acest metal și respectă cerințele impuse de legislația națională de mediu.

La nivel național concentrația de mercur este normată în :

- Legea nr. 458/2002 privind calitatea apei potabile, modificată și completată de Legea nr. 311/2004, concentrația maximă admisă de mercur fiind de 1μg/L
- HG 1020/2005 pentru aprobarea normelor tehnice de exploatare și comercializare a apelor minerale naturale, concentrația maximă admisă de mercur fiind de 1μg/L;
- HG352/2005 – NTPA 001- valori limita de reîncărcare cu poluanți a apelor uzate industriale și urbane evacuate în receptori naturali, concentrația maximă admisă de mercur fiind de 0,05μg/L;

-HG 100/2001 – NTPA 013- Norme de calitate pe care trebuie să le îndeplinească apele de suprafață pentru potabilizare, concentrația maximă admisă de mercur fiind de 1μg/L;

-Ordinul 161/2006 – aprobarea normativului privind clasificarea apelor de suprafață în vederea stării ecologice a corpurilor de apă, concentrația maximă admisă de mercur fiind de 0,1μg/L

7.1.2. Parametrii analitici obținuți prin FIAS-ICP-EOS

În metoda de determinare a mercurului din probe de apă prin FIAS-FIAS-ICP-EOS au fost validăți următorii parametri:

1. Selectivitate/Specificitate
2. Exactitate = recuperare
3. Precizie:- repetabilitate
 - reproductibilitate internă (precizia intermediară)
 - precizia instrumentului
4. Sensibilitate
5. Limita de detecție
6. Limita de cuantificare
7. Domeniu de lucru. Liniaritate

7.1.4. Aplicații ale metodelor FIAS-ICP-EOS și AAS pentru detecția mercurului din probe reale de apă

În prezent în laboratoarele de analiză de mediu din țară pentru detecția mercurului din probe reale se folosește în general spectroscopia de absorbție atomică cu generare de vapori reci (AAS). În acest capitol sunt prezentate rezultatele obținute în cadrul tezei privitoare la aplicarea metodei FIAS-ICP-EOS, propusă spre validare în laboratoarele de analiză de mediu. Aceasta metodă modernă de analiză propusă s-a utilizat în scopul testării performanțelor ei în raport cu metoda AAS cu vapori reci, folosită în mod curent în aceste laboratoare, în vederea introducerii ei în practica de lucru în condițiile respectării cerințelor impuse de legislația națională de mediu

Pentru aceasta s-au trasat curbe de etalonare ale mercurului pentru ambele metode de analiză (AAS și FIAS-ICP-EOS) și s-au calculat parametrii de performanță ai metodelor. Din Tabelul 7.5. se observă că parametrii de performanță obținuți pentru metoda FIAS-ICP-EOS respectă cerințele legislației în vigoare și sunt mai performanți față de parametrii metodei AAS. Limita de detecție a metodei ICP EOS fiind 0,1 respectiv 0,21 μg/L față de AAS care are o limită de detecție a mercurului din apă potabilă de 1 μg/L.

În urma rezultatelor experimentale pe probe reale s-a obținut o marjă de eroare a metodei de până la 20 % ceea ce indică faptul că metoda poate fi utilizată în determinări analitice pe probe reale pentru concentrații pornind de la 0,1 μg/L (Tabelul 7.6.).

Tabelul 7.5. Compararea parametrilor de performanță ai mercurului determinat prin AAS și FIAS-ICP-EOS

Parametrii de performanță	Metoda utilizată		
	FIAS-ICP-EOS		
Lungimea de undă (nm)	194,168	253,562	253,7
Limita de detecție , LOD (μg/L)	0,1	0,21	1
Panta dreptei de regresie (Sensibilitatea)	13817	17104	0,56
Coeficientul de corelare, R ²	0,9998	0,9996	0,998

Tabelul 7.6. Determinări de mercur (în μg/L) din probe reale prin AAS și FIAS-ICP-EOS

Proba	Metoda utilizată		
	FIAS-ICP-EOS		AAS
	194,168	253,562	253,7
P ₁	3.463	3.480	2,988
P ₂	4.386	4.496	4,35
P ₃	6.253	6.155	5,621
P ₄	3.604	3.664	2,892
P ₅	24	-	22,5
P ₆	22,96	-	28

7.2. Elaborarea unei metode pentru determinarea conținutului de mercur din probele reale prin voltametrie de stripping anodic (ASV) pe electrozi modificați și comparea acestuia cu metoda AAS cu vapori reci

7.2.1. Măsurători folosind metoda AAS

Determinarea mercurului din soluțiile de sol a fost realizată mai întâi prin metoda standard AAS cu vapori reci (SR ISO 11466:1999 și SR EN 1483:2007) [6, 7]. Rezultatele au avut un grad mare de imprastiere, fiind cuprinse între 0,66 și 311 mg / kg DW. Conținutul de mercur este în general mai mare la al doilea nivel de adâncime (II) față de primul nivel (I). De exemplu: P2 (II), > P2 (I), P2 (II) > P2 (I), în iunie și septembrie.

Evoluția în timp a conținutului de mercur din probele cu mai puțin de 25 mg / kg S.U. a fost prezentată în detaliu în figura 7.2. Nici o tendință clară nu poate fi pusă în evidență. Cu toate acestea, rezultatele arată că poluarea este persistentă, dar nici o variație sistematică nu poate fi observată. Linia roșie orizontală marchează limita admisă în conformitate cu legislația în vigoare.

7.2.2. Măsurători prin ASV

Rezultatele pentru determinarea mercurului din soluțiile de sol obținute prin metoda spectroscopiei de absorbție atomică cu vapori reci (AAS) au fost comparate cu cele obținute folosind noua metoda propusă: voltametrie de stripping anodic pe electrozi modificați chimic.

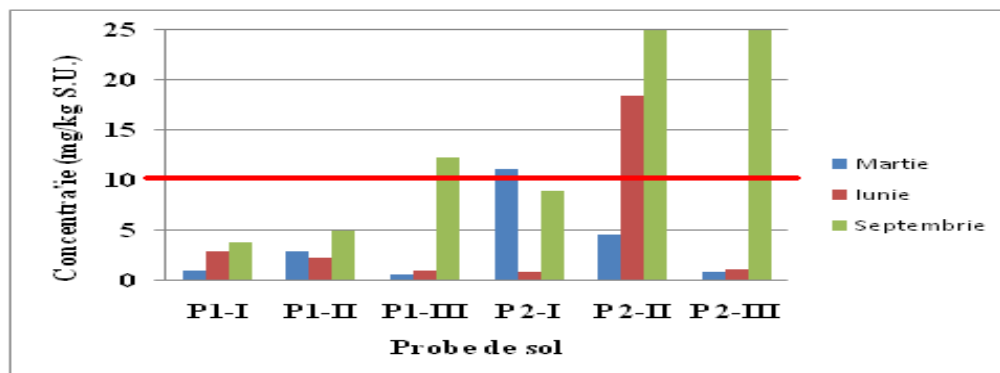


Figura 7.2. Rezultate obținute pentru Hg prin AAS cu vapori reci pentru probele reale de sol prelevate în luna martie, iunie și septembrie

Electrozii modificați au fost preparați în conformitate cu procedura descrisă în [27], prin oxidare la potențialul controlat (CPE). Electropolimerizarea fost efectuată la 0.85 V vs Ag / Ag⁺, până la 1,5 mC sarcina de polimerizare (ceea ce corespunde la o concentrație de suprafață a monomerului $\Gamma = 10^{-8}$ mol cm⁻²). Reprezentarea grafică a curbei de calibrare este prezentată în figura 7.5. Domeniul de liniaritate al curbei de calibrare s-a obținut în intervalul de concentrație 10^{-7} până la 8×10^{-7} mol L⁻¹ cu un coeficient de corelare de 0,997 (Figura 7.5). Acest domeniu poate fi folosit pentru detectarea de Hg (II). În paralel au fost studiate unele efecte de interferență (și s-au obținut curbe de calibrare pentru cupru, plumb și cadmiu).

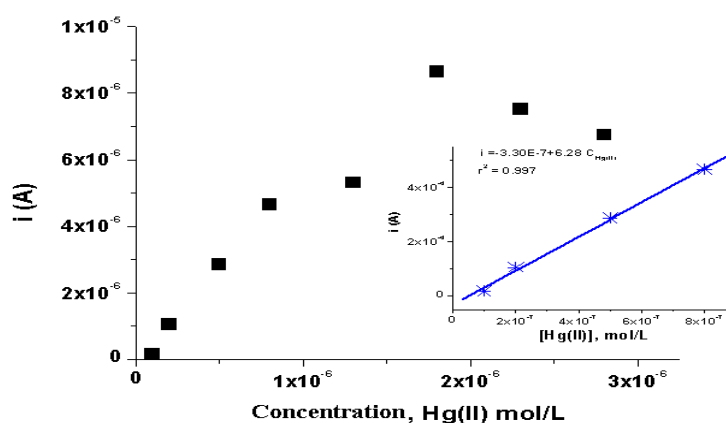


Figura 7.5. Curba de calibrare conform măsurătorilor DPV înregistrate cu electrozi modificați C|poliL1 ($\Gamma = 10^{-8}$ mol cm⁻²) în funcție de concentrația de Hg(II) din soluția de acumulare (tampon acetat, pH = 4,5, timp de acumulare 20 minute, reducere timp de 3 minute la -1.8 V). Înserat: domeniul liniar de concentrație al curbei de calibrare.

Probele de sol au fost prelucrate și analizate în mod similar cu soluțiile folosite pentru calibrare. Soluțiile de sol s-au diluat cu tampon acetat și s-a ajustat pH-ul la 4,1. Electrocul modificat, C|polyL1 s-a menținut timp de 20 minute sub agitare continuă în soluția ce conține proba de sol. Apoi electrocul a fost

bine spălat cu apă bidistilată, transferat în celula electrochimică conținând soluție de tampon acetat 0,1 mol L⁻¹, și polarizat la -1.8V pentru 3 min. Caracterizarea a fost efectuată în condiții neagitate prin voltametrie puls diferențială (DPV) în aceleași condiții ca și cele stabilite pentru curba de calibrare. Un exemplu este prezentat în figura 7.6. Metale Pb și Cu au fost puse în evidență la potențialul lor specific stabilit în experimente anterioare realizate pentru fiecare dintre acești ioni. Folosind curba de calibrare a fost estimată concentrația de Hg(II) din probe. Acesta a fost comparată cu valorile obținute prin metoda standard AAS.

Curentul de pic DPV corespunde concentrație de $7,15 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, care reprezintă 143 mg / l sau 230 mg Hg(II) / kg substanță uscată (S.U.). Această valoare reprezintă 74% din valoarea obținută prin analiza AAS cu vapori reci. Rezultatele metodei propuse au o eroare de 26% față de metoda standard. Rezultatele obținute prin cele două metode utilizate (AAS și electrozi modificați cu polyL1) au fost similare. Diferențele observate pot fi atribuite la diferite speciații de mercur în aceste probe.

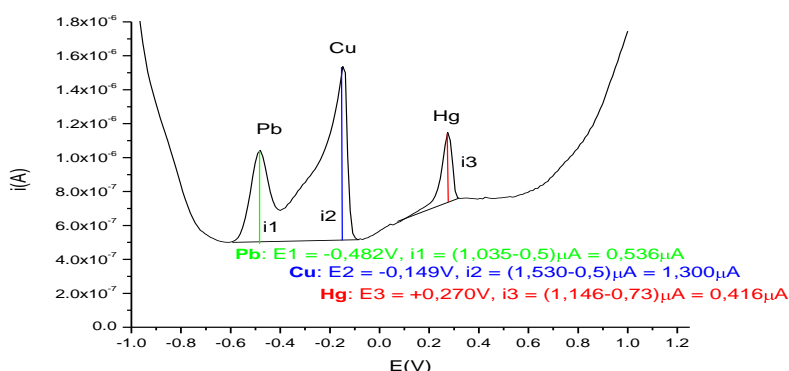


Figura 7.6. Curba DPV înregistrată pe electrod modificat C | polyL1 pentru soluția de proba de sol P2 II septembrie (tampon acetat, pH 4,5, acumulare timp de 20 minute, 3 minute reducere la -1.8 V).

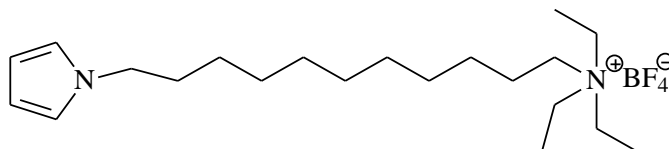
CAPITOLUL 8.

REALIZAREA UNEI METODE BAZATE PE ELECTROZI MODIFICAȚI CU ENZIME PENTRU DETERMINARI ANALITICE DE FENOLI ȘI GLUCOZĂ

8.1. Optimizarea condițiilor de lucru

Studiile experimentale pentru detecția glucozei și catecolului au fost realizate pe electrozi modificați cu nano-CaCO₃ și diferiți polipirololi obținuți prin electropolimerizare din Nα',Nα-Bis(carboximetil)-L-lisina amida acidului 11-pirol-1-il-undecanoic acid (pirol-NTA) (Schema 8.1.) [30] și tetrafluoroborat de (11-pirolil-1-undecil)triethyl-amoniu (pirol-amoniu) [31]) (Schema 8.2.)

Schema 8.1. Structura monomerului *pirol-NTA*



Schema 8.2. Structura monomerului *pirol-amoniu*

S-au realizat un numar mare (peste 100) de experimente pentru a obține condițiile optime de formare a filmelor pornind de la acești monomeri. Condițiile experimentale au fost modificate pe parcursul studiilor și s-a variat: modul de depunere al CaCO₃, tipul de carbonat de calciu depus, numărul de straturi depuse pe suprafața electrodului, cantitatea de suspensie de CaCO₃ respectiv de monomer pirolic depusă și modul de uscare al electrozilor. În Tabelul 8.1. sunt trecute condițiile experimentale optimizate rezultate din experimentele realizate.

Toate filmele obținute au fost caracterizate din punct de vedere al permeabilității lor și al răspunsului cronoamperometric la molecule de interes biologic (glucoza sau catecol).

8.4. Calculul permeabilității filmelor de polipirol-NTA și nano-CaCO₃

Pentru a evalua îmbunătățirile permeabilității sistemului nanostructurat bazat pe filme polimerice – CaCO₃ prin dizolvarea ulterioară a metricei de carbonat, s-a realizat polymerizarea monomerului prin electroliză la potențial controlat (CPE) (2.58 mC/ cm²) pe electrozi modificați în prealabil cu nano-CaCO₃. Au fost studiați electrozi modificați cu particulele de nano-CaCO₃ de diferite mărimi și structuri (tabelul 8.4) pentru a identifica structura de CaCO₃ care conduce la filme cu permeabilitate mai mare.

Prin trasarea 1/I_{lim} în funcție de inversul radacinii patrata a vitezei de rotație a electrodului (Ω) se obține o linie dreaptă (Figura 8.4.), cu ecuația de mai jos, a cărei ordonată la origine depinde de coeficientul de permeabilitate P_m (P_m = KDm/δ)

$$\frac{1}{I_{lim}} = \frac{1}{0.62nFSD_s^{\frac{2}{3}}v^{\frac{1}{6}}C_0} \times \frac{1}{\Omega^2} + \frac{\delta}{nFSD_mKC_0}$$

Tablul 8.4. Caracterizarea probelor de CaCO₃

Proba	Caracteristici			
	Structura polimorfă	d ₄₃ (μm)	d(0.1) (μm)	d (0.9) (μm)
P1	Aragonit	6.64	0.22	0.34
P2	Aragonit + Calcit (urme)	4.40	0.23	0.42
P3	Aragonit + Calcit (urme)	4.27	0.2	0.34
P4	Aragonit + Calcit (urme)	15.90	0.21	0.70
P5	Vaterit + Calcit (15%)	3.15	0.45	1.56
P6	Calcit + Vaterit (40%)	6.62	0.45	1.35

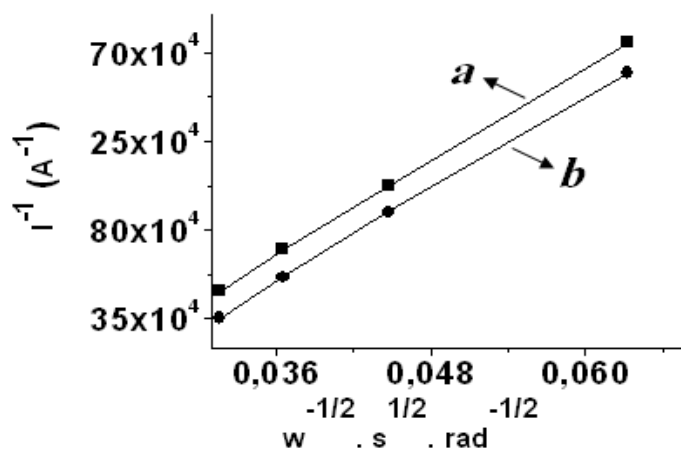


Figura 8.4. Curbele Koutecky-Levich obținute din curenții stationari ai curbelor curent-potential ($20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$) în hidrochinonă (1 mM) în soluție de tampon ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) fosfat ($\text{pH} = 7$) pe electrod disc rotitor de carbon vitros (RDE) de diametru 3 mm , modificat cu particule de nano- CaCO_3 și poli(pirol-amoniu) polymerizat la potențial constant ($2.58 \text{ mC}\cdot\text{cm}^{-2}$) (a) și după tratarea cu acid (b).

Tabelul 8.5. Permeabilitatea (P_m) în $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ pentru filmele depuse pe electrozii modificați cu nano- CaCO_3 și poli(pirol-amoniu) înainte și după tratamentul cu acid folosind ca sonda hidrochinona (10^{-3} M) în LiClO_4 (0.1 M)

Probe de CaCO_3	P_m pentru matricea nano- CaCO_3 / poli(pirol-amoniu)		RP*
	Înainte de tratamentul cu acid	După tratamentul cu acid	
P1	$0.96 \cdot 10^{-2}$	$1.96 \cdot 10^{-2}$	2.04
P2	$1.44 \cdot 10^{-2}$	$3.91 \cdot 10^{-2}$	2.72
P3	$0.82 \cdot 10^{-2}$	$1.75 \cdot 10^{-2}$	2.13
P4	$1.58 \cdot 10^{-2}$	$5.33 \cdot 10^{-2}$	3.37
P5	$1.94 \cdot 10^{-2}$	$3.13 \cdot 10^{-2}$	1.61
P6	$3.09 \cdot 10^{-2}$	$5.97 \cdot 10^{-2}$	1.93

*RP = raportul dintre permeabilitățile înainte și după tratamentul cu acid

În Tabelul 8.5 sunt prezentate valorile de permeabilitate ale filmelor depuse pe electrozii de carbon vitros modificați cu poli(pirol-amoniu) și diferite tipuri de nanoparticule de CaCO_3 în soluție apoasă (tampon $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ fosfat $\text{pH} = 7$), înainte și după tratamentul cu acid. Valorile permeabilităților au fost obținute din curbele Koutecky-Levich în aceleași condiții cu cele descrise în figura 8.4. Fiecare valoare a permeabilității este media a 3 măsurători pe electrozi modificați pregătiți în condiții identice.

Din analiza rezultatelor din Tabelul 8.5 rezulta că permeabilitatea filmului de polimer obținut prin electropolimerizarea de pirol-NTA depinde de structura de CaCO_3 folosit, iar dizolvarea de CaCO_3 în mediu acid duce la o creștere a permeabilității filmului de polimer.

8.5. Caracterizarea CME cu polipirol-NTA și nano- CaCO_3

Cavitățile formate în matricea polimerului după dizolvarea nano- CaCO_3 au fost analizate folosind un microscop de scanare cu laser 3D. În figura 8.5. se observă că nanoparticulele de CaCO_3 au fost dizolvate după tratamentul cu acid al sistemului elaborat. Suprafața electrodului electrogenerat este mai uniformă și

prezintă o rugozitate medie de 400 nm (Figura 8.5. A). După dizolvarea cu acid, imaginea suprafeței electrodului prezintă cavități în distribuția dimensiunilor eşantionului de nano-CaCO₃. Astfel, rugozitatea medie a crescut la 800 nm (Figura 8.5. B)

Prima parte a curbei de librare este liniară pentru un domeniu de concentrații de glucoza cuprins între $1,4 \cdot 10^{-5}$ și $4,92 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ și ne permite să determinăm sensibilitatea. Aceasta se determină de panta părții liniare a curbelor de calibrare, care este $0,957 \text{ mA mol}^{-1} \text{ L cm}^{-2}$ pentru electrodul înainte de tratament cu acid (Figura 8.8. a) și $0,277 \text{ mA mol}^{-1} \text{ cm L}^{-2}$ după tratamentul cu acid (Figura 8.8.b). Deoarece sensibilitatea caracterizează cinetica difuzie a analitului/ substratului, creșterea de 72% obținută arată că aceste nanoparticule asistate de filme de poli(pirrol-NTA) pe electrozi sunt deosebit de adecvate pentru realizarea de biosenzori electrochimici (Tabelul 8.6.).

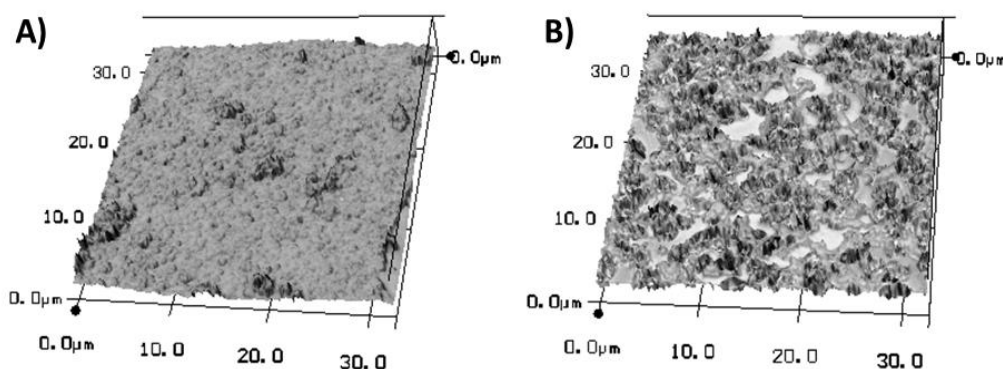


Figura 8.5. Imagini microscopice 3D ale electrozilor de carbon vitros modificat cu nano-CaCO₃-polipirol-NTA (A), și după tratamentul acestui electrod astfel modificat cu acid clorhidric (B).

8.6.1. Aplicații ale CME cu polipirol-NTA și nano-CaCO₃ pentru detecția glucozei

Partea a doua a curbelor de calibrare (platoul) obținute ne permite să determinăm valoarea maximă a curentului catalitic. Astfel, se observă o creștere de două ori a densității curentului maxim (J_{\max}) după dizolvarea nanoparticulelor. Deoarece J_{\max} este direct proporțional cu cantitatea de unități bioreceptoare immobilizate, nanoparticulele asistate de filmul polimeric oferă, de asemenea, o suprafață specifică mai mare de polimer care permite immobilizarea unei cantități mai mari de unități receptoare (GOX) (Figura 8.6.).

Mai mult decât atât, constanta aparentă Michaelis-Menten (K_M), determinată prin trasarea curbei de liniaritate Lineweaver-Burk [30] pentru această configurație pentru biosenzorul de glucoză este $K_M^{app} = 23 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, valoare care este apropiată de valoarea raportată pentru GOX în soluție ($K_M^{app} = 33 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) [29]. Aceasta reflectă o aducere optimă de glucoză și oxigen în soluție la enzimă și o difuzie excelentă de H₂O₂ către substratul enzimatic generat pe electrod. ($R^2 = 0,9966$).

8.6.2. Aplicații ale CME cu polipirol-NTA și nano-CaCO₃ pentru detecția catecolului

Electrozii modificați cu nano-CaCO₃ și poli(pirrol-NTA) au fost testați și pentru detectarea catecolului după immobilizarea altei enzime, specifice detecției de fenoli. Enzima folosită pentru realizarea acestor biocaptori utilizați pentru detecția catecolului a fost PPO-biotina (Figura 8.9. și Figura 8.10.).

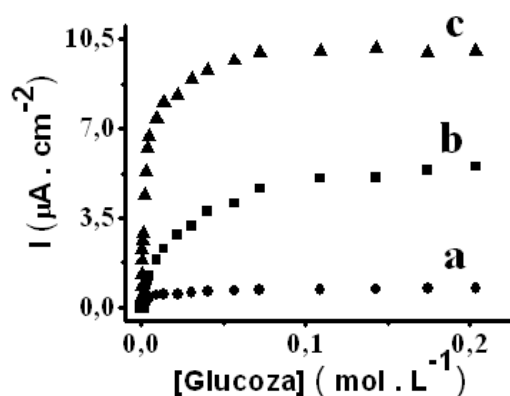


Figura 8.7. Răspunsul anodic al electrozilor enzimatici (nano-CaCO₃ / poli(pirol-NTA) /His-GOX) în funcție de concentrația de glucoză detectată pe suprafața electrodului de platină curat (a) și pe electrodul astfel modificat înainte (b), și după (c) tratamentul cu acid.

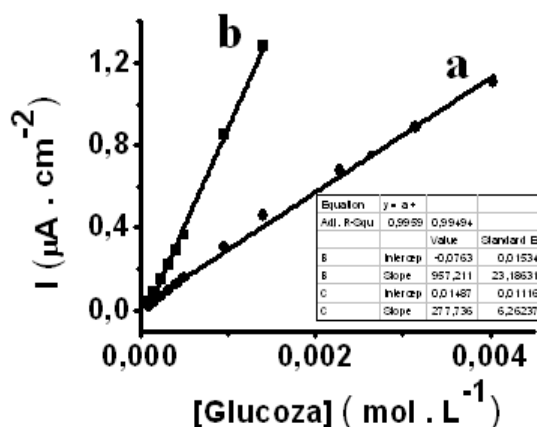


Figura 8.8. Curbe de calibrare pentru detectarea glucozei utilizând pentru imobilizare GOX-histidina cu ajutorul sistemului de afinitate nano-CaCO₃ / poli(pirol-NTA) /His-GOX înainte (a) și după (b) tratamentul cu acid (HCl, pH = 2) în soluție tampon 0,1 mol. L⁻¹ fosfat (pH = 7,0). Potențialul aplicat este 0.7 V vs SCE.

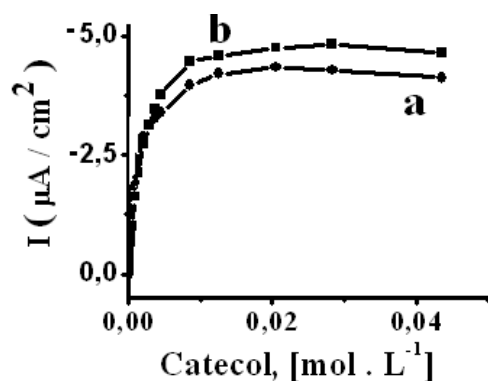


Figura 8.9. Răspunsul catodic al electrozilor enzimatici (nano-CaCO₃ / poli(pirol-NTA) /PPO-Biotina) în funcție de concentrația de catecol obținut pe electrod cu suprafața astfel modificata înainte (a), și după (b) tratamentul cu acid; soluție tampon 0,1 mol. L⁻¹ fosfat (pH = 7,0); potențialul aplicat este -0.2 V vs SCE.

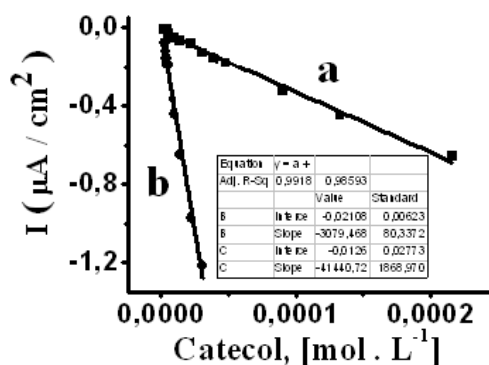


Figura 8.10. Curbe de calibrare în soluție tampon 0,1 mol. L⁻¹ fosfat (pH = 7,0) pentru detectarea catecolului utilizând un electrod modificat cu nano-CaCO₃ / poli(pirolul-NTA) /PPO-Biotina înainte (a) și după (b) tratamentul cu acid (HCl, pH = 2). Potențialul aplicat este -0.2 V vs SCE.

CAPITOLUL 9.

REALIZAREA UNEI METODE BAZATE PE ELECTROZI MODIFICAȚI CU FILME COMPLEXANTE DE POLI(4-AZULEN-1-IL-2,6-BIS(2-TIENIL)PIRIDINĂ) (POLIL) PENTRU DETERMINĂRI VOLTAMETRICE DE IONI DE PLUMB ȘI CADMIU

Electrozii modificați C|poliL au fost utilizați pentru a determina ionii de Pb(II) și Cd(II) din soluții apoase, folosind metoda de preconcentrare chimică-redizolvare anodică în cele mai bune condiții experimentale găsite în prealabil (pH 5,5, timp de pre-concentrare de 10 minute, potențial de depunere -1.2 V și timp de reducere 1 min).

Pentru a obține curbele de calibrare au fost înregistrate curbele DPV la diferite concentrații de ioni metalici folosind electrozi proaspăt preparați. Au fost obținute domenii liniare ale curbelor de calibrare în intervalul de concentrații de la 10^{-9} la 10^{-7} la mol L⁻¹ pentru Pb(II) (Figura 9.7B), și de la 4×10^{-8} la 10^{-6} mol L⁻¹ pentru Cd(II) (Figura 9.8), cu coeficienții de corelare de 0.996 pentru plumb și 0.999 pentru cadmiu. Limitele de detecție (LOD) au fost calculate folosind relația $LOD = k s m^{-1}$ [28], unde $k = 3$, s = abaterea standard a valorilor curenților de pic a fondului (luând în considerare 20 curbe) și m = panta curbei de calibrare pentru ionii de Pb(II) și Cd(II), respectiv. Limitele de cuantificare (LOQ) au fost calculate folosind aceeași relație ca și pentru LOD, dar cu $k = 10$. Valorile LOD și LOQ au fost de 7×10^{-10} mol L⁻¹ și 10^{-9} mol L⁻¹, respectiv, pentru ionii de plumb, și 10^{-8} mol L⁻¹ și de $3,5 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, respectiv, pentru ionii de cadmiu.

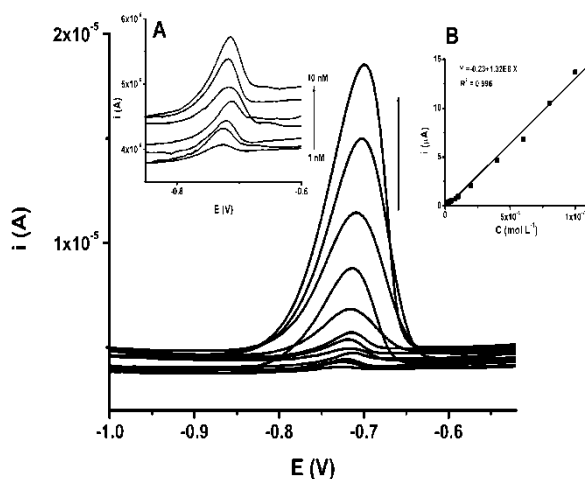


Figura 9.7. Curbe DPV înregistrate cu electrozi modificați C|poliL pentru diferite concentrații (nM) de ioni Pb(II), de jos în sus: 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 20, 40, 60, 80, 100. Inserat: A) detaliu al domeniului de concentrații 1-10 nM; B) curba de calibrare corespunzătoare pentru ionii de Pb²⁺ în domeniul de

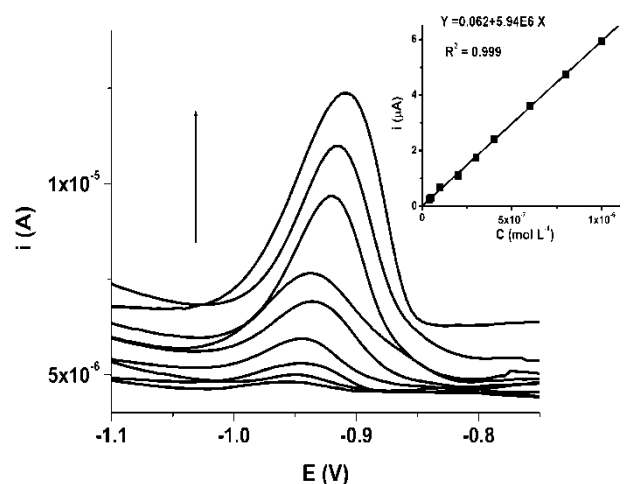


Figura 9.8. Curbe DPV înregistrate cu electrozi modificați C|poliL pentru diferite concentrații (μM) de ioni Cd(II), de jos în sus: 0.04, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8, 1. Inserat: curba de calibrare corespunzătoare pentru ionii de Cd²⁺ în domeniul de concentrații 0.04 to 1

9.4. Experimente de reproductibilitate și precizie a măsurătorilor

S-a studiat posibilitatea de a refolosi același electrod modificat C|poliL în mai multe analize de ioni de Pb(II) și Cd(II). După electropolimerizarea prin EPC la +1.6 V/(Ag/Ag⁺) în soluție ce conține 3mM L, 0,1 M TBAP, CH₃CN pe disc de carbon vitros (3 mm în diametru), electrodul modificat rezultat a fost clătit cu acetonitril și imersat în soluție apoasă de tampon de acetat cu pH 5,5, în scopul de a echilibra electrodul modificat cu mediul de complexare. Acest lucru a fost realizat prin ciclari succesive în această soluție între -0.9 V și 0.6 V (15 cicluri). Apoi electrodul modificat a fost ținut timp de 10 minute sub agitare la 25 °C în soluția de pre-concentrare ce conține 5×10^{-5} mol L⁻¹ ioni de Pb(II) sau Cd(II) în tampon acetat la pH 5,5. După etapa de pre-concentrare, electrodul modificat a fost cu atenție clătit cu apă și transferat într-o soluție de tampon acetat fără ioni metalici, unde ionii metalici complexați au fost reduși (la -1.2 V timp de 1 minut), înainte de a înregistra curentul de redizolvare corespunzător folosind voltametria cu puls diferențial. După determinarea plumbului sau cadmiului, regenerarea electrodului C|poliL fără metale a fost realizată prin imersarea electrodului timp de 15 min, în soluție apoasă de EDTA 10^{-3} mol L⁻¹. Zece măsurători consecutive au fost efectuate cu electrod aceeași modificat. Teste similare au fost efectuate cu un electrod modificat imersat în soluții care conțin concentrații mai mici de Pb(II) sau Cd(II) în tampon de acetat (pH 5,5).

Abateri relative standard de 2,5% și 3,8% au fost obținute pentru analiza Pb(II) din soluția de acumulare ce conține 5×10^{-5} mol L⁻¹ și 5×10^{-6} mol L⁻¹, respectiv. Pentru analiza ionilor de Cd(II), deviațiile standard au fost de 3,4% și 5%. Aceste rezultate releva clar faptul că electrozii C|poliL pot fi folosiți pentru mai multe măsurători.

În paralel, au fost efectuate alte măsurători în aceeași soluție de 5×10^{-5} mol L⁻¹ Pb(II) folosind 10 electrozi C|poliL nou obținuți de dimensiuni similare. Rezultatele arată o bună reproductibilitate a procesului de obținere a electrozilor modificați C|poliL (deviația relativă standard a fost de 1%).

9.6. Determinarea ionilor de plumb din probe reale folosind CME cu poliL

Pentru a evalua acuratetea metodei în aplicații practice, electrozi de carbon vitros modificați cu filme de poliL au fost utilizați pentru a determina Pb²⁺ în probele de apă. Probele de apă au fost luate din fluviul Dunăre (teritoriul românesc, în trei puncte de colectare: 1, 2, și 3) și raul Dâmbovița (două puncte de colectare: Ciurel și Glina). Apa de la robinet, din laboratorul nostru a fost, de asemenea, testată în aceleași condiții. Toate probele au fost analizate, fără pre-tratament.

Rezultatele electrochimice experimentale pentru determinarea plumb(II) folosind noii electrozi modificați C|poliL (Tabelul 9.2.) sunt bine corelate cu cele obținute prin teste paralele folosind metode

recunoscute ca Spectrometria de Absorbție Atomică cu Cuptor de Grafit (GFAAS). Rezultatele din Tabelul 9.1 indică faptul că electrodul modificat C|poliL poate fi folosit pentru a estima mai ușor nivelurile de ioni Pb(II) în analiza probelor practice. Valorile obținute din raul Dambovită sunt foarte scăzute fiind situate sub limitele de detecție (rezultatele nu sunt prezentate în acest tabel).

Tabelul 9.2. Concentrația de plumb ($\mu\text{g L}^{-1}$) găsită în probele apoase de mediu folosind voltametria de redizolvare anodică cu electrozi modificați C|poliL^[a] (ASV pe C|poliL) și GFAAS

Proba	ASV pe C poliL	GFAAS
Apa de la robinet	2.890±1.5	3.110
Fluviul Dunare 1	0.447±3.1	0.488
Fluviul Dunare 2	0.642±1.7	0.611
Fluviul Dunare 3	0.514±2.5	0.537

^[a] Valori medii din trei determinări experimentale ± S.D în %.

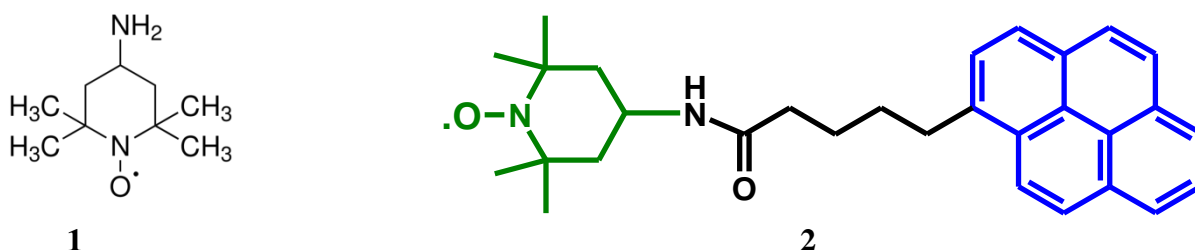
CAPITOLUL 10.

REALIZAREA UNEI METODE BAZATE PE CME CU NANOTUBURI DE CARBON MWCNT ȘI TETRAMETILPIPERIDINIL-PIREN (TEMPO-PIREN) PENTRU ANALIZA IONILOR DE FIER(II)

10.1. Optimizarea condițiilor de lucru

Studiile experimentale pentru detecția ionilor de fier(II) s-au realizat inițial pe electrozi de carbon vitros ($\varnothing = 3 \text{ mm}$) în prezența diferiților derivați de TEMPO (Schema 10.1) notați 4-amino TEMPO (**1**) și TEMPO-piren (**2**) și ulterior pe electrozi modificați nanotuburi de carbon cu pereți multipli (MWCNT) și TEMPO-piren.

S-a efectuat caracterizarea electrochimică a acestor compuși prin voltametrie ciclică (Figura 10.1).



Schema 10.1. Structurile moleculelor de 4-amino TEMPO (**1**) și TEMPO-piren (**2**)

10.2. Detecția ionilor de fier(II) pe electrozi de carbon vitros în soluție de TEMPO-piren

După optimizarea condițiilor de lucru, experimentele au fost continuate pe monomerul sintetizat (TEMPO-pirenul) în doi solvenți (acetonitril și dimetilhidrofur) în prezența de TBAP de concentrație 0,1 M.

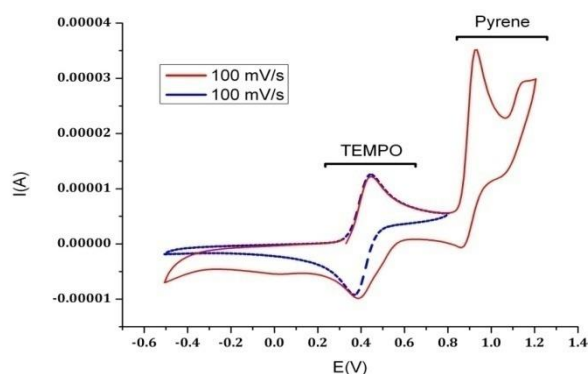


Figura 10.1. Voltamograme ciclice ale soluțiilor de 4-amino TEMPO (TEMPO) și TEMPO-piren (Pyrene) în 0,1 M TBAP, diclorometan

10.2.1. Experimente pentru detecția ionilor de fier în acetonitril

În figura 10.5. sunt ilustrate voltamogramele ciclice realizate în aer pentru realizarea curbei de calibrare a Fe(II) în domeniul de liniaritate 0,002 - 0,3 μM Fe(II) în soluție de TEMPO-piren (0,1 mM). La nivelul semnalului specific pentru TEMPO se observă o ușoară scădere a curentului de pic anodic odată cu adăugarea soluției de fier. Totodată se observă formarea unui nou pic în zona potențialului de -0,4 V, astfel trasarea curbei de etalonare s-a realizat pentru curentul de pic catodic înregistrat în zona potențialului de reducere ($E = -0,4$ V).

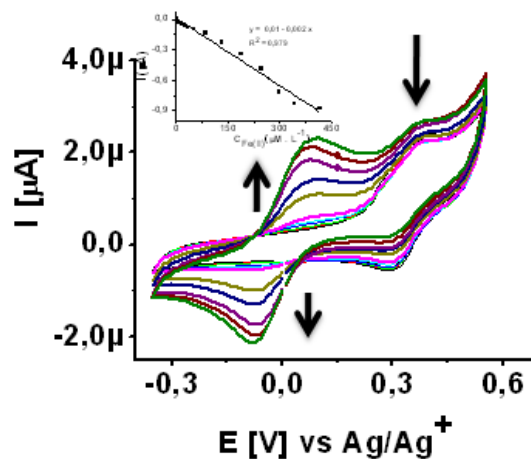
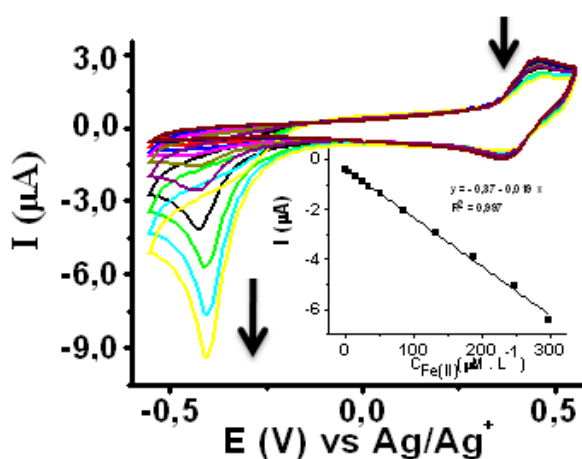


Figure 10.5. Voltamograme ciclice ($v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$) pe electrod de carbon vitros ($\varnothing = 3 \text{ mm}$), în soluție de TEMPO-piren $0,1 \text{ mM}$ în CH_3CN și TBAP $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pentru diferite concentrații de $\text{Fe}(\text{II})$: $2 - 300 \mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$. **Inserat:** Curba de etalonare corespunzătoare Fe^{2+} în intervalul $2 - 300 \mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$

Figure 10.6. Voltamograme ciclice ($v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$) pe electrod de carbon vitros ($\varnothing = 3 \text{ mm}$) în soluție de TEMPO-piren $0,1 \text{ mM}$ în DMF și TBAP $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ la concentrații crescătoare de fier(II): $0,002 - 0,3 \mu\text{M}$; **Inserat:** dreapta de calibrare corespunzătoare acestor adausuri

10.2.2. Experimente pentru detecția ionilor de fier în DMF

Experimentele de voltamogramele ciclice în soluția de DMF și TBAP $0,1 \text{ M}$ s-au realizat în aceleași condiții ca și cele din subcapitolul anterior (Figura 10.6.). Curba de calibrare a ionilor de $\text{Fe}(\text{II})$ pentru DMF este imersată figurii 10.6.

La nivelul semnalului specific pentru TEMPO se observă o ușoară scădere a curentului de pic anodic odată cu adăugarea soluției de fier. Tot în această figura se observă formarea unui pic reversibil care poate fi atribuit sistemului $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$. Trasarea curbei de etalonare s-a realizat pentru curentul de pic catodic înregistrat în zona potențialului de reducere ($E = -0,08 \text{ V}$) (Figura 10.6. B imersată)..

10.3. Detecția ionilor de fier(II) pe electrozi modificați cu matricea MWCNT/TEMPO-piren

10.3.1. Experimente realizate în aer

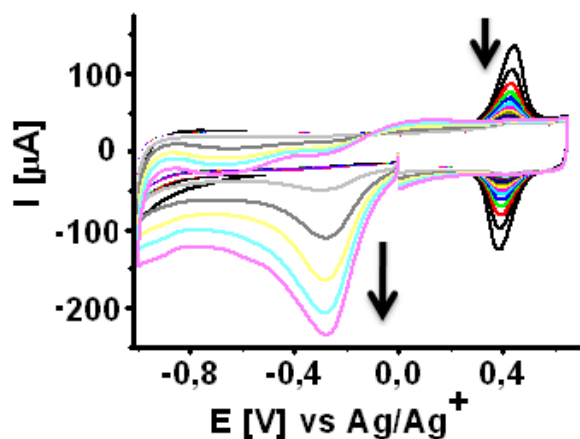


Figure 10.10. Voltamograme ciclice ($v = 20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$) în aer pe electrodul de carbon vitros ($\varnothing = 3 \text{ mm}$) modificat cu matricea MWCNT / TEMPO-piren în soluție de CH_3CN și TBAP $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ la concentrații de fier(II) în soluție în domeniul: $3,9 \cdot 10^{-8} \text{ M} - 2,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

10.3.2. Experimente realizate sub argon (în camere cu mănuși)

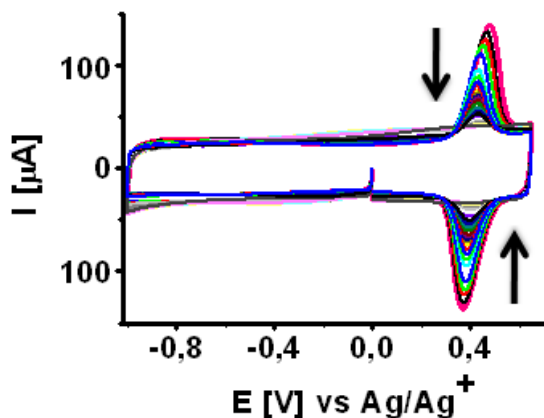


Figura 10.15. Voltamograme ciclice ($v = 20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$) în atmosferă de argon pe electrodul de carbon vitros ($\varnothing = 3 \text{ mm}$) modificat cu MWCNT / TEMPO – piren, în soluție de CH_3CN și TBAP $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pe domeniul concentrațiilor ionilor de fier(II) $2 \cdot 10^{-8} \text{ M} - 2,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

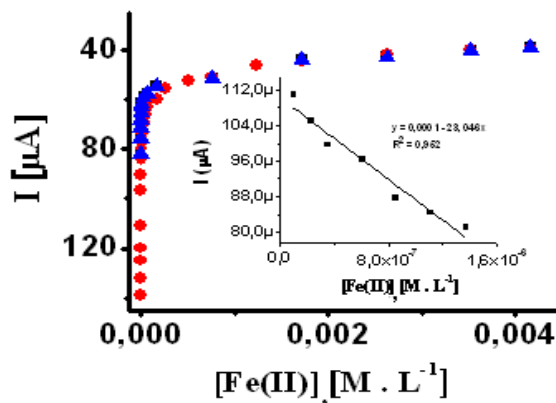


Figure 10.19. Curbele de etalonare ale ionului de Fe(II) obținute pe un electrod de carbon vitros, în atmosferă de argon ($\varnothing = 3 \text{ mm}$) la $E = -0,45 \text{ V}$ vs. Ag/Ag^+ modificat cu matricea MWCNT / TEMPO-piren în soluție de CH_3CN și TBAP $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

S-au pregătit 3 electrozi în aceleași condiții ($20 \mu\text{L}$ MWCNT, uscare sub vid în atmosferă de azot lichid, 30 minute în soluție de TEMPO-piren $0,1 \text{ mM}$) și s-au testat conform modului de lucru descris în capitolul 4. Experimentele obținute au arătat că rezultatele sunt reproductibile (Figura 10.19)

III. CONCLUZII FINALE

Teza de doctorat **METODE ȘI METODOLOGII ÎN DETERMINĂRI ANALITICE CU APLICAȚII ÎN EVALUĂRI DE MEDIU ȘI SĂNĂTATE** reunește studii originale efectuate în vederea realizării de senzori electrochimici, a testării acestora în domeniul mediului (detecția de metale grele și de compuși fenolici dintre care s-a ales catecolul) și al sănătății (detecția glucozei), obținerii și caracterizării de noi materiale cu proprietăți interesante (catalitice sau de recunoaștere) cum ar fi TEMPO-pirenul.

Direcțiile de cercetare abordate au vizat:

1. Evaluarea conținutului de metale grele din probe reale de sol, apă și sedimente
2. Validarea unei noi metode de detecție (FIAS-ICP-EOS) a ionilor de mercur din probe de apă, precum și compararea rezultatelor obținute prin această metodă pe probe reale cu cele obținute prin AAS cu vapori reci
3. Realizarea de senzori bazați pe electrozi chimic modificați (CME) pentru detecția ionilor de metale grele din probe de mediu
4. Realizarea de noi biosenzori bazați pe CME cu diferite tipuri de nanostructuri de CaCO_3 pentru detecția glucozei din probe biochimice

Prin **analiza de metale grele** din apă, sedimente și sol din zona unei platforme industriale s-a putut determina gradul de poluare al acestora asupra factorilor de mediu investigați. Astfel, prin metoda AAS a fost evaluat conținutul de **metale grele** din apă, sedimente și sol din zona unei platforme industriale.

Rezultatele analizelor pentru apă și sedimente au fost comparate cu prescripțiile legale prevăzute în Normele privind clasificarea calității apelor de suprafață în vederea stabilirii stării ecologice a corpurilor de apă. Probele de sol au fost comparate cu valorile de referință pentru elementele chimice urme. În secțiunea amonte a platformei, concentrațiile de metale grele în sedimente au depășit limitele impuse de legislația națională. În secțiunile aval concentrațiile de nichel, cupru și cadmiu au fost, în general, în limitele impuse de legislația națională. Concentrațiile de metale grele din apă au fost mai mici decât limitele impuse de legislația națională și europeană. S-a observat că gradul de poluare cu metale grele depinde de debitul de ape uzate industriale al platformei chimice. În cazul probelor de sol, concentrațiile de nichel, cupru și cadmiu nu au depășit valorile limită ale legislației de mediu.

Evaluarea conținutului de mercur din BH Olt în vecinătatea surselor industriale de poluare a condus la concluzii asupra poluării cu mercur în ecosistemele apă/sediment și sol. În scopul determinării impurificării cu mercur induse de activitățile industriale desfășurate în BH Olt s-au recoltat probe de apă și sedimente din 36 de puncte de recoltare. Rezultatele obținute în urma analizelor de mercur efectuate prin metoda AAS cu vapori reci au arătat că mercurul din probele de ape și sedimente colectate din bazinul hidrografic Olt are concentrații diferite, în funcție de punctul de recoltare și de perioada de recoltare. În perioada investigată în anumite cazuri **concentrațiile de mercur** au depășit limitele admise, conform indicelui de geo-acumulare calculat. Pentru probele de sol s-a constatat o poluare istorică datorită funcționării electrolizoarelor cu catod de mercur. O poluare similară s-a observat și în zonele miniere și industriale din vecinătatea bazinului hidrografic Olt. Calitatea apelor râului Olt în aval de platformele industriale a fost influențată de calitatea efluenților reziduali deversați, de regimul de funcționare a hidrocentralelor cât și de cantitatea de precipitații înregistrată în această perioadă.

Studiile și experimentele efectuate **în scopul de a valida și aplica metoda FIAS-ICP-EOS pentru determinarea mercurului** din probe reale de ape, în laboratoarele de analiză de mediu din țară., au arătat că:

- metoda propusă spre validare pentru determinarea cantitativă a mercurului din probe de apă FIAS-ICP-EOS este specifică, selectivă, liniară, precisă și exactă;
- limita de detecție a ionilor de mercur obținută (0,1 μg/L) la lungimea de undă de 194,168 nm se încadrează în criteriile de acceptare a unei metode analitice de determinare a mercurului impuse de legislația națională de mediu;

Rezultatele obținute prin **folosirea metodei de voltametrie de stripping anodic** aplicată pe electrozi modificați cu filme de polimeri pentru detecția ionilor de mercur din probe reale de sol, au fost apropiate de cele obținute prin metoda tradițională (spectroscopie de absorbție atomică). Este posibilă o diminuare a diferențelor semnalate printr-o investigație mai atentă a interferențelor și realizarea unui studiu de speciație a mercurului. Aplicarea metodei de voltametrie de stripping anodic aplicată pe electrozi modificați cu filme de polimeri este promițătoare pentru analiza Hg (II), deoarece permite o evaluare la costuri mici, cu potențial pentru măsurători descentralizate.

Pentru **realizarea de biocaptori** a fost prezentată o alternativă elegantă de CME pe bază de nanoparticule CaCO_3 și filme de poli(pirol-NTA) electrogenerate. Filmul polimeric format pe suprafața electrozilor modificați cu nano- CaCO_3 , după dizolvarea acestora a devenit foarte poros, cu proprietăți de permeabilitate îmbunătățite. Pentru a demonstra creșterea clară a permeabilității au fost testate două filme de polipirol N-substituite electrogenerate prin metode potențiostatice utilizând o sonda redox (hidrochinona). Pentru a evalua această abordare ca aplicație în domeniul biosenzorilor au fost realizate două tipuri de biosenzori: unul pentru detecția glucozei construit prin imobilizarea grupărilor histidinice ale glucozoxidazei prin interacțiuni coordinative cu matricea nano- CaCO_3 /poli(pirol-NTA) / Cu^{2+} , iar cel de-al doilea pentru detecția catecolului prin imobilizarea enzimei, PPO-Biotina în matricea nano- CaCO_3 /poli(pirol-NTA) / Cu^{2+} . Această configurație clasică pentru senzorii de glucoză au arătat că îmbunătățirea permeabilității este benefică pentru realizarea de biosenzori enzimatici. Aceste rezultate sunt promițătoare pentru dezvoltarea de noi nanostructuri funcționale 3D pentru biosenzori capabili să imobilizeze o cantitate mare de unități receptoare permițând difuzia optimă a analiților și substraturilor de-a lungul structurilor.

S-a abordat **realizarea de senzori electrochimici pentru detecția electroanalitică a ionilor de plumb și cadmiu**, pe bază de CME cu 4-azulen-1-il-2,6-bis (2-tienil) piridină (C|polyL). Acest monomer de poliazulenă are proprietăți de complexare cu o mare afinitate față de ionii de Pb (II) în comparație cu alți ioni metalici din apă. Pentru electrozii modificați cu C|polyL s-au obținut limitele de detecție de $7 \cdot 10^{-10}$ mol L^{-1} pentru Pb(II) și 10^{-8} mol L^{-1} pentru Cd(II). Cele mai bune proprietăți de detecție electrochimice ale acestor noi electrozi modificați față de ionii de plumb au fost confirmate prin analiza unor probe reale. Rezultatele obținute au fost în concordanță cu cele obținute prin metode standard, cum ar fi spectrometria de absorbție atomică cu cuptor de grafit. Metoda propusă este simplă și adecvată pentru analiza de rutină a probelor din mediu.

Metoda de voltametrie ciclică pe bază de CME cu nanotuburi de carbon (MWCNT) și TEMPO-piren a fost utilizată pentru detecția electroanalitică a ionilor de fier(II). Limita de detecție a fierului(II) obținută a fost de $1,96 \cdot 10^{-8}$ mol L^{-1} , iar domeniul de liniaritate a fost cuprins între: $5,1697 \cdot 10^{-8}$ [M $\cdot \text{L}^{-1}$] și $2,65 \cdot 10^{-6}$ [M $\cdot \text{L}^{-1}$].

Studiile și cercetările elaborate în vederea găsirii de noi metode și metodologii pentru determinările analitice utilizate în domeniul medical și al mediului (determinări de glucoză, compuși fenolici și de ioni metalici), au permis o analiză complexă și comparativă a metodelor utilizate în prezent în laboratoarele de analize de mediu și sănătate. Au fost puse în evidență performanțele noilor metode propuse spre utilizare, bazate pe folosirea de electrozi modificați.

Bibliografie selectivă

1. J. Wang, J. Lu, S. B. Hocevar, P. A. M. Farias, *Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry*, Anal. Chem. 72 (2000) 3218.
2. M. A. Baldo, C. Bragato, G. A. Mazzocchin, S. Daniele, *Lead and copper deposition from dilute solutions onto carbon disc microelectrodes. Assessment of quantification procedures by anodic stripping voltammetry*, Electrochim. Acta 43 (1998) 3413.
3. M. A. Nolan, S. P. Kounaves, *Microfabricated Array of Iridium Microdisks as a Substrate for Direct Determination of Cu²⁺ or Hg²⁺ Using Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry*, Anal. Chem. 71 (1999) 3567.
4. Y.-C. Tsai, B. A. Coles, K. Holt, J. S. Foord, F. Marken, R. G. Compton, *Microwave-Enhanced Anodic Stripping Detection of Lead in a River Sediment Sample. A Mercury-Free Procedure Employing a Boron-Doped Diamond Electrode*, Electroanalysis 13 (2001) 831.
5. E. A. Viltchinskaia, L. L. Zeigman, S. G. Morton, *Application of stripping voltammetry for the determination of mercury*, Electroanalysis 7 (1995) 264(a); E. Beinrohr, M. Cakrt, J. Dzurov, P. Kottas, E. Kozakova, *Calibrationless determination of mercury by flow-through stripping coulometry*, Fresenius J. Anal. Chem. 356 (1996) 253 (b).
6. SR ISO 11466:1999, Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia
7. SR EN 1483/2007, Water quality. Determination of mercury. Method using atomic absorption spectrometry.
8. A. Le Goff, M. Holzinger and S. Cosnier, *Analyst*, 2011, **136**, 1279-1287.
9. A. Walcarius and A. Kuhn, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2008, **27**, 593-603.
10. S. Mahouche-Chergui, M. Guerrouache, B. Carbonnier and M. M. Chehimi, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2013, in press (doi: 10.1016/j.colsurfa.2013.1004.1013).
11. C. D. Mateescu, R. Isopescu, F. Branzoi, M. Mihai and I. Chilibon, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 2008, **10**, 2667-2674.
12. A.C. Razus, L. Birzan, M. Cristea, V. Tecuceanu, A. Hanganu, C. Enache, *J.Heterocycl. Chem.* 48 (2011) 1019.
13. MESDR, (2006), Order of Ministry (Ministry of Environment and Sustainable Development of Romania) no. 161/2006 for the approval of the Norms regarding the classification of surface water quality in order to establish the ecological status of the water body.
14. Dumbrava A. and Brighila S. (2009), Analysis of some metal levels in Danube River water, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 219-225.
15. Iordache M., Taralunga M., Mandoc L. R., (2009), *The Olt River quality into Rm. Valcea industrial aria in 2008*, International Symposium „Environmental and Industry”, Bucharest, vol. **2**, 143-151.

16. Mandoc L. R., Taralunga M., Iordache M., (2009), *The impact of mercury on the Olt River water, sediment and soil around the pollutant sources*, International Symposium „Environmental and Industry”, Bucharest, vol. **2**, 136-143.
17. Taralunga M., Iordache M., Mandoc L. R., (2009), *Supervision control of toxic chemicals according to HG 351/2005 in the wastewater effluents of the Olchim aria*, International Symposium „Environmental and Industry”, Bucharest, vol. **2**, 385-389.
18. Ji Y., Feng Y., Wu, J., Zhu T., Bai Z., Duan C., (2008), Using geo-accumulation index to study source profiles of soil dust in China, *Journal of Environmental Sciences*, **20** (5), 571-578.
19. Chen T.C.W, (2007), Distribution and accumulation of heavy metals in the sediments of Kaohsiung Harbor, Taiwan *Chemosphere*, **66**, 1431-1440.
20. Niu H., Deng W., Wu Q., Chen X., (2009), Potential toxic risk of heavy metals from sediment of the Pearl River in South China, *Journal of Environmental Sciences*, **21**, 1053-1058.
21. Suthar S., Nema A.K., Chabukdhara M., Gupta S.K., (2009), Assessment of metals in water and sediments of Hindon River, India: Impact of industrial and urban discharges, *Journal of Hazardous Materials*, **171**, 1088-1095.
22. Facchinelli, A., Sacchi, E., Mallen, L., (2001), Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils. *Environmental Pollution*, **114**, 313-324.
23. Al-Khashman O.A., Heavy metal distribution in dust, street dust and soils from the work place in Karak Industrial Estate, Jordan, *Atmospheric Environment*, **38**, 6803-6812.
24. Christophoridis C., Dedepsidis D., Fytianos K., (2009), Occurrence and distribution of selected heavy metals in the surface sediments of Thermaikos Gulf, N. Greece. Assessment using pollution indicators, *Journal of Hazardous Materials*, **168**, 1082-1091.
25. Vega F.A., Covelo E.F., Cerqueira B., Andrade M.L., (2009), Enrichment of marsh soils with heavy metals by effect of anthropic pollution, *Journal of Hazardous Materials*, **170**, 1056-1063.
26. SR EN ISO 11885/09 Calitatea apei. Determinarea a 33 elemente prin spectrometrie de emisie optica cu plasma cuplata inductiv;
27. G.-O., Buica, C., Bucher, J.C., Moutet, G., Royal, E., Saint-Aman, E.M., Ungureanu, Voltammetric Sensing of Mercury and Copper Cations at Poly(EDTA-like) Film Modified Electrode. *Electroanalysis*, 21(1), (2009), 77-86.
28. M.H. Parvin, *Electrochem. Commun.* 13 (2011) 366.
29. Ordin Nr.161/2006 – Ordin al Ministrului Mediului si Gospodarii Apelor pentru aprobarea Normativului privind clasificarea calitatii apelor de suprafata in vederea stabilirii starii ecologice a corpurilor de apa
30. N. Haddour, S. Cosnier and C. Gondran, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 5752-5753.
31. L. Coche-Guérente, A. Deronzier, B. Galland, P. Labbe, J.-C. Moutet and G. Reverdy, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, **6**, 386 - 388.

Lucrări elaborate pe parcursul tezei de doctorat

Lucrări publicate

1. George-Octavian Buica, Eleonora-Mihaela Ungureanu, Liviu Birzan, Alexandru C. Razus, Luisa-Roxana Mandoc (Popescu), *Voltammetric sensing of lead and cadmium using poly(4-azulen-1-yl-2,6-bis(2-thienyl)pyridine) complexing films*, Journal of Electroanalytical Chemistry, 693, (2013) 67–72 (copie anexată) (**Factor de impact: 2.672, Scor relativ influenta: 1,44548**)
2. Mihaela Iordache, Ioan Viorel Branzoi, Luisa Roxana Popescu, Ioan Iordache, *Evaluation of heavy metal pollution into a complex industrial area from Romania*, Environmental Engineering and Management Journal, 2013, Iasi, Romania, sub tipar (adeverința și copie articol anexate) (**Factor de impact: 1.117, Scor relativ influenta: 0,085**)
3. Luisa-Roxana POPESCU, Eleonora-Mihaela UNGUREANU, G.-O. BUICA, Cristina DINU, Mihaela IORDACHE, *Determination of mercury in real samples by atomic spectrometry and stripping voltammetry*, University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin, sub tipar (adeverința și copie articol anexate)
4. E.-M. Ungureanu, L.R. Popescu, G.-O. Buica, “*Evaluation of mercury content in real samples using atomic absorption spectrometry and modified electrodes*”, Conference Proceeding, Parte I, ICOBTE, 2011, 573-574 (copie anexată)
5. Popescu Luisa Roxana, Iordache Mihaela, Taralunga Maria, Eleonora-Mihaela Ungureanu, “*The impact of mercury pollution on ecosystems soil, water / sediment from olt river basin*”, București, The environment and industry, 2011, Volume I, 327 – 335 (copie anexată)
6. Taralunga Maria, Iordache Mihaela, Popescu Luisa Roxana, “*Evolution of the olt river quality, upstream and downstream of the wastewater discharges from S.C. OLTCHIM S.A. Ramnicu Valcea in the past three years*”, The environment and industry, 2011, Volume II, 314 – 321(copie anexată)
7. Iordache Mihaela, Popescu Luisa Roxana, Taralunga Maria, Dobre Nicoleta Georgeta, Totea Georgeta, “*Assess the degree of accumulation of substances priority/hazardous pollutants in soil and sediment sources around the olt river, upstream and downstream of wastewater discharges from industrial platform Ramnicu Valcea*”, The environment and industry, 2011, Volume II, 278 – 285 (copie anexată)
8. Cristina Dinu, Gabriela Vasile, Roxana Popescu, “*Determination of volatile metallic elements in water using flow injection hydride generation coupled with FIAS-ICP-EOS*” international symposium”, The environment and industry”, 2011, Volume II, Bucuresti, Romania (copie anexată)
9. Mihaela Iordache, Ioan Viorel Branzoi, Ioan Iordache, Luisa Roxana Popescu, Maria Taralunga, “*Variation of the Olt river quality into the industrial complex area of Ramnicu Valcea*”, Progress of Cryogenics and Isotopes Separation, Volume 15, issue 2/2012, 65 – 70 (copie anexată)

Total IF: 3,789 Total SRI: 1,53048

Comunicări științifice

1. Luisa Roxana Mandoc , Taralunga Maria, Iordache Mihaela" Seasonal fluctuations of mercury pollution from ecosystems soil, water / sediment in olt river basin” – a XXXI – a Conferință Națională de Chimie Ramnicu Valcea, 6 – 8 octombrie 2010, pag. 224
2. Iordache Mihaela, Taralunga Maria, Mandoc Luisa Roxana – „Establishment of state impurity priority / a dangerous soil, water and sediment from the river Olt, Ramnicu Valcea industrial area platform” – a XXXI – a Conferință Națională de Chimie Ramnicu Valcea, 6 – 8 octombrie 2010, pag. 223
3. Taralunga Maria, Iordache Mihaela, Mandoc Luisa Roxana – „Share of contamination with chloride, calcium and CCO- Cr from sewage discharge of SC Olchim SA on the Olt river” – a XXXI – a Conferință Națională de Chimie Ramnicu Valcea, 6 – 8 octombrie 2010, pag. 273
4. Luisa-Roxana Popescu, Alexandru Ivanov, E.-M. Ungureanu, “*Studies concerning soils pollution with mercury in industrial areas*”, RICCCE XVII, 7 – 10 septembrie 2011, Sinaia, România
5. Maria Taralunga, Mihaela Iordache, Luisa Roxana Popescu, “*Determinarea gradului de poluare cu substante periculoase in solul si apa freatica, in sedimentele din Raul Olt, din zona platformei Chimice Ramnicu Valcea*”, A XXXII –a Conferință Națională de Chimie, 3–5 octombrie 2012, Călimănești-Căciulata, Valcea, România
6. Roxana Mandoc (Popescu) Karine Gorgy, Alan Le Goff, Serge Cosnier, Raluca Isopescu, Eleonora-Mihaela Ungureanu, “*New ways to improve the characteristics of modified electrodes for enzyme mediated amperometric detection*”, A XXX II –a Conferință Națională de Chimie, 3–5 octombrie 2012, Călimănești-Căciulata, Valcea, România
7. Luisa-Roxana Popescu (Mandoc), Karine Gorgy, Eleonora-Mihaela Ungureanu, Raluca Isopescu, Serge Cosnier, “*Permeability improvement in matrices nanoCaCO₃-polypyrrole-NTA with different CaCO₃ structures*”, 8^{ème} Workshop Franco-Chinois “Surface Electrochemistry of Molecules of Biological Interest & Biosensor Applications”, 24 – 28 septembrie 2012, Lacanau-Océan, Franța
8. Luisa-Roxana Popescu (Mandoc), Karine Gorgy, Eleonora-Mihaela Ungureanu, Raluca Isopescu, Michael Holzinger, Serge Cosnier, *Matériaux d'électrode à base de polypyrrole/CaCO₃ pour la réalisation de biocapteurs*, Journée de printemps, 13 iunie 2013, Grenoble, Franța