

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Badania nanocząstek metali/tlenków metali i ich przemian w roślinach z użyciem technik spektrometrii mas

Szerokie zastosowanie nanomateriałów w różnych dziedzinach życia np. rolnictwie, inżynierii oraz przemyśle, spowodowało pojawienie się projektowanych nanocząstek (NPs) w środowisku. Są one definiowane jako materiały wytworzone przez człowieka, o rozmiarach mniejszych niż 100 nm w co najmniej jednym wymiarze, posiadające szereg specyficznych właściwości fizycznych i/lub chemicznych. Uwolnione NPs mogą być akumulowane w glebie i pobierane przez rośliny jadalne, gdzie mogą przechodzić różne przemiany w potencjalnie toksyczne formy, i finalnie mogą być przyswajane przez organizm człowieka. Pomimo prowadzonych w ostatnich latach intensywnych badań w dziedzinie nanotechnologii, wiedza na temat losów NPs po uwolnieniu do środowiska jest wciąż nieusystematyzowana i ograniczona, dlatego niezbędne jest prowadzenie dalszych, bardziej zaawansowanych badań.

Celem rozprawy doktorskiej było opracowanie metodologii analitycznej pozwalającej na określenie pobierania oraz przemian NPs metali/tlenków metali w roślinach jadalnych za pomocą technik spektrometrii mas. Zaproponowane postępowanie pozwoliło na śledzenie losów badanych NPs, od momentu rozpoczęcia hodowli, po ich akumulację i transport w obrębie tkanek roślin.

Oznaczenie całkowitej zawartości metali za pomocą techniki spektrometrii mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-MS), po mineralizacji materiału roślinnego, potwierdziło ich akumulację w tkankach roślinnych. Technika ICP-MS pracująca w trybie analizy pojedynczej cząstki (SP-ICP-MS) wykazała natomiast duże różnice w stabilności badanych NPs, co pozwoliło na wykorzystanie metodologii opartej na różnych technikach spektrometrii mas.

W celu efektywnej ekstrakcji NPs w niezmienionej formie z materiału roślinnego, opracowano oraz zoptymalizowano proces przygotowania próbek oparty na trawieniu

enzymatycznym z wykorzystaniem Macerozyme R-10 (mieszanka pektynazy, celulazy i hemicelulazy). Zastosowanie techniki SP-ICP-MS do oznaczania nanocząstek platyny (NPs Pt) wyekstrahowanych z rzeżuchy (*Lepidium sativum*) i gorczycy (*Sinapis alba*) wykazało, że pomimo stabilności w roztworze hodowlanym, NPs ulegały aglomeracji podczas pobierania przez korzeń obu roślin, skąd transportowane były do nadziemnych części bez dodatkowych przemian. Otrzymane wyniki badań wskazywały również różny mechanizm bioakumulacji NPs Pt oraz różny stopień ich aglomeracji, w zależności od rodzaju rośliny.

Podczas badań nad wpływem nanocząstek tlenku ceru (NPs CeO₂) oraz tlenku tytanu (NPs TiO₂) na tkanki rzodkiewki (*Raphanus sativus* L.) stwierdzono, że w pożywce użytej do hodowli wystąpiło zjawisko aglomeracji, jednak analizowana roślina pobierała jedynie NPs o mniejszych rozmiarach. Pobrane przez korzeń rośliny NPs CeO₂ ulegały następnie powtórnej, nieznacznej aglomeracji podczas transportu do nadziemnych części rośliny. Wykorzystanie techniki spektrometrii mas z mikropróbkowaniem za pomocą odparowania laserowego (LA-ICP-MS) pozwoliło na określenie lokalizacji NPs CeO₂ w korzeniu rzodkiewki jako jadalnej części rośliny. Otrzymane wyniki wykazały, że NPs są akumulowane wewnątrz tkanki, a nie tylko adsorbowane na jej powierzchni, co jest istotne ze względu na bezpieczeństwo żywności. Dla NPs CeO₂ po raz pierwszy określono także efektywność jonizacji metalu w zależności od jego fizykochemicznej formy docierającej do plazmy, co powinno być uwzględniane każdorazowo podczas pracy z NPs, gdyż ma znaczący wpływ na otrzymywane wyniki.

W przypadku oznaczania dwóch różnych rozmiarów NPs TiO₂, zarejestrowano obecność jedynie mniejszych NPs w niezmienionej formie zarówno w liściach, jak i korzeniach rzodkiewki. Zastosowanie techniki ICP-MS z potrójnym analizatorem kwadropolowym (ICP-QQQ-MS), po raz pierwszy podczas badań wpływu NPs na rośliny jadalne, umożliwiło monitorowanie głównego izotopu oznaczanego pierwiastka dzięki usunięciu interferencji spektralnych, co pozwoliło na zwiększenie czułości, a tym samym na uzyskanie lepszej granicy wykrywalności rozmiaru NPs.

Badania wpływu nanocząstek tlenku cynku (NPs ZnO) na tkanki sałaty (*Lactuca sativa* L.) za pomocą SP-ICP-MS wykazały, że NPs ulegały szybkiemu rozpuszczeniu w pożywce hodowlanej, w związku z czym jedynie jonowa forma metalu była pobierana przez roślinę. Fakt ten uwarunkował zmianę kierunku prac, prowadząc do oznaczenia oraz identyfikacji związków cynku powstałych w liściach sałaty za pomocą technik łączonych – dwuwymiarowej chromatografii cieczowej (wykluczania – SEC oraz oddziaływań hydrofilowych – HILIC) w połączeniu z detekcją ICP-MS oraz wysokorozdzielczą

spektrometrią mas z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie, z kwadrupolowym analizatorem czasu przelotu (ESI-qTOF-MS) oraz analizatorem mas Orbitrap (ESI-Orbitrap-MS). W ramach pracy wykazano, że nikotianamina jest głównym ligandem wiążącym cynk w liściach sałaty, a zastosowane techniki pozwoliły dodatkowo na ilościowe oznaczenie tego związku.

Przedstawione postępowania analityczne pozwalają na (i) określenie stabilności chemicznej NPs, (ii) charakteryzację fizykochemicznej formy metalu pobranego przez rośliny, (iii) ustalenie lokalizacji NPs w tkankach roślinnych, (iv) wykrycie przemian NPs oraz (v) identyfikację związków metali powstałych w roślinie na skutek rozpuszczania NPs. W zależności od badanej rośliny, sposobu prowadzenia hodowli, a przede wszystkim od rodzaju oznaczanych NPs, otrzymywane wyniki mogą się w dużym stopniu różnić. Opracowana metodologia analityczna może być stosowana do oznaczania różnorodnych NPs oddziałujących z różnymi gatunkami roślin, co jest istotne w aspekcie poznawania wpływu NPs na ekosystem.

Słowa kluczowe: nanocząstki metali/tlenków metali, spektrometria mas, rośliny jadalne, analiza specjacyjna, przemiany nanocząstek