

# AUTOREFERAT

## I. IMIĘ I NAZWISKO

Monika Asztemborska

## II. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

2007: Uzyskanie stopnia doktora nauk chemicznych, Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego;

Tytuł pracy: Analiza specjacyjna platyny w materiale roślinnym

Promotor: prof. dr hab. Jerzy Golimowski

Recenzenci: prof. dr hab. Krystyna Pyrzyńska i prof. dr hab. Maciej Jarosz

2002: Uzyskanie tytułu magistra (kierunek chemia analityczna), Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Tytuł pracy: Woltamperometryczne oznaczanie platyny w materiale roślinnym.

Promotor: dr Joanna Kowalska

## III. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

Od X.2008: adiunkt, Pracownia Izotopowa, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski  
(do X.2015 wymiar pracy 1/2 etatu; od 01.2016 kierownik Pracowni Izotopowej)

2007-2008: Laboratorium Organicznej Chemii Analitycznej i Materiałów Referencyjnych, Rządowy Instytut Badania Materiałów i Testowania (BAM), Berlin, Niemcy (staż podoktorski)

2002-2007: studia doktoranckie, Pracownia Chemii Analitycznej Stosowanej, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

## **IV. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 ROKU O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM**

### **1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO**

**BIODOSTĘPNOŚĆ NANOCZĄSTEK I ICH CYRKULACJA W ŚRODOWISKU**

### **2. SPIS PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD DZIEŁA HABILITACYJNEGO**

*(W nawiasie podano wartość IF dla czasopisma w roku publikacji, wartość aktualnego 5-letniego IF, punktację MNiSW z roku publikacji i liczbę cytowań wg baz danych Web of Science)*

**(i) Bystrzejewska-Piotrowska G., Asztemborska M., Giska I., Mikoszewski A., (2012) Influence of earthworms on extractability of metals from soils contaminated with Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, Zn, and ZnO nanoparticles and microparticles of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. POLISH JOURNAL OF ENVIRONMENTAL STUDIES, 21(2), 313-319.**

(IF<sub>2012</sub>: 0,462; IF<sub>5-letni</sub>:1,144; punktacja MNiSW: 15; liczba cytowań wg Web of Science: 7)

Wkład habilitantki: 65%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu analizy zawartości metali metodą spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie wzbudzoną, scharakteryzowaniu nanocząstek, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu, wszystkich tabel i wykresów, współudziale w odpowiedzi na uwagi recenzentów.

**(ii) Bystrzejewska-Piotrowska G., Asztemborska M., Stęborowski R., Ryniewicz J., Polkowska-Motrenko H., Danko B., (2012) Application of neutron activation for investigation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles accumulation by plants. NUKLEONIKA, 57(3), 427-430.**

(IF<sub>2012</sub>: 0,507; IF<sub>5-letni</sub>: 0,610; punktacja MNiSW: 15; liczba cytowań wg Web of Science: 12)

Wkład habilitantki: 60%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczeń, scharakteryzowaniu nanocząstek, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu, wszystkich tabel i wykresów, współudziale w odpowiedzi na uwagi recenzentów.

**(iii) Jakubiak M., Giska I., Asztemborska M., Bystrzejewska-Piotrowska G., (2014) Bioaccumulation and biosorption of inorganic nanoparticles: factors affecting the efficiency of nanoparticle mycoextraction by liquid-grown mycelia of Pleurotus eryngii and Trametes versicolor. MYCOLOGICAL PROGRESS, 13(3), 525-532.**

(IF<sub>2014</sub>: 1,913; IF<sub>5-letni</sub>: 1,814; punktacja MNiSW: 20; liczba cytowań wg Web of Science: 7)

Wkład habilitantki: 55%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu przeprowadzonych doświadczeń, przeprowadzeniu analiz metodą spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie wzbudzoną, interpretacji otrzymanych wyników, przygotowaniu tekstu manuskryptu oraz wykresów, odpowiedzi na uwagi recenzentów.

(iv) **Asztemborska M., Jakubiak M., Książyk M., Stęborowski R., Polkowska-Motrenko H., Bystrzejewska-Piotrowska G., (2014) Silver nanoparticles accumulation by aquatic organisms – neutron activation as a tool for the environmental fate of nanoparticles tracing. NUKLEONIKA, 59(4), 169-173.**

(IF<sub>2014</sub>: 0,477; IF<sub>5-letni</sub>: 0,610; punktacja MNiSW: 15; liczba cytowań wg Web of Science: 7)

Wkład habilitantki: 65%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczeń, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu, wszystkich tabel i wykresów, odpowiedzi na uwagi recenzentów, jestem autorem korespondencyjnym.

(v) **Asztemborska M., Steborowski R., Kowalska J., Bystrzejewska-Piotrowska G. (2015) Accumulation of Aluminium by plants expose to nano- and microsized particles of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL RESEARCH, 9(1), 109-116.**

(IF<sub>2015</sub>: 0,992; IF<sub>5-letni</sub>: 1,150; punktacja MNiSW: 15; liczba cytowań wg Web of Science: 10)

Wkład habilitantki: 75%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczeń, opiece merytorycznej nad przebiegiem hodowli, pomiarach zawartości glinu w roślinach metodą spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie wzbudzoną (wspólnie z dr Joanną Kowalską), analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu, wszystkich tabel i wykresów, odpowiedzi na uwagi recenzentów, jestem autorem korespondencyjnym.

(vi) **Asztemborska M., Steborowski R., Kowalska J., Bystrzejewska-Piotrowska G. (2015) Accumulation of platinum nanoparticles by *Sinapis alba* and *Lepidium sativum* plants. WATER, AIR AND SOIL POLLUTION, 226(4), 126.**

(IF<sub>2015</sub>: 1,551; IF<sub>5-letni</sub>: 1,972; punktacja MNiSW: 25; liczba cytowań wg Web of Science: 12)

Wkład habilitantki: 75%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczeń, opiece merytorycznej nad przebiegiem hodowli, pomiarach zawartości platyny w roślinach metodą spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie wzbudzoną (wspólnie z dr Joanną Kowalską), analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu, wszystkich tabel i wykresów, odpowiedzi na uwagi recenzentów, jestem autorem korespondencyjnym.

(vii) **Asztemborska M., Jakubiak M., Stęborowski R., Chajduk E., Bystrzejewska-Piotrowska G. (2018) Titanium dioxide nanoparticle circulation in an aquatic ecosystem. WATER AIR AND SOIL POLLUTION 229, 208**

(IF<sub>2017</sub>: 1,769; IF<sub>5-letni</sub>: 1,972; punktacja MNiSW: 25; liczba cytowań wg Web of Science: 0)

Wkład habilitantki: 70%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu doświadczeń, pomiarach zawartości tytanu w rybach i roślinach metodą spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie wzbudzoną, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu, wszystkich tabel i wykresów, odpowiedzi na uwagi recenzentów, jestem autorem korespondencyjnym.

### **DANE SCJENTOMETRYCZNE DLA OSIĄGNIĘCIA HABILITACYJNEGO**

Sumaryczny IF: 7.671      Suma punktów MNiSW: 130

Sumaryczny IF<sub>5-letni</sub>: 9,272      Liczba cytowań wg WoS: 55

### 3. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WYMIENIONYCH PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW

Nanotechnologia jest dziedziną nauki i przemysłu, która niezwykle intensywnie rozwija się na przełomie ostatnich lat. Jej istotą jest projektowanie i wytwarzanie elementów materii, których co najmniej jeden z wymiarów jest poniżej 100 nm. Złota era nanotechnologii rozpoczęła się w latach 80. ubiegłego wieku po odkryciu w roku 1985 fullerenów, a następnie w 1991 nanorurek węglowych (Hulla i wsp., 2015). Od tego czasu zainteresowanie nanotechnologią nieustająco rośnie. Szacuje się, że wartość rynkowa produktów nanotechnologicznych w 2009 roku wynosiła około 0,25 biliona dolarów, a w roku 2020 może sięgnąć wartości 3 bilionów dolarów (Łojkowski i wsp., 2015).

W rozwoju nanotechnologii istotne jest, że rozmiar i morfologia struktur ma decydujący wpływ na właściwości substancji (efekt nanoskali). Właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne cząstek o rozmiarach poniżej 100 nm (nanocząstek, NPs) są odmienne od właściwości tych samych cząstek występujących w skali makro (Remedios i wsp., 2012; Masarovicova i Kralova, 2013). Unikalne właściwości, m.in. elektryczne, optyczne, mechaniczne czy magnetyczne nanomateriałów są bezpośrednią przyczyną dynamicznego rozwoju nanotechnologii, czego z kolei skutkiem jest wspomniana wcześniej rosnąca produkcja i szerokie spektrum dziedzin, w których nanomateriały znajdują zastosowanie - rolnictwo, kosmetyka, energetyka, elektronika, przemysł chemiczny i budowlany, medycyna (Nguyen i wsp., 2014; Khan i wsp., 2017; Kumar i wsp., 2018). Wśród produktów zawierających nanocząstki znajdują się zarówno te o wysokim stopniu zaawansowania technologicznego (np. sprzęt RTV, komputery, ogniwa, wyspecjalizowane środki medyczne), jak również wyroby powszechnego użytku: kosmetyki, farby, tkaniny, materiały budowlane.

Naturalną konsekwencją szerokiego stosowania produktów zawierających nanocząstki jest ich przedostawanie się w mniej lub bardziej kontrolowany sposób do środowiska naturalnego na etapie produkcji, użytkowania produktów oraz gospodarki odpadami. Według szacunków Kellera i wsp., 2013, od 63 do 91% rocznej produkcji nanocząstek w roku 2010 (260 000-309 000 m<sup>3</sup>) trafi na składowiska odpadów, reszta zostanie uwolniona do gleby (od 8 do 28%), wód powierzchniowych (0,4-7%) i atmosfery (0,1-1,5%).

Pierwsze lata rozwoju nanotechnologii zaowocowały licznymi pracami naukowymi dotyczącymi projektowania i syntezy nowych nanomateriałów i poszukiwania obszarów ich zastosowań. Z czasem zaczęto zwracać większą uwagę na ocenę ryzyka, jakie nanocząstki stwarzają dla środowiska naturalnego i człowieka. Nanocząstki mają bardzo rozwiniętą powierzchnię właściwą, co może w sposób istotny zwiększać ich aktywność biologiczną. Jednocześnie ich unikalne w stosunku do makrocząstek właściwości powodują, że nie można przypisać im parametrów toksykologicznych charakterystycznych dla form

o większych rozmiarach cząstek. Wskazuje się na kilka czynników warunkujących toksyczność nanocząstek (Kirchner i wsp., 2005, Linkov et al., 2009). Pierwszym z nich jest ich wielkość i kształt. Relatywnie niewielki rozmiar nanocząstek ułatwia im wnikanie do wnętrza komórek i przyczepianie się do błon komórkowych, co z kolei zaburza ich funkcjonowanie. Również kształt nanocząstek może sprzyjać ich penetracji do wnętrza komórek, czego przykładem są nanocząstki w postaci nanorurek, które mogą z łatwością przekłuwać błonę komórkową. Kolejnym mechanizmem toksyczności jest ułatwione uwalnianie fragmentów z powierzchni nanocząstek, głównie jonów, np. toksycznych jonów  $Cd^{2+}$  z nanocząstek selenku kadmu. Toksyczne działanie nanocząstek może być również spowodowane reaktywnością ich powierzchni, co prowadzi do uszkodzenia istotnych do prawidłowego funkcjonowania komórek związków. Ostatni z wymienianych mechanizmów toksycznego oddziaływania nanocząstek związany jest z ich właściwościami sorpcyjnymi - nanocząstki mogą ułatwiać przenikanie innych substancji toksycznych do komórek będąc ich nośnikami.

Do tej pory przeprowadzono szereg badań toksycznego wpływu nanocząstek na różne grupy organizmów (Tripathi i wsp., 2017, Srivastava i wsp., 2015, Fard i wsp., 2015, Bahadar i wsp., 2016, Gnach i wsp., 2015). Wynika z nich, że nanocząstki wykazują działanie cyto-, neuro- i genotoksyczne. Najczęściej jako efekt interakcji nanocząstek z komórkami wykazywana jest indukcja reaktywnych form tlenu i w konsekwencji występowanie stresu oksydacyjnego (Nel i wsp., 2006, Oberdorster i wsp., 2005). Powodować może to inaktywację białek, redukcję stężenia ATP i uszkodzenia DNA. Nanocząstki wywołują też m.in. zmiany we właściwościach adhezyjnych komórek, peroksydację lipidów błon komórkowych i nieprawidłowości w ekspresji genów.

Stan wiedzy na temat oddziaływania nanocząstek na organizmy i środowisko jest przedmiotem wielu badań, ale nadal jest niepełny i wymaga uzupełnienia.

Rozpoczynając pracę naukową na Wydziale Biologii UW i zagłębiając się w tematykę nanocząstek zwróciłam uwagę, że istnieją zagadnienia związane z niewątpliwie rosnącą zawartością nanocząstek środowisku, którym nie poświęcono wystarczającej uwagi, a są one w moim przekonaniu, niezbędne do realnej i pełnej oceny ryzyka, jakie niesie ze sobą dla środowiska rozwój nanotechnologii. Określenie biodostępności nanocząstek zdefiniuje możliwość przenikania tych cząstek ze środowiska do organizmów, gdzie będą one mogły wywoływać efekty toksyczne. Drugie niebezpieczeństwo związane z biodostępnością nanocząstek to ewentualność ich przenikania do wyższych poziomów łańcucha pokarmowego i przenoszenie się efektów toksycznych. Biodostępność nanocząstek może mieć też pozytywne skutki. Zdolność organizmów do bioakumulacji cząstek może dać podstawy zastosowania metod bioremediacyjnych w oczyszczaniu skażonego produktami

nanotechnologii środowiska. Biorąc pod uwagę unikalne właściwości nanocząstek należy mieć świadomość, że ich biodostępność będzie istotnie warunkowana przez środowisko. Poza właściwościami chemicznymi nanocząstek, istotnym czynnikiem determinującym ich przemiany w środowisku, nie występującym w przypadku wielu innych substancji, jest ich rozmiar. Istotnym problemem w przypadku badania nanocząstek jest też możliwość ich rozpuszczania. Nanocząstki mogą stanowić dodatkowo źródło jonów w środowisku. W niektórych przypadkach stężenie jonów może osiągnąć wartości toksyczne dla organizmów. Używając pojęcia „biodostępność nanocząstek” lub „bioakumulacja nanocząstek” należy założyć, że możemy mieć do czynienia zarówno z akumulacją nanocząstek jak i jonów pochodzących z nanocząstek, a niedoskonałość dostępnych metod nie zawsze umożliwia odróżnienie od siebie obu form.

W związku z powyższym, postawionym przeze mnie celem naukowym było scharakteryzowanie biodostępności nanocząstek dla organizmów. Realizacja założonego celu zakładała zbadanie:

- (i) wpływu warunków środowiskowych na biodostępność nanocząstek;
- (ii) możliwości bioakumulowania nanocząstek przez rośliny i inne organizmy;
- (iii) cyrkulacji nanocząstek w środowisku wodnym.

Do badań wytypowałam różne nanocząstki i organizmy, aby uzyskać możliwie szeroki obraz ewentualnych zależności. Dotychczasowe efekty mojej pracy zostały opublikowane w siedmiu artykułach wchodzących w skład mojego dokonania naukowego.

**Bystrzejewska-Piotrowska G., Asztemborska M., Giska I., Mikoszewski A., (2012) Influence of earthworms on extractability of metals from soils contaminated with Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, Zn, and ZnO nanoparticles and microparticles of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. POLISH JOURNAL OF ENVIRONMENTAL STUDIES, 21(2), 313-319.**

Gleba jest niezwykle złożonym medium, które w sposób istotny wpływa na biodostępność zarówno niezbędnych do prawidłowego rozwoju roślin mikro- i makroelementów oraz substancji odżywczych, jak i substancji toksycznych. W przypadku jonów metali na ich biodostępność wpływają procesy adsorpcji, wymiany jonowej, kompleksowania czy też tworzenia osadów (Rieuwerts i wsp., 1998). Procesy te zależne są od wielu czynników m.in. pH, potencjału redox czy tekstury gleby. Jednym z ważniejszych jest też obecność organizmów, czego przykładem są dżdżownice (Devliegher i Verstraete, 1996; Udovic i Lestan, 2007, Dai i wsp., 2004, Wen i sp., 2004). Pytanie o wpływ gleby na biodostępność nanocząstek lub jonów pochodzących z nanocząstek pozostawała bez odpowiedzi. Stąd celem pierwszej z cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe było zbadanie potencjalnej biodostępności nanocząstek w glebie. Do badań wykorzystano nanocząstki

tlenków metali:  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (< 50 nm),  $\text{TiO}_2$  (< 100 nm) i  $\text{ZnO}$  (< 50 nm) oraz, dla porównania, nanocząstki metalicznego Zn (< 50 nm) oraz mikrocząstki  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (< 10  $\mu\text{m}$ ). Eksperyment zakładał interakcję nanocząstek z glebą, a następnie określenie zawartości w glebie metali (Al, Ti i Zn) znajdujących się we frakcji rozpuszczalnej w wodzie (ekstrakcja wodą) oraz we frakcji definiowanej jako biodostępna (ekstrakcja roztworem EDTA). Zastosowano trzy warianty doświadczalne. W pierwszym ekstrakcję prowadzono bezpośrednio po wymieszaniu nanocząstek z glebą (przyjęto „zerowy” czas interakcji). W kolejnym wariantcie czas oddziaływania nanocząstek i gleby wynosił 10 dni. Ostatni eksperyment zakładał 10-dniową interakcję nanocząstek z glebą przy obecności dżdżownic *Dendrobaena veneta*.

Otrzymane wyniki bardzo wyraźnie wskazały na złożoność procesów, jakim podlegają nanocząstki w glebie i ich zależność od rodzaju cząstek (ich składu chemicznego i rozmiaru). W przypadku nanocząstek  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nawet krótka interakcja z glebą skutkowała podwyższeniem zawartości glinu we frakcji rozpuszczalnej w wodzie w odniesieniu do kontroli, niemniej jednak wzrost ten był dużo bardziej wyraźny w przypadku dłuższej ekspozycji (wzrost w stosunku do kontroli o blisko 280%). Obecność *Dendrobaena veneta* w glebie powodowała znaczną redukcję zawartości glinu we frakcji rozpuszczalnej w wodzie (o blisko 80%). Na tej podstawie można wyciągnąć wniosek, że gleba zwiększa rozpuszczalność nanocząstek, zwiększając zawartość glinu w formie jonowej, która to forma sprzyja mobilności i bioakumulacji. W wyniku działania dżdżownic na glebę, mobilność istotnie spada. Podobne zależności zaobserwowano dla frakcji biodostępnej, która zawiera jony związane z kompleksem glebowym na drodze oddziaływania sorpcyjnego, ale nadal potencjalnie pobierane przez rośliny. W przypadku tej frakcji zaobserwowany wpływ gleby i badanych organizmów jest mniejszy. Istotnym wynikiem jest też wykazanie, że w przypadku makrocząstek  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nie stwierdza się wpływu środowiska glebowego i dżdżownic ani na mobilność, ani na biodostępność glinu. Potwierdzono w ten sposób różnice we właściwościach chemicznych wynikające z rozmiaru cząstek danej substancji. Rozpuszczalność w wodzie innych badanych nanocząstek -  $\text{TiO}_2$ , zmieniała się podobnie jak w przypadku nanocząstek tlenku glinu. W wyniku oddziaływania nanocząstek z glebą zawartość rozpuszczonego w wodzie tytanu była 9-krotnie wyższa niż w przypadku kontroli i spadała o około 80% w wariantcie z obecnością dżdżownic. Z kolei zawartość tytanu we frakcji biodostępnej malała nieznacznie z upływem czasu i istotnie (o ~ 50%) w przypadku udziału dżdżownic. W wyniku aktywności dżdżownic w glebie w sposób istotny wzrasta zawartość węgla w postaci związków organicznych (Wen i sp., 2004), które z kolei mogą tworzyć silne kompleksy z jonami metali i znacznie ograniczać mobilność i biodostępność jonów. Zjawisko to ma miejsce w przypadku jonów glinu, które, jak wykazano, mogą być związane w glebie z organicznymi ligandami nawet w 90% (Tolpeshta i Sokolowa, 2009).

Otrzymane w mojej pracy wyniki wskazują, że podobne mechanizmy mają miejsce w przypadku obecności w glebie nanocząstek  $\text{Al}_2\text{O}_3$  i  $\text{TiO}_2$ . W wyniku oddziaływania nanocząstek i roztworu glebowego powstają mobilne jony, które są wiązane przez organiczne produkty metabolizmu dżdżownic, w wyniku czego następuje obniżenie ich biodostępności.

Ostatnim przebadanym w ramach prezentowanej pracy typem nanocząstek były nanocząstki cynku i tlenku cynku. W przypadku nanocząstek metalicznego cynku wykazano, że są one źródłem jonów tego pierwiastka w glebie, ale stężenie tych jonów nie zmienia się istotnie z czasem ani w wyniku obecności organizmów. Dużo większe stężenie jonów cynku w glebie stwierdzono w przypadku nanocząstek  $\text{ZnO}$ . W wyniku interakcji z glebą zawartość cynku we frakcji rozpuszczalnej w wodzie zmalała o blisko 75% i pozostała na tym poziomie w wariancie z dżdżownicami. Cynk pozostaje więc w glebie w postaci mało mobilnej, zgodnie z wynikami Udovica i Lestana, 2007, którzy wykazali, że cynk w glebie obecny jest głównie w najmniej dostępnej frakcji resztkowej. Imobilizacja cynku jest na tyle efektywna, że aktywność dżdżownic nie powoduje już zmian zawartości cynku we frakcji rozpuszczalnej w wodzie. Efektem, którego należało się spodziewać, biorąc pod uwagę wyniki opisane w literaturze (Cheng i Wong, 2002), jest dalszy spadek mobilności cynku. W warunkach przeprowadzonych eksperymentów zaskakująco nie wykazano istotnego wpływu gleby i organizmów na biodostępność jonów cynku, zdefiniowaną jako wydajność ekstrakcji roztworem EDTA.

Ostatnim etapem badań przedstawionych w omawianej publikacji było sprawdzenie bioakumulacji nanocząstek lub jonów przez *Dendrobaena veneta*. We wszystkich przypadkach zawartość jonów w organizmach wystawionych na ekspozycję nanocząstek była istotnie wyższa niż w próbach kontrolnych (około 10-krotnie dla Al i Ti i ponad 30-krotnie dla Zn), ale wynikała głównie z zawartości tych jonów bądź nanocząstek w glebie znajdującej się w układzie pokarmowych dżdżownic. Po oczyszczeniu układu pokarmowego z jego treści, zawartość poszczególnych pierwiastków była tylko nieznacznie wyższa w odniesieniu do prób kontrolnych. Wskazuje to na brak bioakumulacji nanocząstek przez *Dendrobaena veneta*, co spowodowane jest najprawdopodobniej relatywnie krótkim czasem ekspozycji.

#### Najważniejsze osiągnięcia pracy.

Wykazano, że nanocząstki w glebie są wydajnym źródłem jonów oraz, że rozpuszczalność nanocząstek i biodostępność jonów zależą istotnie od oddziaływania z roztworem glebowym i aktywności organizmów. Omawiana praca była jedną z pierwszych publikacji poświęconych tematyce biodostępności i mobilności nanocząstek w glebie.



**Bystrzejewska-Piotrowska G., Asztemborska M., Stęborowski R., Ryniewicz J., Polkowska-Motrenko H., Danko B., (2012) Application of neutron activation for investigation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles accumulation by plants. NUKLEONIKA, 57(3), 427-430.**

Zgodnie z założonym celem badawczym, przedmiotem moich prac było sprawdzenie potencjalnej zdolności roślin do pobierania nanocząstek w kontekście możliwości włączania nanocząstek do łańcucha pokarmowego, jak i wykorzystania roślin w procesie fitoremediacji. W pierwszych badaniach sprawdziłam możliwość akumulacji przez rośliny nanocząstek tlenku żelaza (II,III) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (< 50nm). Zastosowano stężenia nanocząstek z zakresu 0,01 - 10 mmol/l (2,3 – 2300 mg/l). Do badań wykorzystano hydroponicznie hodowane rzeżuchę *Lepidium sativum* i groszek *Pisum sativum*. Dodatkowym celem tej pracy było sprawdzenie możliwości zastosowania techniki aktywacji neutronowej w badaniu wpływu nanocząstek na środowisko, a w szczególności w badaniach bioakumulacji. Ogromną zaletą tej techniki jest możliwość wyeliminowania z analizy pierwiastków naturalnie występujących w organizmach. Poddanie nanocząstek Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> aktywacji neutronowej, a następnie zastosowanie ich w trakcie hodowli roślin, umożliwia szybką, prostą i wiarygodną analizę żelaza w materiale roślinnym i daje gwarancję, że oznaczane żelazo pochodzi z nanocząstek.

W ramach przedstawionych w omawianej publikacji badań wykazano istotną zawartość żelaza we wszystkich roślinach rosnących na podłożu zawierającym nanocząstki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Poziom żelaza zakumulowanego w pędach rzeżuchy był blisko 9-krotnie wyższy w porównaniu z groszkiem hodowanym na podłożu o takim samym stężeniu nanocząstek. W przypadku obu gatunków zawartość żelaza była najwyższa w korzeniach. Akumulacja żelaza zarówno w pędach, jak i korzeniach rzeżuchy rosła wraz z rosnącym stężeniem nanocząstek, a współczynnik akumulacji (definiowany jako stosunek stężenia pierwiastka w roślinie do jego stężenia w podłożu) malał. Wartości współczynnika akumulacji w pędach rzeżuchy nie przekraczały wartości 1, ale dla korzeni wynosiły od 139 do 8,4 (dla najniższego i najwyższego stężenia nanocząstek w podłożu). Wynik ten jest efektem sorpcji nanocząstek na powierzchni korzenia, która była bardzo wyraźnie widoczna po zakończeniu hodowli. W pracy dokonano założenia, że żelazo zakumulowane jest w postaci nanocząstek. Dodatkowe badania aktywności żelaza w postaci jonowej w czystej pożywce hodowlanej (po oddzieleniu nanocząstek na drodze filtracji i wirowania) nie wykazały obecności jonów, co umożliwia założenie, że akumulacja dotyczy nanocząstek.

#### Najważniejsze osiągnięcia pracy.

Wykazano, że nanocząstki tlenku żelaza znajdujące się w podłożu mogą być akumulowane przez rośliny, a czynnikiem wpływającym na biodostępność nanocząstek jest ich stężenie

oraz, że bioakumulacja zależy od warunków ekspozycji i gatunku. Wykazano przydatność techniki aktywacji neutronowej do analizy akumulacji nanocząstek zawierających żelazo. Omawiana praca jest jedną z pierwszych publikacji wskazujących na potencjalną zdolność roślin do bioakumulacji nanocząstek  $Fe_3O_4$ .

**Jakubiak M., Giska I., Asztemborska M., Bystrzejewska-Piotrowska G., (2014) Bioaccumulation and biosorption of inorganic nanoparticles: factors affecting the efficiency of nanoparticle mycoextraction by liquid-grown mycelia of *Pleurotus eryngii* and *Trametes versicolor*. MYCOLOGICAL PROGRESS, 13(3), 525-532.**

Wykorzystanie grzybów do usuwania zanieczyszczeń ze środowiska na drodze mykoekstrakcji jest jedną z przyjaznych środowisku metod remediacji. Skłoniło mnie to do sprawdzenia możliwości bioakumulacji nanocząstek przez grzybnie. Zastosowano w tym celu hodowane biotechnologicznie w pożywkach płynnych grzybnie bocznika mikołajkowego (*Pleurotus eryngii*) i wrośniaka różnobarwnego (*Trametes versicolor*). Do badań wybrano nanocząstki tlenku glinu (< 50 nm), które były już przedmiotem jednej z moich poprzednich prac. W ramach badań sprawdzono wydajność akumulacji nanocząstek przez grzybnie w szerokim zakresie stężeń (0,001– 0,1 mol/l) i wykazano, że niezależnie od zawartości cząstek w pożywce, grzybnie *P. eryngii* usuwały z roztworu około 86% cząstek, a grzybnie *T. versicolor* – około 61%. W pracy przeanalizowano czynniki, wpływające na wydajność pobierania nanocząstek. Wykazano, że stężenie glinu w grzybni maleje wraz z rosnącym czasem hodowli, ale efektywność akumulacji, rozumiana jako procent nanocząstek usuniętych z pożywki, istotnie rośnie. Czynnikiem, który w sposób najbardziej znaczący determinował wydajność akumulacji jest masa grzybni. Mykoekstrakcja może przebiegać według dwóch mechanizmów (Chojnacka 2010; Velásquez i Duszan, 2009): pasywnej sorpcji cząstek na powierzchni grzybni i aktywnej akumulacji cząstek przez grzybnie. W celu wyjaśnienia, jaki mechanizm odpowiada za mykoekstrakcję nanocząstek, przeprowadzono dodatkowe analizy mikroskopowe i za pomocą spektrometrii mas z ablacją laserową. Skaningowa mikroskopia elektronowa uwidoczniała jednoznacznie silną sorpcję nanocząstek na powierzchni grzybni. Z kolei metodą mikroskopii transmisyjnej udało się także wykazać obecność dużych skupisk nanocząstek wewnątrz grzybni. Analiza zawartości glinu w przekrojach grzybni (grzybnie miały kształt kuli) uwidoczniała wysoką zawartość tego pierwiastka wokół środka przekroju, co odpowiada początkowym etapom wzrostu grzybni. W miarę oddalania się od centrum przekroju, czyli wraz ze wzrostem grzybni, zawartość glinu spadała. Wyniki sugerują, że bioakumulacja jest najbardziej efektywna na początkowym etapie narastania grzybni.

Otrzymane wyniki wskazują, że sorpcja jest dominującym mechanizmem mykoekstrakcji nanocząstek tlenku glinu, ale aktywna akumulacja z całą pewnością też ma miejsce. Dodatkowo omawiane badania wykazały, że zdolność sorpcji nanocząstek tlenku glinu ma też sucha grzybnia *P. eryngii*. Wydajność tego procesu nie przekracza 60%, jest więc niższa, niż przypadku żywej grzybni. Możliwości zastosowania suszonego materiału są jednak dużo większe, ze względu na brak konieczności zapewnienia grzybni optymalnych warunków wzrostu. Wyniki otrzymane dla nanocząstek tlenku glinu nie przenoszą się na inne nanocząstki. Jak wykazano w ramach omawianych badań, wydajność mykoekstrakcji platyny przez grzybnie *P. eryngii* jest niższa niż nanocząstek tlenku glinu i wynosi około 60%, a niespełna 15% wydajności otrzymano w przypadku nanocząstek kobaltu.

#### Najważniejsze osiągnięcia pracy.

Wykazanie po raz pierwszy wydajnej bioakumulacji nanocząstek przez hodowane w pożywkach płynnych grzybnie oraz scharakteryzowanie czynników wpływających na ten proces. Wskazano potencjalną możliwość wykorzystania mykoekstrakcji do usuwania nanocząstek ze środowiska.

**Asztemborska M., Jakubiak M., Książek M., Stęborowski R., Polkowska-Motrenko H., Bystrzejewska-Piotrowska G. (2014) Silver nanoparticles accumulation by aquatic organisms – neutron activation as a tool for the environmental fate of nanoparticles tracing. NUKLEONIKA, 59(4), 169-173.**

Zgodnie z danymi literaturowymi, najbardziej narażone na zanieczyszczenie nanocząstkami jest środowisko wodne (Moore, 2006). Celem kolejnych prac badawczych stanowiących moje osiągnięcie naukowe było zobrazowanie bioakumulacji nanocząstek w środowisku wodnym. W pierwszej pracy dotyczącej tej tematyki skoncentrowałam się na zbadaniu bioakumulacji nanocząstek srebra przez larwy owadów z rodziny ochotkowatych *Chironomus* i ryby danio pręgowany (*Danio rerio*). Jako jedne z najpopularniejszych i najszerzej stosowanych nanocząstek wymienia się nanocząstki srebra, dlatego badania dotyczyły tych właśnie nanocząstek. Dodatkowo srebro podlega aktywacji neutronowej tworząc izotop o okresie półtrwania 250 dni, co umożliwiło zastosowanie technik izotopowych w analizie bioakumulacji tego pierwiastka. Jak już wspomniałam powyżej, aktywacja neutronowa w połączeniu ze spektrometrią gamma umożliwia szybką, prostą i dokładną analizę.

Pierwszym etapem przeprowadzonych badań było sprawdzenie bioakumulacji nanocząstek srebra przez larwy owadów z rodziny ochotkowatych w funkcji czasu ekspozycji (6-24h) i stężenia nanocząstek (0,1-10 mg/l). Czas ekspozycji wpływał na zawartość srebra w larwach w zakresie maksymalnie do 30 h. Po upływie tego czasu w większości wariantów

akumulacja spadała, dla najniższego zastosowanego stężenia o ponad 35%, dla najwyższego - o 25%. Wyniki te wskazują, że proces ma, przynajmniej częściowo, charakter dynamiczny. Pobrane srebro po upływie 30 h wraca do środowiska. Otwartym pozostaje pytanie, w postaci jonów czy nanocząstek. Jak wykazałam w jednej z poprzednich publikacji, organizmy obecne w środowisku wpływają na biodostępność nanocząstek. Mechanizm ograniczania biodostępności srebra w wyniku aktywności larw jest również możliwy. Nie da się także wykluczyć, że część srebra jest nie tylko aktywnie bioakumulowana przez organizmy, ale także sorbuje się na ich powierzchni. Za tą konkluzją przemawia fakt, że larwy spowodowały usunięcia ze środowiska, w którym przebywały, od 40 do nawet 60% srebra. Zawartość srebra w larwach zależała istotnie od stężenia nanocząstek w roztworze. Dziesięciokrotny wzrost stężenia nanocząstek skutkował średnio 13-krotnym ( $13 \pm 4$ ) wzrostem ilości srebra oznaczonego w larwach.

Drugim etapem badań było sprawdzenie możliwości bioakumulacji nanocząstek srebra przez ryby na przykładzie *Danio rerio*. Schemat przeprowadzonych doświadczeń zakładał zróżnicowanie źródła nanocząstek w środowisku hodowli ryby. Nanocząstki dodano do wody, w której hodowano ryby lub ryby karmiono wysuszonymi larwami, skażonymi wcześniej nanocząstkami. Warunki skażenia dobrano tak, aby w obu układach badawczych stężenie nanocząstek było takie samo. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały wyraźnie istotne zawartości srebra w rybach, różniące się pomiędzy poszczególnymi wariantami. Poziom oznaczonego srebra w przypadku ryb hodowanych w wodzie z nanocząstkami był ponad 100-krotnie niższy niż w rybach karmionych pokarmem zawierającym nanocząstki. Po oczyszczeniu przewodu pokarmowego ryb, zawartość srebra w obu wariantach zmalała do poziomu poniżej 1 mg/kg. W tym przypadku mniej srebra stwierdzono w rybach karmionych skażonym pokarmem. Oczywistym jest wniosek, że za wysoką zawartość srebra, zwłaszcza w rybach karmionych larwami zawierającymi nanocząstki, odpowiedzialna jest zawartość tych cząstek w treści pokarmowej. Nie oznacza to jednak, że takie srebro jest mniej dostępne dla innych organizmów. Tym bardziej, że nawet po usunięciu zawartości układu pokarmowego, srebro pozostaje w organizmach ryb. W przypadku hodowli ryb w wodzie zawierającej nanocząstki to wiązanie jest trwalsze i wskazuje z całą pewnością na możliwość wnikania srebra do organizmu ryb nie tylko na drodze pokarmowej.

#### Najważniejsze osiągnięcia pracy.

Wykazanie możliwości akumulacji srebra przez organizmy wodne (larwy i ryby), zależności bioakumulacji nanocząstek od czasu i stężenia oraz możliwości przenikania nanocząstek do organizmów bezpośrednio ze skażonego środowiska lub poprzez skażony pokarm, tym samym przenoszenia ich pomiędzy kolejnymi ogniwami łańcucha pokarmowego. Potwierdzono możliwość zastosowania aktywowanych neutronowo nanocząstek

w badaniach bioakumulacji. Ponad to wykazano, że zdolność larw do wydajnej bioakumulacji nanocząstek srebra wskazuje na potencjalną możliwość zastosowania tych organizmów jako bioindykatorów skażenia środowiska wodnego nanocząstkami.

**Asztemborska M., Stęborowski R., Kowalska J., Bystrzejewska-Piotrowska G. (2015)**  
**Accumulation of Aluminium by plants expose to nano- and microsized particles of  $Al_2O_3$ . INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL RESEARCH, 9(1), 109-116.**

Po wykazaniu możliwości bioakumulowania nanocząstek tlenku żelaza (II,III) przez rośliny, zaprojektowałam i przeprowadziłam doświadczenia, których celem było zbadanie bioakumulacji nanocząstek tlenku glinu. W ramach badań skupiłam się też na określeniu efektywności bioakumulacji w funkcji rozmiaru, kształtu i stężenia nanocząstek oraz rodzaju podłoża. Badania przeprowadzono na czterech gatunkach roślin: cebuli (*Allium cepa* L.), kukurydzy (*Zea mays*), rzeżusze (*Lepidium sativum*) oraz żyworódce (*Kalanchoe daigremontiana*). Hodowle dwóch pierwszych gatunków prowadzono w kulturach hydroponicznych, pozostałe na podłożu glebowym. W celu wykazania zależności biodostępności od rozmiaru cząstek, obok nanocząstek  $Al_2O_3$  (< 50 nm) zastosowano także mikrocząstki (<10nm) tego związku. Dodatkowo wybrane hodowle przeprowadzono także dla cząstek w postaci nanowłókien o średnicy 2-4 nm i długości 200-400 nm. Zastosowano stężenia cząstek w podłożu w zakresie od 0,1 do 100 g/l.

We wszystkich roślinach hodowanych na podłożu skażonym  $Al_2O_3$  zawartość glinu była istotnie wyższa w odniesieniu do prób kontrolnych. Zgodnie z założeniami, wykazano, że rozmiar cząstek jest istotnym czynnikiem determinującym bioakumulację glinu w roślinach. W każdym przypadku zawartość glinu w roślinach hodowanych na podłożu zawierającym mikrocząstki była niższa, niż w przypadku hodowli z nanocząstkami, a w wielu przypadkach nie różniła się od wartości oznaczonych dla prób kontrolnych. W zależności od gatunku i części rośliny oraz warunków hodowli, bioakumulacja nanocząstek była od 2 do nawet blisko 150 razy wyższa niż mikrocząstek. Największe różnice wykazano w przypadku *Lepidium sativum*, najmniejsze zróżnicowanie zaobserwowano w przypadku *Kalanchoe daigremontiana*. Udało się również wykazać zależność bioakumulacji od kształtu cząstek. Cząstki w postaci nanowłókien były w większości przypadków mniej wydajnie bioakumulowane niż pozostałe badane nanocząstki.

Poza rozmiarem i kształtem, bioakumulacja zależała też od stężenia cząstek w podłożu. Stężenie glinu w roślinach w większości przypadków rosło istotnie wraz z zawartością nanocząstek w podłożu, ale nie była to zależność proporcjonalna, co doskonale obrazują zmienne wartości współczynnika bioakumulacji (definiowany jako stosunek stężenia

pierwiastka w roślinie do jego stężenia w podłożu) w ramach hodowli poszczególnych gatunków. W przypadku hydroponicznych hodowli cebuli i kukurydzy, pomimo rosnącej zawartości glinu w poszczególnych częściach roślin, współczynnik akumulacji malał. Dowodzi to, że stężenie glinu w roślinie rośnie wolniej niż stężenie nanocząstek  $Al_2O_3$  w podłożu. W przypadku hodowli na podłożu glebowym, analiza wyników jest zdecydowanie bardziej złożona. Zawartość glinu w korzeniach i pędach rzeżuchy rośnie wraz ze wzrastającym stężeniem nanocząstek w podłożu, rośnie także współczynnik akumulacji. Zaproponowaliśmy w ramach publikacji wyznaczenie skorygowanego współczynnika akumulacji, zdefiniowanego jako stosunek stężenia pierwiastka w roślinie do jego stężenia w biodostępnej frakcji gleby. Wartości tak obliczonego współczynnika istotnie rosły wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek w podłożu. Wyniki te wskazują pośrednio, że akumulowane są nie tylko jony glinu, ale także nanocząstki. Z kolei zawartość glinu w korzeniach żyworódki rosła ze wzrostem stężenia nanocząstek w podłożu, ale wartość współczynnika akumulacji malała. Niezależna od stężenia nanocząstek w podłożu okazała się natomiast wartość skorygowanego współczynnika akumulacji, co wskazuje na możliwość akumulacji jonów glinu, a nie nanocząstek. W przypadku łodyg i liści żyworódki nie wykazano zależności zawartości glinu od stężenia nanocząstek.

W przypadku wszystkich badanych roślin największą zawartość glinu stwierdzono w korzeniach. Najwyższe wartości, sięgające nawet 26 g/kg suchej masy, oznaczono w przypadku kukurydzy. Poziom glinu w częściach nadziemnych tej rośliny był zdecydowanie niższy i osiągnął wartość 1,1 g/kg (przykładowe wartości podano dla najwyższego stężenia nanocząstek w podłożu). Wysoka zawartość glinu w korzeniach roślin jest z całą pewnością, przynajmniej częściowo, wynikiem adsorpcji cząstek na powierzchni korzeni. Warto też zauważyć, że współczynniki bioakumulacji wyznaczone dla części nadziemnych roślin w znakomitej większości przypadków nie przekraczały wartości 1. W przypadku roślin, które mogłyby być użyteczne w procesie fitoekstrakcji zanieczyszczeń wartość współczynnika bioakumulacji powinna być wyższa (>1).

Zgodnie z założeniami biodostępność nanocząstek była najwyższa w hodowlach hydroponicznych. W ramach prezentowanych badań sprawdzono, jaki wpływ na biodostępność glinu dla roślin ma proces mieszania. Nanocząstki mają bowiem tendencję do tworzenia większych struktur i sedymentacji, co potencjalnie ogranicza ich dostępność. Zawartość glinu w liściach asymilacyjnych i organach spichrzowych cebuli w układach mieszanych była około 3,5-krotnie wyższa niż w hodowlach, gdzie nie zastosowano mieszania roztworu (porównanie hodowli z nanocząstkami  $Al_2O_3$  w pożywce). W celu otrzymanie pełnego obrazu, przeprowadzono też równoległe hodowle, w których zastosowano rozpuszczalną sól glinu oraz mikrocząstki  $Al_2O_3$  i nie zaobserwowano wpływu

mieszania na bioakumulację glinu. Bardzo wyraźnie wskazuje to na konieczność uwzględniania właściwości fizyko-chemicznych nanocząstek podczas badania ich wpływu na środowisko. Należy jednak zwrócić uwagę, że nawet w przypadku hodowli, w których nanocząstki wyraźnie uległy sedymentacji i pozostawały na dnie naczynia, poza zasięgiem korzeni, oznaczono istotne, zdecydowanie wyższe niż w przypadku kontroli zawartości glinu w badanych roślinach.

Metodyka przedstawionych w mojej pracy badań, polegająca na oznaczeniu zawartości glinu w roślinach hodowanych na podłożu zawierającym mikro- i nanocząstki tlenku glinu umożliwiła określenie poziomu glinu pochodzącego z badanych związków, ale nie wskazała jednoznacznie, czy glin obecny jest w roślinach w postaci jonów czy też nanocząstek. Podjęto więc próbę zidentyfikowania badanych nanocząstek w roślinach za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Udało się wykazać obecność nanocząstek  $Al_2O_3$  w korzeniach rzeżuchy.

#### Najważniejsze osiągnięcia pracy.

Wykazano, że: (i) nanocząstki znajdujące się w podłożu mogą być akumulowane przez rośliny i z całą pewnością są źródłem jonów glinu dla organizmów; (ii) bioakumulacja zależy istotnie od rozmiaru cząstek i ich kształtu, im cząstki mniejsze tym ich akumulacja jest bardziej efektywna; (iii) czynnikiem wpływającym na biodostępność nanocząstek jest ich stężenie (im wyższe tym większa akumulacja), (iv) nanocząstki mogą być biodostępne nawet po sedymentacji na dnie np. zbiornika wodnego, a także w tak złożonych podłożach jak gleba; (v) bioakumulacja zależy od warunków ekspozycji i gatunku. Omawiana praca jest pierwszą publikacją kompleksowo podejmującą zagadnienie potencjalnej zdolności roślin do bioakumulacji nanocząstek  $Al_2O_3$ .

**Asztemborska M., Stęborowski R., Kowalska J., Bystrzejewska-Piotrowska G., (2015) Accumulation of platinum nanoparticles by *Sinapis alba* and *Lepidium sativum* plants. WATER, AIR AND SOIL POLLUTION, 226(4), 126.**

Kolejna praca składająca się na prezentowane osiągnięcie naukowe dotyczyła możliwości bioakumulacji przez rośliny nanocząstek platyny. Wybór nanocząstek platyny wynikał z moich wcześniejszych prac badawczych, związanych z akumulacją platyny w postaci jonowej. Tym razem badania przeprowadzono dla dwóch gatunków: gorczycy (*Sinapis alba*) i rzeżuchy (*Lepidium sativum*). Badania prowadzono w oparciu o hydroponiczną hodowlę roślin, a warianty eksperymentalne zakładały hodowlę na podłożu z nanocząstkami platyny o zmiennym stężeniu (1-100 mg/l) i z platyną w postaci rozpuszczonej soli. Umożliwiło to porównanie efektywności pobierania platyny w zależności od jej formy chemicznej.

Otrzymano wyniki, które jednoznacznie wskazały na pobieranie nanocząstek platyny przez oba badane gatunki roślin, a poziom akumulacji zwiększał się z rosnącym stężeniem nanocząstek w pożywce hodowlanej. W większości przypadków współczynnik akumulacji platyny malał wraz z rosnącym stężeniem nanocząstek. Jedynie w przypadku korzeni gorczycy współczynnik ten zmieniał się nieznacznie. Wartości współczynnika bioakumulacji platyny wyznaczone dla pędów gorczycy w każdym wariantcie badawczym osiągały wartość powyżej 1, podobne wartości wyznaczono także dla pędów rzeżuchy hodowanej na niższych stężeniach nanocząstek platyny. Zdolność do efektywnego akumulowania platyny (podanej w formie jonowej) wykazałam w innych swoich badaniach (Kowalska i wsp., 2004). Niezależnie od wariantu badawczego, najwyższe stężenia platyny oznaczono w korzeniach roślin. Zawartość platyny oznaczona w pędach *Lepidium sativum* była wyższa niż w *Sinapis alba*, a zawartość oznaczona w korzeniach - niższa. Różnice te były szczególnie wyraźne dla wyższych stosowanych stężeń nanocząstek w podłożu. Zawartość platyny w pędach rzeżuchy była około 13-krotnie niższa niż w jej korzeniach, w przypadku gorczycy była to różnica około 160-krotna (przykładowe dane dla najwyższego zastosowanego stężenia nanocząstek w podłożu). Takie wyniki wskazują na inną wydajność transportu platyny z korzeni do części nadziemnych u badanych roślin. Na taką różnicę wskazuje też procentowa dystrybucja platyny pomiędzy korzeniami i częściami nadziemnymi (wyznaczona w oparciu o masę platyny zakumulowaną w poszczególnych partiach roślin, na podstawie masy roślin i stężenia oznaczonej platyny). W przypadku rzeżuchy w częściach nadziemnych znajdowało się nawet do ~ 20% pobranej przez roślinę platyny. Platyna w gorczycy była transportowana do części nadziemnych maksymalnie w 5%. Różny mechanizm pobierania i transportu do wyższych partii roślin wykazano także w przypadku różnych form tego pierwiastka (nanocząstki i jony). Zawartość platyny w gorczycy hodowanej na podłożu z nanocząstkami była 240-krotnie niższa w przypadku liści, 32-krotnie niższa w przypadku łodyg i jedynie ~2,6-krotnie niższa w przypadku korzeni, w odniesieniu do hodowli na podłożu zawierającym jony platyny. Bardziej wydajny transport platyny do liści w przypadku jonowej formy tego pierwiastka wskazuje też jego dystrybucja w roślinie. W przypadku nanocząstek 5% platyny znajduje się w liściach, a dla hodowli z solą platyny - ponad 15%. Podobnie jak w przypadku innych badanych nanocząstek, zawartość platyny w korzeniach jest wynikiem adsorpcji cząstek na ich powierzchni.

Dla wybranego poziomu skażenia przeprowadzono też krótką, bo jedynie 48 godziną ekspozycję rzeżuchy na nanocząstki platyny. W roślinach tych wykazano również istotny poziom akumulacji tego pierwiastka. Wyniki wskazują wyraźnie, że nawet krótkookresowe narażenie roślin na kontakt z nanocząstkami platyny w podłożu może skutkować akumulacją tych cząstek przez rośliny i potencjalnym włączeniem ich do łańcucha pokarmowego.



### Najważniejsze osiągnięcia pracy.

Wykazano po raz pierwszy potencjalną zdolność roślin do bioakumulacji nanocząstek platyny. Scharakteryzowano różnice w biodystrybucji pobranych cząstek w zależności od gatunku rośliny i formy chemicznej pierwiastka.

### **Asztemborska M., Jakubiak M., Stęborowski R., Chajduk E., Bystrzejewska-Piotrowska G. (2018) Titanium Dioxide Nanoparticle Circulation in an Aquatic Ecosystem. WATER AIR AND SOIL POLLUTION 229, 208**

Wyniki badań dotyczące bioakumulacji nanocząstek srebra przez organizmy wodne skierowały moje zainteresowanie badawcze w kierunku cyrkulacji nanocząstek w ekosystemie wodnym z udziałem roślin. Do tych badań wytypowałam nanocząstki  $TiO_2$ , które będąc popularnym składnikiem kosmetyków i materiałów budowlanych, są ważnym potencjalnym czynnikiem zanieczyszczającym środowisko wodne. W ramach badań przeprowadzono eksperyment w modelowym ekosystemie wodnym składającym się z rośliny moczarki kanadyjskiej (*Elodea canadensis*) i ryby danio pręgowany (*Danio rerio*). Doświadczenie przeprowadzono w pięciu wariantach: (i) wariant kontrolny, składający się z podłoża, ryby i rośliny, hodowanych w wodzie bez dodatku nanocząstek; (ii) wariant z nanocząstkami  $TiO_2$  w wodzie (10 mg/l), w układzie było podłoże, ryby i roślina; (iii) wariant z nanocząstkami  $TiO_2$  w wodzie (10 mg/l), w układzie znajdowały się jedynie podłoże i roślina, wariant ten służył przygotowaniu skażonego materiału do kolejnych doświadczeń; (iv) w układzie znajdowało się podłoże, ryby i roślina skażona nanocząstkami, pochodząca z wariantu (iii); (v) w układzie eksperymentalnym znajdowało się podłoże skażone nanocząstkami, pochodzące z wariantu (iii) oraz roślina i ryby. Po zakończeniu ekspozycji (14 dni) oznaczono zawartość tytanu w poszczególnych elementach układu, dodatkowo zastosowano metody obrazowania (analiza rentgenowska, spektrometria mas ze wzbudzeniem laserowym LA ICP MS i mikroskopia elektronowa) do analizy rozmieszczenia tytanu w organizmach ryb.

W wyniku przeprowadzonych analiz wykazano, że zawartość tytanu we wszystkich organizmach narażonych na zanieczyszczenie nanocząstkami tlenku tytanu była istotnie wyższa niż w organizmach kontrolnych. Moczarka zakumulowała najwięcej tytanu (3,5 g/kg) w wariantcie, w którym nanocząstkami skażona była woda. W hodowli, w której w układzie było dwukrotnie więcej roślin (wariant (iii)) zawartość tytanu była dwukrotnie niższa. Po przeniesieniu skażonej rośliny do nowego układu eksperymentalnego, zawartość tytanu spadła blisko 5-krotnie. Relatywnie dużo tytanu (2 g/kg) oznaczono także w roślinach, które hodowano w układzie, w którym nanocząstkami skażone było tylko podłoże. Podobnie do

zawartości tytanu w moczarcie zmieniała się jego zawartość w rybach, choć była ona ponad 10-krotnie niższa. Najwięcej tytanu oznaczono w organizmach ryb żyjących w skażonej nanocząstkami wodzie (0,21 g/kg) oraz w przypadku wariantu ze skażonym podłożem (0,13 g/kg). Okazało się również, że w obecności w układzie skażonej rośliny, zawartość tytanu w rybach jest także istotnie wyższa niż w przypadku kontroli.

Omówione powyżej wyniki wskazują jednoznacznie, że nanocząstki tytanu są biodostępne dla organizmów niezależnie od źródła skażenia. Najbardziej niebezpieczne wydaje się być zanieczyszczenie nanocząstkami wody. Powoduje ono zwiększoną zawartość tytanu we wszystkich elementach ekosystemu. Bardzo ważne jest też, że nawet incydentalne skażenie wody nanocząstkami może nieść ze sobą długofalowe skutki. Nanocząstki zakumulowane w organizmach lub znajdujące się na dnie zbiornika mogą być nadal biodostępne i stanowić zagrożenie toksykologiczne.

W ramach prezentowanej pracy podjęłam też próbę zidentyfikowania miejsca akumulacji nanocząstek u badanych ryb. Analiza rentgenograficzna wykazała, że najwięcej tytanu znajduje się w układzie pokarmowym ryb narażonych na kontakt ze skażonymi roślinami. Podobnie jak w przypadku srebra, za zawartość tytanu w rybach odpowiada w dużym stopniu treść pokarmowa. Wyniki te potwierdziła analiza LA ICP MS. Najwyższą intensywność sygnału pochodzącego od tytanu otrzymano w części brzusznej ryb. Należy jednak zaznaczyć, że we wszystkich rybach narażonych na kontakt z nanocząstkami, niezależnie od źródła skażenia, intensywności sygnałów od tytanu były istotnie wyższe niż w kontroli. Analiza mikroskopowa potwierdziła obecność nanocząstek w tkankach układu pokarmowego, ale nanocząstki  $TiO_2$  znaleziono też w mięśniach i skrzelach ryb hodowanych w wodzie skażonej tymi cząstkami. Dokładna analiza otrzymanych wyników wskazuje, że w przypadku kontaktu ryb ze skażonym pokarmem, nanocząstki znajdują się głównie w układzie pokarmowym, ryby narażone na kontakt ze skażoną wodą mają więcej nanocząstek w innych częściach organizmu.

#### Najważniejsze osiągnięcia pracy.

Wykazano, że: (i) skażenie środowiska wodnego nanocząstkami tlenku tytanu powoduje podwyższenie zawartości tytanu we wszystkich składnikach ekosystemu; (ii) tytan przenoszony jest pomiędzy poszczególnymi ogniwami łańcucha troficznego; (iii) akumulacji ulegają całe nanocząstki tlenku tytanu, ale nie można wykluczyć akumulacji tytanu w postaci jonowej; (iv) nawet jednorazowe niekontrolowane przedostanie się nanocząstek tlenku tytanu do środowiska powoduje długoterminowe skażenie ekosystemu.

## Podsumowanie osiągnięcia naukowego

Rozwój nanotechnologii niesie ze sobą realne ryzyko zanieczyszczenia środowiska nanocząstkami. Pełna ocena związanego z tym ryzyka ekotoksykologicznego wymaga poznania oddziaływania nanocząstek na wielu poziomach: molekularnym, komórkowym, populacyjnym i środowiskowym. Jednym z elementów niezbędnych do kompletnego zobrazowania wpływu rozwoju nanotechnologii na środowisko jest zbadanie możliwości bioakumulacji nanocząstek przez organizmy, co było przedmiotem moich badań.

W ramach przeprowadzonych prac badawczych, których wyniki stanowią istotne osiągnięcie naukowe, wykazałam, że:

- nanocząstki mogą być bioakumulowane przez różne organizmy i włączane do łańcucha pokarmowego;
- biodostępność nanocząstek zależy od ich składu chemicznego, rozmiaru, kształtu i stężenia;
- w warunkach środowiskowych, pod wpływem np. substancji zawartych w roztworze glebowym lub aktywności organizmów, biodostępność nanocząstek, ich rozpuszczalność i mobilność mogą ulegać istotnym modyfikacjom;
- nanocząstki mogą być pobierane przez organizmy w niezmienionej postaci albo stanowić dodatkowe źródło jonów w środowisku;
- nawet incydentalne skażenie środowiska wodnego nanocząstkami powoduje jego długofalowe zanieczyszczenie, nanocząstki zakumulowane przez organizmy lub znajdujące się w osadach dennych mogą być nadal biodostępne;
- efektywność bioakumulacji nanocząstek przez niektóre rośliny (np. *Sinapis alba*) oraz grzybnie (*Pleurotus eryngii*) może wskazywać na potencjalną możliwość zastosowania tych gatunków w procesach remediacji środowiska skażonego nanocząstkami.

Otrzymane przeze mnie wyniki w sposób istotny poszerzają stan naszej dotychczasowej wiedzy na temat bioakumulacji nanocząstek przez organizmy i możliwości ich cyrkulacji w ekosystemie. Uzupełniają w ten sposób obraz ryzyka ekotoksykologicznego, które wciąż wzrasta na skutek rozwoju nanotechnologii. Otrzymane wyniki zwracają uwagę na istotne zagadnienie, jakim jest możliwość kumulowania nanocząstek w organizmach i ich przenikanie do kolejnych ogniw łańcucha pokarmowego. Ponadto otrzymane wyniki dają doskonałą podstawę do rozwoju metod biologicznego oczyszczania środowiska z nanocząstek wskazując na potencjał fitoremediacyjny roślin i możliwości wydajnej mykoekstrakcji.

Przeprowadzone badania nie tylko istotnie uzupełniły stan wiedzy, ale wskazały także kierunki dalszych badań. Moje plany naukowo-badawcze zakładają:

- szczegółowe zróżnicowanie bioakumulacji jonów pochodzących z nanocząstek i samych nanocząstek oraz zdefiniowanie wpływu nanocząstek na biodostępność jonów; w związku tym złożyłam wniosek NCN w konkursie OPUS 16 pt. *Wpływ nanocząstek tlenku cynku i tlenku żelaza na biodostępność i bioakumulację jonów metali (cynku i żelaza) przez rośliny*;
- poszerzenie badań biodostępności nanocząstek o sprawdzenie wpływu nanocząstek na organizmy, które takie cząstki akumulują i zbadanie mechanizmów akumulacji co może mieć istotne znaczenie przy opracowywaniu metodyki usuwania skażenia środowiska nanocząstkami na drodze fito- i mykoekstrakcji;
- sprawdzenie możliwości bioakumulacji nanocząstek przez gatunki, które znane są ze swojej zdolności do pobierania wysokich ilości jonów metali z podłoża.

W swoich dalszych badaniach chciałabym wykorzystać możliwości jakie dają techniki oparte na radioizotopach. Wyniki uzyskane dzięki rozszerzeniu dotychczasowych badań o nowe kierunki i techniki badawcze umożliwią dotarcie do szerszego grona badaczy zajmujących się tematyką nanocząstek i będą mogły być przedstawiane w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

#### Bibliografia

- Bahadar H, Maqbool F, Niaz K, Abdollahi M, 2016, Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models. *Iranian Biomedical Journal* 20(1): 1-11.
- Cheng J, Wong MH, 2002, Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biol. Fertil. Soils* 36, 72.
- Dai J., Becquer T, Rouiller JH, Reversat G, Bernhard-Reversat F, Nahmani J, Lavelle P, 2004, Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and EDTA-extractable metals in soils. *Soil Biol. Biochem.* 36, 91.
- Devliegher W., Verstraete W, 1996, *Lumbricus terrestris* in a soil cor experiment: effects of nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) on the availability of plant nutrients and heavy metals. *Soil Biol. Biochem.* 28, 489.
- Fard JK, Jafari S, Eghbal MA, 2015, Review of Molecular Mechanisms Involved in Toxicity of Nanoparticles. *Adv Pharm Bull*, 5(4), 447-454.
- Gnach A, Lipinski T, Bednarkiewicz A, Rybka J, Capobiancod JA, 2015, Upconverting nanoparticles: assessing the toxicity. *Chem. Soc. Rev.*,44, 1561.
- Hulla JE, Sahu SC, Hayes AW, 2015, Nanotechnology: History and future. *Human and Experimental Toxicology* 34(12), 1318.
- Keller AA, McFerran S, Lazareva A, Suh S, 2013, Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *J Nanopart Res* 15:1692.
- Khan I, Saeed K, Khan I, 2017, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab. J. Chem.* doi:10.1016/j.arabjc.2017.05.011.
- Kirchner C, Liedl T, Kudera S, Pellegrino T, Javier AM, Gaub HE, Stolzle S, Fertig N, Parak WJ, (2005) *Nano Letters* 5:331-338.

- Kowalska J., Asztemborska M., Bystrzejewska-Piotrowska G., 2004, Platinum uptake by mustard (*Sinapis alba* L.) and maize (*Zea mays* L.), *Nukleonika*, 49, S31.
- Kumar M, Curtis A, Hoskins C, 2018, Application of Nanoparticle Technologies in the Combat against Anti-Microbial Resistance. *Pharmaceutics* 10:11.
- Linkov I, Steevens J, Adlakha-Hutcheon G, Bennett E, Chappell M, Colvin V, Davis JM, Davis T, Elder A, Hansen SF, Hakkinen PB, Hussain SM, Karkan D, Korenstein R, Lynch I, Metcalfe c, Ramadan AB, Satterstrom FK, 2009, Emerging methods and tools for environmental risk assessment, decision-making, and policy for nanomaterials: summary of NATO Advanced Research Workshop. *J Nanopart Res* 11, 513–527.
- Łojkowski W, Świdarska-Środa A, Sobczyk J, 2016, Świat nanocząstek, PWN.
- Masarovicova E, Kralova K, 2013, Metal Nanoparticles and Plants, 2013, *Ecol Chem Eng S*.20(1): 9.
- Moore MN, 2006, Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International*, 32, 967.
- Nel A, Xia T, Madler L, Li N, 2006, Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science* 311 (5761), 622-627.
- Nguyen HL, Nguyen HN, Nguyen HH, et al, 2014, Nanoparticles: synthesis and applications in life science and environmental technology. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol* 6, 015008.
- Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J, 2005, Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *Environmental Health Perspectives* 113(7), 823
- Remedios F. Rosario V. Bastos, 2012, Environmental Nanoparticles interaction with plants: morphological, physiological and genotoxic aspects. *J Botany*, doi: 10.1155/2012/751686.
- Rieuwerts JS., Thornton I, Farago ME, Ashmore MR, 1998, Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals, *Chemical Speciation & Bioavailability*, 10:2, 61-75.
- Srivastava V, Gusain D, Sharma YC, 2015, Critical Review on the Toxicity of Some Widely Used Engineered Nanoparticles. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 54, 6209–6233
- Tolpeshta I, Sokolowa T, 2009, Aluminium Compounds in Soil Solutions and Their Migration in Podzolic Soils on Two-layered Deposits. *Eurasian Soil Sci.* 42, (1), 24.
- Tripathi DK, Singh S, Singh S, Pandey R, Singh VP, Sharma NC, Prasad SM, Dubey NK, Chauhan DK, 2017, An overview on manufactured nanoparticles in plants: Uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. *Plant Physiology and Biochemistry* 110, 2-12.
- Udovic M., Lestan D., 2007, The effect of earthworms on the fractionation and bioavailability of heavy metals before and after soil remediation. *Environ. Pollut.* 148, 663.
- Wen B, Hu X, Liu Y, Wang W, Feng M, Shan X, 2004, The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils. *Biol. Fertil. Soils* 40, 181.

#### IV. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO – BADAWCZYCH

Tematyka mojej pracy badawczej zmieniała się wraz z rozwojem naukowym, nie mniej jednak zawsze związana była z problematyką oddziaływania różnych substancji na środowisko. W ramach pracy magisterskiej i doktorskiej, które wykonywałam na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, zajmowałam się zagadnieniami dotyczącymi metodyki oznaczania zawartości platyny w materiałach roślinnych oraz badaniu biodostępności platyny dla roślin. Podejmowałam też badania skoncentrowane na identyfikacji form chemicznych platyny znajdującej w tkankach roślinnych, uczestniczyłam w podobnych pracach dotyczących talu. Badania te kontynuowałam też po obronie doktoratu. Dominującą tematyką badawczą podejmowaną przeze mnie po zakończeniu studiów doktoranckich i podjęciu pracy na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego są zagadnienia związane z interakcją nanocząstki – organizmy – środowisko. Poza głównym nurtem badań, stanowiących opisane powyżej osiągnięcie naukowe i dotyczących bioakumulacji nanocząstek, podejmowałam także badania w kontekście toksykologii i identyfikacji form bioakumulacji jonów/nanocząstek przez rośliny. Wyniki moich prac, poza siedmioma publikacjami stanowiącymi omówione powyżej osiągnięcie naukowe, opisane zostały w 13 publikacjach naukowych (6 opublikowanych przed doktoratem i 7 po ukończeniu studiów doktoranckich).

#### Osiągnięcia naukowo-badawcze przed doktoratem

##### ➤ **Metodyka oznaczania platyny w materiale roślinnym**

- [1]. J. Kowalska, S. Huszał, M.G. Sawicki, M. Asztemborska, E. Stryjewska, E. Szalacha, J. Golimowski, S.W. Gawroński; Voltammetric Determination of Platinum in Plant Material, ELECTROANALYSIS 2004, 16(15), 1266
- [2]. J. Kowalska, M. Asztemborska, B. Godlewska-Żyłkiewicz, J. Golimowski, Systematic Errors in the Determination of Trace Metals, Part II. Memory effects of quartz vessels used for sample preparation in the determination of ultratrace levels of platinum; MICROCHIMICA ACTA, 2004, 150, 55
- [3]. J. Kowalska, M. Asztemborska, I. Miśkiewicz, E. Stryjewska, B. Krasnodębska-Ostręga, J. Golimowski; Preparation of control material for platinum determination in plant samples, ANALYTICAL CHEMISTRY (Warsaw), 2006, 51, 489

Tematyka naukowa pierwszych prowadzonych przeze mnie badań dotyczyła metodyki oznaczania platyny metodami elektrochemicznymi. Zainteresowanie tym zagadnieniem wynikało z potrzeby opracowania metod o niskich granicach oznaczalności platyny w związku z rosnącym skażeniem środowiska tym metalem szlachetnym, wynikającym

z powszechnego stosowania w katalizatorach samochodowych (Elmers, 1997). W ramach pracy naukowej uczestniczyłam w zoptymalizowaniu warunków elektrochemicznego oznaczania platyny i zastosowaniu tej techniki do analizy zawartości tego pierwiastka w roślinach. Była to pierwsza praca ilustrująca możliwości proponowanej metodyki do oznaczania platyny w próbkach o relatywnie niskiej zawartości tego pierwiastka [1].

W trakcie badań zauważono, że stosowane w ramach procedury analitycznej tygłe kwarcowe wymagają szczególnej uwagi ze względu na sorpcję jonów platyny na ich powierzchni, skutkującą systematycznymi dodatnimi błędami analizy. Problem ten został przedstawiony w kolejnej publikacji [2]. Wnioski końcowe z tej pracy wskazują na konieczność każdorazowego stosowania nowych naczyń, mytych wcześniej gorącym kwasem azotowym. Ostatnie badania dotyczyły zapewnienia jakości analizy i wytworzenia kontrolnego materiału przeznaczonego do walidacji procedur oznaczania platyny w próbach roślinnych [3].

Uczestnicząc w pracach związanych z metodyką oznaczania platyny nabyłam doświadczenie w pracy z materiałami pochodzenia środowiskowego i umiejętności, które okazały się niezwykle przydatne w badaniach bioakumulacji nanocząstek, które są wymagającym przedmiotem analizy.

#### ➤ **Bioakumulacja platyny przez rośliny i grzyby**

[4]. J. Kowalska, M. Asztemborska, G. Bystrzejewska-Piotrowska; Platinum uptake by mustard (*Sinapis alba* L.) and maize (*Zea mays* L.), NUKLEONIKA 2004, 49, S31

[5]. M. Hawieńczyk, G. Bystrzejewska-Piotrowska, J. Kowalska, M. Asztemborska; Platinum bioaccumulation by mustard plants (*Sinapis alba* L.), NUKLEONIKA, 2005, 50, S59

[6]. P.Ł. Urban, M.A. Bazała, M. Asztemborska, J.L.Manjon, J. Kowalska, G. Bystrzejewska-Piotrowska, D. Pianka, R. Stęborowski, R.T. Kurhan; Preliminary study of platinum accumulation in the fruitbodies of a model fungal species: king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*), NUKLEONIKA, 2005, 50, 63

Tematyką bioakumulacji w kontekście bioindykacji, fitoremediacji i ekotoksykologii zainteresowałam się jeszcze przed obroną doktoratu, czego wynikiem są trzy kolejne publikacje. Prace te dotyczą możliwości bioakumulowania platyny przez różne organizmy (rośliny i grzyby) w funkcji czasu, stężenia i warunków hodowli. W ramach wymienionych publikacji ([4], [5]) wykazano, że gorczyca (*Sinapis alba*) i kukurydza (*Zea mays*) pobierają efektywnie platynę z podłoża (hodowle hydroponiczne), a zawartość tego metalu w roślinach zależna jest od gatunku (wyższe zawartości platyny oznaczono w gorczycy) i części rośliny (stężenie platyny w korzeniach jest 2-3 krotnie wyższe niż w liściach). Wpływ na pobieranie platyny i jej dystrybucję do poszczególnych części ma stężenie tego pierwiastka w podłożu oraz czas hodowli - im wyższe stężenie platyny w pożywce i dłuższy czas hodowli, tym

większy procent zakumulowanego pierwiastka jest transportowany do wyższych partii rośliny. Wykazano też tolerancję obu przebadanych gatunków względem platyny. Przeprowadzone badania wskazują, że zarówno gorczyca jak i kukurydza mogą pobierać platynę z podłoża i włączać ją do łańcucha pokarmowego; z drugiej strony mogą być rozważane jako przydatne w procesie fitoremediacji środowiska skażonego tym metalem.

Poza roślinami, możliwość bioakumulacji platyny zbadano także w przypadku grzybów gatunku *Pleurotus eryngii* [6]. Wykazano, że chociaż grzyby te wydajnie akumulują np. radionuklidy (Baeza i wsp., 2000, Manjon i wsp., 2004), akumulacja platyny jest ograniczona. Istotne zawartości tego metalu w trzonach i kapeluszach oznaczono jedynie w przypadku prób pochodzących z hodowli o najwyższych zastosowanych stężeniach platyny w podłożu (~1mg/kg suchej masy). Badany gatunek nie jest dobrym organizmem do mykoekstrakcji platyny z podłoża.

### Osiągnięcia naukowo-badawcze po obronie doktoratu

#### ➤ **Oznaczanie tributyllocyny w wodzie**

Po obronie doktoratu odbyłam roczny staż podoktorski w Rządowym Instytucie Badania Materiałów i Testowania (BAM) w Berlinie, gdzie tematem mojej pracy naukowej było opracowanie metody oznaczania tributyllocyny w wodzie. Tributyllocyna jest związkami stosowanym m.in. w farbach, którymi maluje się kadłuby statków i jest jednym z poważniejszych czynników skażających wodę morską. Zgodnie z Dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie norm jakości środowiska w dziedzinie polityki wodnej z roku 2006, dopuszczalna zawartość tego związku nie powinna przekraczać 0,2ng/l. W wyniku przeprowadzonych badań zaproponowałam procedurę opartą o nowoczesne techniki zatężania i chromatografię gazową, dzięki której można analizować tributyllocynę na poziomie 0,07 ng/l. Wyniki mojej pracy zaprezentowano w postaci posteru na konferencji naukowej (Asztemborska M., Piechotta C., Sommerfeld T., Win T., Nehls I., Determination of tributyltin at sub-ng/l level in water samples – development of a method as a response to environmental quality standards for priority substances in surface waters established by European Union. 4th International Conference on Trace Element Speciation in Biomedical, Nutritional and Environmental Sciences (poster), Monachium, Niemcy, 2008).

#### ➤ **Specjacja metali w roślinach**

[7]. Krasnodębska-Ostręga B, Asztemborska M, Golimowski J, Strusińska K, Determination of thallium forms in plant extracts by anion exchange chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection (IC-ICP-MS). J. ANAL. AT. SPECTROM., 2008, 23, 1632-1635



[8]. Kowalska J., Kinska K., Biesaga M., Asztemborska M., Application of selective extraction and reverse phase chromatography with three detectors - PAD, FLD and ESI MS for characterization of platinum metabolites and identification of phytochelatins in *Sinapis alba* L. tissues., MICROCHEMICAL JOURNAL, 2017, 132, 198-204

Jednym z zagadnień będących w obszarze moich zainteresowań badawczych jest analiza specjacyjna metali w roślinach, której celem jest określenie form chemicznych danych pierwiastków w komórkach roślinnych i poznanie mechanizmów ich akumulacji.

Pierwsza z prac poświęconych tej tematyce dotyczyła specjacji talu [7]. Tal jest pierwiastkiem toksycznym, jego wysokie stężenie wykazano m.in. w glebie i roślinności pochodzącej z zanieczyszczonych rejonów na południu Polski (Dmowski, 1997, Krasnodębska-Ostręga i wsp., 2005, Dmowski i Bindaruk, 2002). Celem prezentowanej pracy było sprawdzenie możliwości wykorzystania gorczycy (*Sinapis alba*) i mchu rokitnika pospolitego (*Entodon schreberi*) do oczyszczania środowiska skażonego talem. Gorczycę hodowano w warunkach hydroponicznych na podłożu skażonym talem (500 µg/l), a mech zanurzano w ściekach poflotacyjnych charakteryzujących się wysoką zawartością talu (10 µg/l). W roślinach oznaczono całkowitą zawartość talu oraz przeprowadzono analizę chromatograficzną ekstraktów, aby określić stopień utlenienia talu (Tl(I) lub Tl(III)), który jest istotnym czynnikiem determinującym jego toksyczność. Badania wykazały, że gorczyca efektywnie akumuluje tal. Blisko 80% talu pobranego z podłoża znajduje się w częściach nadziemnych rośliny, współczynnik bioakumulacji osiągnął wartość 400 w przypadku liści. U większości roślin nie zaobserwowano toksycznego wpływu talu. Świadczy to o tolerancji gorczycy na ten pierwiastek. Analiza form chemicznych talu w ekstraktach badanych roślin wykazała obecność trzech głównych frakcji. Wykazano, że dominującą formą tego pierwiastka w roślinach jest Tl(I). Jest to zgodne z danymi literaturowymi (Nolan i wsp., 2004). W pracy zasugerowano także obecność talu w formie niejonowej lub Tl(III) w postaci kompleksów. Otrzymane wyniki wskazują, że różnorodność związków talu w liściach jest większa.

Zawartość talu we mchu była wielokrotnie niższa (<5µg/g), niż jego bioakumulacja w gorczycy. Wynika to m.in. z metodyki przeprowadzonych eksperymentów. Nie mniej jednak stężenie talu w roślinie było blisko 500-krotnie wyższe niż w ściekach. W przypadku mchu występuje silna adsorpcja talu. Wskazuje to na potencjalną przydatność tego gatunku do oczyszczania wód skażonych talem.

Druga praca z obszaru analizy specjacyjnej metali w roślinach [8] oparta została częściowo na wynikach otrzymanych w trakcie studiów doktoranckich, w których wykazałam zdolność gorczycy do efektywnej bioakumulacji platyny. Celem podjętych badań było określenie związków, w jakich platyna występuje w gorczycy (*Sinapis alba*), ze szczególnym naciskiem

na identyfikację fitochelatyn. Chelatowanie metali przez fitochelatyny zostało wykazane w przypadku m.in. kadmu (Bianucci i wsp., 2012, Poleć-Pawlak i wsp., 2005) i cynku (Tsuji i wsp., 2002). W moich badaniach wykorzystano szereg metod, w tym selektywną ekstrakcję i chromatografię z różnymi technikami detekcji do charakterystyki związków, jakie platyna tworzy w roślinach. Rośliny do badań hodowano w warunkach hydroponicznych, na pożywce wzbogaconej platyną w postaci jonowej (50 i 500 µg/l). Zróżnicowano także czas ekspozycji (cały czas trwania eksperymentu lub skażeni podłoża w ostatnim tygodniu hodowli). Przeprowadzone badania potwierdziły wydajną bioakumulację platyny przez gorczycę, zależną od stężenia metalu w podłożu. Zawartość platyny w liściach roślin była porównywalna dla obu wariantów czasu skażenia, natomiast korzenie roślin narażonych na kontakt z jonami platyny przez cały czas hodowli zawierały prawie czterokrotnie więcej tego metalu niż korzenie roślin hodowanych na zawierającym platynę podłożu przez ostatnie 7 dni wzrostu. Czas kontaktu rośliny z jonami platyny wpływał też na jej zawartość w poszczególnych frakcjach otrzymanych w wyniku ekstrakcji. W przypadku krótkiej ekspozycji roślin na jony platyny, około 50% tego pierwiastka w liściach i 25% w korzeniach znajdowało się we frakcji rozpuszczalnej w wodzie. Znaczące ilości platyny oznaczono też we frakcji zawierającej hydrofobowe kompleksy białkowe i nierozpuszczalne w wodzie komplety z polisacharydami. W roślinach hodowanych na podłożu zawierającym platynę przez cały czas wzrostu, wydajności ekstrakcji wszystkimi stosowanymi ekstrahentami były niższe, w przypadku ekstrakcji wodnej wynosiły około 30% w liściach i 10% w korzeniach. Wskazuje to na silniejsze związanie jonów w komórkach. Stwierdzono też, że w liściach tych roślin nie tworzą się nierozpuszczalne w wodzie kompleksy platyny z polisacharydami. Zawartość platyny w poszczególnych frakcjach nie zależała natomiast od jej stężenia w podłożu. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że wydłużenie czasu ekspozycji roślin na jony platyny zmienia istotnie ich sposób związania w komórce. Istotnym osiągnięciem omawianych badań jest też wykazanie po raz pierwszy obecności w ekstraktach liści gorczycy fitochelatyn o niskich masach cząsteczkowych.

#### ➤ **Toksyczność nanocząstek**

[9]. Książek M., Asztemborska M., Stęborowski R., Bystrzejewska-Piotrowska G., 2015, Toxic Effect of Silver and Platinum Nanoparticles Toward the Freshwater Microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. BULL ENVIRON CONTAM TOXICOL, 64(5), 554-558.

Jednym z interesujących mnie zagadnień jest oddziaływanie nanocząstek na organizmy. Przeprowadzono badanie toksyczności nanocząstek srebra i platyny względem glonów *Pseudokirchneriella subcapitata*. Zastosowano test toksyczności Algaltoxkit, opierający się na pomiarze gęstości optycznej oraz dodatkowo zaproponowano możliwość wykorzystania

zmian zawartości chlorofilu do oceny wpływu nanocząstek na glony. Pierwszy etap badań polegał na potwierdzeniu, że badane nanocząstki nie ulegają w warunkach eksperymentu rozpuszczeniu, a obserwowane efekty wywołane są nanocząstkami, a nie jonami. Udział jonów w toksyczności nanocząstek był postulowany w literaturze, jako jeden z mechanizmów ich biobójczej aktywności. Wykazano także, że część cząstek obecna jest w postaci aglomeratów o rozmiarze sięgającym nawet 1000 nm, ale zdecydowana większość ma rozmiar zgodny z deklaracją producenta (< 50 nm Pt, < 100 nm Ag). Przeprowadzone badania wykazały, że testowane nanocząstki wykazują działanie hamujące wzrost glonów, przy czym efekt jest silniejszy w przypadku nanocząstek srebra. Stężenie wywołujące 100% zahamowanie wzrostu glonów (EC100) w przypadku srebra wynosi 5 mg/l, a platyny – 22 mg/l. Podobne wyniki otrzymano stosując jako wskaźnik aktywności glonów zawartość chlorofilu. Jest to pierwsza praca określająca toksyczność nanocząstek platyny względem glonów *Pseudokirchneriella subcapitata*.

#### ➤ **Wpływ nanocząstek na bioakumulację jonów**

[10]. Asztemborska M., Jakubiak M., Rykaczewska M., Bembenek M., Steborowski R., Bystrzejewska-Piotrowska G., 2016, Mycoextraction of radiolabeled cesium and strontium by *Pleurotus eryngii* mycelia in the presence of alumina nanoparticles: Sorption and accumulation studies, JOURNAL OF ENVIRONMENTAL RADIOACTIVITY, 164, 190-196.

[11]. Asztemborska M., Bembenek M., Jakubiak M., Stęborowski R., Bystrzejewska-Piotrowska G., 2018, The effect of nanoparticles with sorption capacity on the bioaccumulation of divalent ions by aquatic plants. INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL RESEARCH, 12(2), 245-253.

Jedną ze szczególnych cech nanocząstek są ich właściwości sorpcyjne (Engates i Shipley, 2011; Grover i wsp., 2012; Pyrzyńska i Bystrzejewski, 2010). Zjawisko to wykorzystuje się m.in. do oczyszczania wody ze szkodliwych składników tj. jony metali, radionuklidy, ale również wirusy i bakterie (Savage i Diallo, 2005; Ngomsik i wsp., 2005; Xu, 2010). Najlepsze właściwości sorpcyjne wykazują nanocząstki tlenków metali (Hua i wsp., 2012). Sorpcja jonów metali przez nanocząstki może być też jednym z mechanizmów oddziaływania cząstek na środowisko. Sorbując jony nanocząstki mogą zmniejszać ich biodostępność albo, wręcz przeciwnie, być swoistym transporterem jonów do komórki. Ograniczenie biodostępności jest zjawiskiem korzystnym w przypadku jonów i substancji toksycznych, ale w przypadku mikro- i makroelementów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmów ograniczenie ich pobierania będzie miało negatywne skutki.

Celem kolejnych moich badań było sprawdzenie, czy nanocząstki wpływają na akumulację jonów. Pierwsza praca [10] oparta była na wynikach badań dotyczących mykoekstrakcji nanocząstek tlenku glinu. Wiedząc, że grzybnia *P. eryngii* efektywnie akumuluje nanocząstki tlenku glinu, do układu wprowadziliśmy jony cezu i strontu. Jony tych metali do badań zostały wybrane dlatego, że radionuklidy tych pierwiastków emitowane do środowiska w wyniku awarii elektrowni jądrowych i prób nuklearnych, są jednymi z bardziej niebezpiecznych izotopów. Na wstępie nie wykazano toksycznego wpływu stosowanych radioizotopów i nanocząstek na grzybnie. Pierwszy etap właściwych badań zakładał sprawdzenie wydajności sorpcji jonów cezu i strontu przez nanocząstki. Wykazano, że cez jest sorbowany przez tlenek glinu w niewielkim stopniu, wydajność procesu zarówno w środowisku wodnym jak i w pożywce wzrostowej grzybni, nie przekraczała 20% dla najwyższego zastosowanego stężenia nanocząstek (1000 mg/l). W przypadku strontu sorpcję obserwowano też tylko w przypadku najwyższych stosowanych stężeń nanocząstek (100 i 1000mg/l), ale wydajność procesu wynosiła około 40%. Okazało się, że nanocząstki w niewielkim stopniu wpływają na bioakumulację strontu i cezu przez grzybnię, która sama akumuluje w granicach 30% tych pierwiastków z pożywki. Zawartość cezu i strontu w grzybni pozostaje na takim samym poziomie niezależnie od obecności nanocząstek. Wyniki te wykazują, że procesy sorpcji cezu i strontu przez nanocząstki, mykoekstrakcji cezu i strontu przez grzybnię oraz mykoekstrakcji nanocząstek przez grzybnię zachodzą równolegle, nie wpływając na siebie istotnie. W trakcie badań uwzględniono także możliwość zastosowania suchej grzybni do mykoekstrakcji jonów cezu i strontu w obecności nanocząstek. Dokładna interpretacja wyników ponownie wskazuje na brak wpływu nanocząstek na wydajność sorpcji jonów przez suchą grzybnię, a obserwowana wydajność jest sumą wydajności niezależnych procesów.

Badania przedstawione w drugiej publikacji [11] oparte zostały o nanocząstki tlenku cynku i ich wpływ na bioakumulację jonów cynku (jako niezbędnego do funkcjonowania organizmów mikroelementu) oraz strontu (jako potencjalnie szkodliwego radionuklidu) przez rośliny wodne: salwinię pływającą (*Salvinia natans*) i moczarkę kanadyjską (*Elodea canadensis*). Prawidłowe przeprowadzenie badań, zwłaszcza w przypadku cynku, możliwe było dzięki zastosowaniu metody znaczników izotopowych, która pozwoliła na rozróżnienie jonów dodanych do pożywki i jonów pochodzących z nanocząstek. Podczas pierwszego etapu badań sprawdzono możliwość sorpcji jonów cynku i strontu przez cztery rodzaje nanocząstek: tlenku tytanu 25 nm i 100 nm oraz tlenku cynku 50 nm i 100 nm. Nanocząstki te wybrano na podstawie ich potencjalnych właściwości sorpcyjnych oraz dlatego, że jako popularne składniki kosmetyków, trafiają bezpośrednio do środowiska wodnego.

Wydajność sorpcji zależała istotnie od stężenia nanocząstek (0,01 – 8 g/l) i w przypadku strontu osiągnęła wartość blisko 50% dla nanocząstek tlenku cynku i tlenku tytanu 100 nm.

W przypadku najmniejszych nanocząstek tlenku tytanu wydajność ta nie przekroczyła 10%. Również sorpcja jonów cynku była najniższa na tych nanocząstkach (< 10%). Tlenek tytanu 100 nm sorbował do 40% cynku, ale największą wydajność zaobserwowano w przypadku nanocząstek tlenku cynku – blisko 90%, niezależnie od rozmiaru cząstek. Sorpcja jest złożonym procesem i podlega wpływom wielu czynników. W ramach moich badań wykazałam wpływ temperatury na wydajność sorpcji cynku, w przypadku strontu wpływ ten stwierdzono jedynie dla nanocząstek tlenku tytanu 25 nm, które w niższych temperaturach wykazywały bardzo niską wydajność procesu. Parametrem, który nie wpływał na efektywność sorpcji jest czas prowadzenia procesu (0-24h), maksymalną wydajność otrzymano bezpośrednio po zmieszaniu nanocząstek z roztworem cynku lub strontu. Największe różnice wywołane były zmianą pH (2-10). Dla większości nanocząstek i jonów wzrost pH skutkował wzrostem wydajności sorpcji. Jedynie w przypadku pH >8 wydajność sorpcji jonów strontu przez nanocząstki tlenku cynku istotnie malała. Odpowiedzialne za to są właściwości chemiczne jonów oraz wpływ pH na właściwości samego sorbenta. Przy niskich wartościach pH następować może rozpuszczanie się nanocząstek i pojawienie się ładunku dodatniego na powierzchni sorbenta ograniczającego sorpcję. W warunkach wysokiego pH zachodzić mogą np. reakcje jonów wodorotlenkowych z uwodnionymi tlenkami metali (Sheela i wsp., 2012). Biorąc pod uwagę, że w środowisku, również wodnym, obecna jest materia organiczna, w pracy sprawdzono też jak na sorpcję wpływają kwasy humusowe i wykazano, że powodują one wzrost sorpcji strontu na nanocząstkach tlenku tytanu 25 nm oraz cynku w przypadku nanocząstek tlenku tytanu 25 i 100 nm. Wyniki te wykazały po raz kolejny, że procesy z udziałem nanocząstek bardzo mocno zależą od rodzaju i rozmiaru cząstek. Ostatnim etapem badań było sprawdzenie, czy nanocząstki wpływają istotnie na bioakumulację badanych jonów przez rośliny wodne. Badania przeprowadzono dla dwóch stężeń nanocząstek: 0,1 i 1 g/l dobranych tak, aby pierwsze zaproponowane stężenie nie było wystarczające do efektywnej sorpcji jonów, zarówno cynku jak strontu, a drugie przeciwnie, zapewniało wydajną sorpcję. Otrzymane wyniki wskazały na możliwość występowania różnych efektów, zależnie od stężenia i rodzaju cząstki, rodzaju jonu i gatunku rośliny. Bioakumulacja jonów strontu przez moczarkę była obniżona w obecności nanocząstek tlenku cynku, a w przypadku wyższych stężeń – także nanocząstek tlenku tytanu 100 nm. Nanocząstki tlenku cynku obniżały też znacząco bioakumulację jonów cynku przez moczarkę. Nanocząstki tlenku tytanu 100 nm nie wpływały na dostępność i akumulację tych jonów, negatywny efekt wywoływały natomiast nanocząstki tlenku tytanu 25nm. Inne zależności zaobserwowano dla salwinii. Nanocząstki w niższym badanym stężeniu nie wpływały na bioakumulację strontu, w wyższym stężeniu powodowały obniżenie poziomu pobranego przez rośliny strontu, a największy efekt wywołały nanocząstki tlenku tytanu 25 nm. Z kolei akumulacja cynku przez salwinię nie zmieniała się w obecności nanocząstek

tlenku tytanu, ale istotnie rosła w obecności nanocząstek tlenku cynku. Zależność ta występowała jedynie dla niższych stężeń nanocząstek, przy wyższych stężeniach nanocząstki w żaden istotny sposób nie wpływały na akumulację cynku.

Otrzymane wyniki wskazują, że nanocząstki w środowisku mogą oddziaływać na organizmy w różnorodny sposób. Jest to pierwsza praca, która dokumentuje różnorodność możliwych wpływów cząstek na dostępność jonów dla roślin wodnych. Z całą pewnością nie wszystkie obserwowane zależności da się wytłumaczyć sorpcją jonów przez nanocząstki, ale bez wątplenia jest to jeden z istotnych czynników warunkujących mechanizmy interakcji nanocząstek ze środowiskiem.

➤ **Określenie form akumulacji nanocząstek**

[12]. Jimenez-Lamana J., Wojcieszek J., Jakubiak, M., Asztemborska M., Szpunar J. Single particle ICP-MS characterization of platinum nanoparticles uptake and bioaccumulation by *Lepidium sativum* and *Sinapis alba* plants. JOURNAL OF ANALYTICAL ATOMIC SPECTROMETRY, 2016, 31(11), 2321-2329

[13]. Wojcieszek J., Jimenez-Lamana J., Bierla K., Asztemborska M., Ruzik L., Jarosz M., Szpunar J., 2019, Elucidation of the fate of zinc in model plants using single particle ICP-MS and ESI tandem MS. JOURNAL OF ANALYTICAL ATOMIC SPECTROMETRY, 34, 683-693.

W ramach osiągnięcia naukowego wykazałam zdolność roślin do bioakumulacji nanocząstek. Na podstawie otrzymanych wyników postawione zostało pytanie czy nanocząstki akumulowane są w niezmienionej postaci czy akumulacji ulegają jony uwolnione z ich struktury? Udzielenie odpowiedzi na tak postawione pytanie wymagało precyzyjnie zaplanowanych badań analitycznych i pokonania zasadniczej trudności, jaką jest identyfikacja i analiza ilościowa nanocząstek w materiale biologicznym. W pierwszej z wymienionych publikacji [12] badania przeprowadzono pod kątem charakterystyki akumulacji nanocząstek platyny przez dwa gatunki roślin, w przypadku których stwierdzono wcześniej zdolność do akumulacji tych cząstek (gorczyca biała (*Sinapis alba*) i rzeżusze (*Lepidium sativum*)). Jednym z największych wyzwań analizy zawartości nanocząstek w komórkach jest odpowiednie przygotowanie próbek, które umożliwi ilościowe i jakościowe przeprowadzenie cząstek do roztworu. W pracy zaproponowano metodę ekstrakcji enzymatycznej z wykorzystaniem macerozemu, w którego skład wchodzi pektynaza, celulaza i hemicelulaza. Przeprowadzone badania potwierdziły, że zawartość platyny w roślinach hodowanych hydroponicznie na podłożu zawierającym nanocząstki tego metalu (5 µg/l) jest istotnie większa niż w przypadku roślin kontrolnych. Najważniejszym wynikiem prac było wykazanie, że platyna znajdująca się we wszystkich częściach roślin jest w nich

obecna w postaci nanocząstek. Liczba nanocząstek platyny (w przeliczeniu na gram suchej masy) w liściach roślin wyniosła  $2,8 \times 10^7$  i  $2,2 \times 10^8$  odpowiednio w rzeżusze i gorczycy. W korzeniach obu gatunków ilość ta była odpowiednio o 100 i 1000 razy wyższa ( $4,1 \times 10^9$  i  $2,5 \times 10^{11}$ ). Wysoka zawartość nanocząstek platyny w korzeniach spowodowana jest niewątpliwie ich adsorpcją na powierzchni, ale wykazanie obecności nanocząstek w liściach w sposób jednoznaczny wskazuje na możliwość transportu cząstek do części nadziemnych roślin. Możliwość taka została wcześniej wykazana np. dla nanocząstek złota (Dan i wsp., 2015) i srebra (Bao i wsp., 2016), ale jest to pierwsza praca wykazująca taką możliwość w przypadku nanocząstek platyny. Poza stwierdzeniem obecności nanocząstek w roślinach, wykonano także histogramy ilustrujące rozmiar cząstek. Wykazano, że część nanocząstek w materiale roślinnym jest w rozmiarze zbliżonym do cząstek w roztworach wyjściowych (60nm), ale znaczną frakcję stanowią też cząstki o większej średnicy (nawet powyżej 100 nm). Dowodzi to występowania procesu agregacji nanocząstek. W badanym materiale roślinnym nie stwierdzono obecności platyny w formie jonowej.

Zupełnie odmienne wyniki otrzymano w badaniach akumulacji cynku w formie jonów i nanocząstek, w tym wypadku przez gatunek rośliny jadalnej - sałatę (*Lactuca sativa* L.) [13]. Rośliny hodowano na podłożu hydroponicznym, następnie przeprowadzano ekstrakcje, w tym ekstrakcję enzymatyczną, i w tak otrzymanym materiale analizowano zawartość cynku metodami spektrometrii mas ze szczególnym naciskiem na identyfikację form chemicznych tego pierwiastka. Nie udało się wykazać obecności nanocząstek w żadnej z poddanych analizie prób, pomimo, iż zawartość cynku w roślinach hodowanych na podłożu zawierającym cynk, zarówno w postaci jonowej jak i nanocząstek, była istotnie wyższa niż w próbach kontrolnych. Jednocześnie nie wykazano różnic w wydajności bioakumulacji cynku pomiędzy jego formą jonową i formą nanocząstek. Wyniki te pozostają w przeciwieństwie do rezultatów otrzymanych w moich wcześniejszych pracach dla nanocząstek platyny czy też tlenku glinu. Ważnym etapem omawianych badań było wykazanie, że w warunkach eksperymentu tlenek cynku w formie stosowanych nanocząstek rozpuszcza się bardzo łatwo w podłożu. Po 10 minutach w roztworze pozostaje jedynie około 10% nanocząstek. Po rozpuszczeniu nanocząstek, cynk w postaci jonów, jest pobierany przez rośliny. W badaniach udało się zidentyfikować szereg związków, w jakich cynk znajduje się w materiale roślinnym. Najwięcej cynku (~70%) znajdowało się w postaci kompleksu z nikotianaminą.

## Bibliografia

- Baeza A, Guillén J, Paniagua JM et al. (2000) Radiocaesium and radiostrontium uptake by fruit bodies of *Pleurotus eryngii* via mycelium, soil and aerial absorption. *Appl Radiat Isot* 53:455–462
- Bao D., Oh ZG, Chen Z., 2016, Characterization of Silver Nanoparticles Internalized by Arabidopsis Plants Using Single Particle ICP-MS Analysis. *Front. Plant Sci.* 7, 1-8.
- Bianucci E., Sobrino-Plata J., Carpena-Ruiz R.O., Tordable MC., Fabra A., Hernández L.E., Castro S., 2012, Contribution of phytochelatin to cadmium tolerance in peanut plants, *Metallomics* 4, 1119–1124.
- Chojnacka K (2010) Biosorption and bioaccumulation—the prospects for practical applications. *Environ Int* 36(3): 299–307
- Dan Y., Zhang W., Xue R., Ma X., Stephan C, Shi H., 2015 Characterization of Gold Nanoparticle Uptake by Tomato Plants Using Enzymatic Extraction Followed by Single-Particle Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry Analysis. *Environ. Sci. Technol.*, 49 (5), 3007–3014.
- Dmowski K., 1997, Biomonitoring with the use of Magpie *Pica pica* feathers: heavy metal pollution in the vicinity of zinc smelters and national parks in Poland, *Acta Ornitol.*, 32, 15–23.
- Dmowski K., Badurek M., 2002, Thallium contamination of selected plants and fungi in the vicinity of the Boleslaw Zinc Smelter in Bukowno [S. Poland]. Preliminary study *Acta Biol. Cracov. Series Botanica*, 44, 57–61.
- Helmers E, 1997, Platinum emission rate of automobiles with catalytic converters *Environ. Sci. Poll. Res.*, 4, 100.
- Krasnodebska-Ostrega B., Dmowski K., Stryjewska E., Golimowski J., 2005, Determination of Thallium and Other Elements (As, Cd, Cu, Mn, Pb, Se, Sb, and Zn) in Water and Sediment Samples from the Vicinity of the Zinc-Lead Smelter in Poland. *J. Soils Sediments*, 5, 571–73.
- Manjón JL, Urban PL, Bystrzejewska-Piotrowska G (2004) A simple and quick model to study uptake and transfer of radionuclides and heavy metals from mycelium to the fruitbody of saprophytic edible fungi. *Nukleonika* 49;S1:S21–S24
- Nolan A., Schaumlöffel D., Lombi E., Ouerdane L., Łobinski R., McLaughlin M., 2004, Determination of Tl(I) and Tl(III) by IC-ICP-MS and application to Tl speciation analysis in the Tl hyperaccumulator plant *Iberis intermedia*. *J. Anal. At. Spectrom.*, 19, 757–761.
- Poleć-Pawlak K, Ruzik L, Abramski K, Ciurzyńska M, Gawrońska H, 2005, Cadmium speciation in *Arabidopsis thaliana* as a strategy to study metal accumulation system in plants, *Anal. Chim. Acta* 540 61–70.
- Sheela T, Nayaka YA, Viswanatha R, Basavanna S, Venkatesha TG (2012) Kinetics and thermodynamics studies on the adsorption of Zn (II), Cd (II) and Hg(II) from aqueous solution using zinc oxide nanoparticles. *Powder Technol* 217:163–170
- Tsuji, N. Hirayanagi, M. Okada, H. Miyasaka, K. Hirata, M.H. Zenk, K. Miyamoto, Enhancement of tolerance to heavy metals and oxidative stress in *Dunaliella tertiolecta* by Zn-induced phytochelatin synthesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293 (2002) 653–659.
- Velásquez L, Dussan J (2009) Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *J Hazard Mater* 167(1–3):713–716

24. 04. 2018

Asztemborska Monika