



TDK DOLGOZAT

Biológiai szennyezők semlegesítésének vizsgálata spektroszkópiai módszerekkel

Garami Anett

Külső konzulens: Matus Péter (EPFL)

Belső konzulens: Simon Ferenc (BME Fizika Tanszék)

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

BME

2016.

Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás	3
1. Bevezetés és motiváció	4
2. Elméleti háttér	6
2.1. Heterogén fotokatalízis	6
2.2. A titándioxid	8
2.3. Elektron spin rezonancia	9
2.4. Spinnyomjelzők, spincsapdák	11
2.5. Fluoreszcencia spektroszkópia	14
3. Módszerek, eszközök	15
3.1. Minták	15
3.1.1. A fotokatalitikus filter	15
3.1.2. Az oldatok	15
3.2. Elektron spin rezonancia	16
3.3. Fluoreszcencia spektroszkópia	16
4. Eredmények	18
4.1. ESR mérések vizes oldatokon	18
4.2. Fluoreszcencia mérések algákon	21
5. Összefoglalás	25
6. Hivatkozások	26

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Forró László professzornak, hogy dolgozhattam az EPFL-en, és Simon Ferencnek hogy a csoportjában dolgozva részesülhetek színvonalas szakmai támogatásban. Köszönöm Matus Péternek, hogy kérdéseimmel mindig fordulhattam hozzá, Horváth Endrének a mintákat és a segítséget, és Andrzej Sienkiewicznek az odaadását közös munkánk során. Köszönöm Gyüre Baláznak, hogy bevezetett a mikrohullámú mérés technikába.

1. Bevezetés és motiváció

A Föld mai népességének jelentős része nem jut megfelelő minőségű tiszta ivóvízhez, noha az létfeltételünk. Az ENSZ Közgyűlése 2010 júliusában alapvető emberi joggá nyilvánította a biztonságos és tiszta ivóvízhez való hozzáférést. Bár a hozzáférés főleg a gazdaságilag elmaradottabb országok lakói számára probléma, az eredményeket látva nem csak a gazdasági, hanem a tudományos eredmények fognak valódi kiutat mutatni ebből a roppant nyomasztó helyzetből. Minden olyan hatékony víztisztítási eljárás, mely azokon az elmaradott területeken is megoldaná az ivóvíz problémáját, ahol nincs kiépített ivóvíz- és szennyvízhálózat, jelentősen előrelépés e téren.

A fejlesztések további jelentős motivációja a fenntartható fejlődés jegyében az utóbbi évtizedek során kialakult környezetvédelmi szemléletváltás. A környezetterhelés csökkentése, a megújuló energiák használata ma már kiemelt fontosságú szempontok emberi tevékenységeink során, beleértve a szennyvízkezelést is.

A víztisztítási technológiák fejlesztését továbbá az is szükségesszerűvé tette, hogy az élővizeinkbe egyre nagyobb mennyiségben kerülnek a hagyományos biológiai, illetve fizikai-kémiai szennyvíztisztítási módszerekkel le nem bontható toxikus vegyületek (pl. peszticidek, gyógyszermaradványok, halogénezett szénhidrogének).

Az új ivóvíztisztítási módszerek közé tartoznak az úgynevezett nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (Advanced Oxidation Processes), melyek reaktív szabadgyökök képződésével valósítják meg a szennyezők degradációját. Vagy a vízben levő oldott oxigént, vagy a szennyezőket aktiválják, majd ezek reakciója vezet a szennyezők lebomlásához. A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások minden lehetséges szennyező ártalmatlanítására alkalmas módszerek: a toxikus szennyező vegyületek éppúgy lebonthatóak, mint a szennyező mikroorganizmusok (baktériumok, gombák, vírusok). Megfelelő időt biztosítva a reakciókra akár a teljes mineralizáció is megvalósítható. A folyamathoz nincs szükség környezetterhelő kémiai adalékanyagra, valamint a végtermékek is ártatlanok: víz, széndioxid, szervesetlen ionok. Ezzel mind a környezetvédelmi szempontoknak, mind a nehezen ártalmatlanítható toxikus vegyületek lebontását megkövetelő elvárásoknak is eleget tesznek.

A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások négy csoportja az oxidálószereken, a radiolízisen, a fotolízisen és a heterogén fotokatalízisen alapuló módszerek. Én egy közelmúltban fejlesztett, heterogén fotokatalízisen alapuló víztisztító filter hatékonyságának tesztelésébe kapcsolódhattam be nyári gyakorlatom során a svájci École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) laborjaiban.

A heterogén fotokatalízisre alapuló eljárások fejlesztése jelenleg két területen ütközik kihívásokba: az egyik cél a fotokatalitikus gerjeszthetőség spektrumának kiszélesítése. A kutatási terület "szent grálja" lenne, ha a fotokatalitikus gerjesztés a látható fény hosszabb hullámhosszain is hatékonyan működne, ugyanis a jelenleg alkalmazásban levő fotokatalitikus anyagok UV tartományban gerjeszthetők hatékonyan.

A másik megoldandó problémát a fotokatalitikus anyagok mérettartománya, illetve az ebből fakadó rögzítési igény jelenti, ugyanis a heterogén fotokatalízis félvezető nanorészecskék által valósul meg, ám a már elterjedt fotokatalitikus nanokompozitok jelentős hátránya, hogy a szuszpenzióval kezelt ivóvízből a tisztítás után a nanorészecskék eltávolítása igen nehézkes és kevésbé gazdaságos folyamat, ezért a másik cél a nanorészecskék rögzítése különböző felületekhez anélkül, hogy a fotokatalízis hatékonysága számottevően csökkenne. A rögzítés módjára már számos módszert fejlesztettek ki, azonban a fotoaktivitás tartóssága, vagy az anyagok mechanikai ellenállósága tekintetében nem minden igényt kielégítő megoldások születtek eddig.

Az EPFL-LPMC nanoanyagok laboratóriumában folyó kutatások célja egy olyan fotokatalitikus felület létrehozása, mely víztisztító filterként napfényel megvilágítva is hatékonyan működik. Ez nem jelenti a gerjesztés spektrumának kiszélesítését, a filter gerjeszthetősége továbbra is UV tartományba esik, de a nap UV sugárzása elegendő a patogének hatékony ártalmatlanításához. A munkám során használt minták e kutatás keretén belül készültek, alapjuk egy nemzetközi szabadalmaztatási eljárás alatt álló titándioxid alapú speciális aerogel kompozit. A dolgozatom tárgyát képező víztisztító filterből a közelmúltban elkészült es folyamatos teszteles alatt áll az első nagyméretű (30x40 cm) prototípus, amely elsőként a délafrikai innovációs fórumon lett bemutatva a nagyközönségnek. A gravitációs elven működő, nagyobb papírlapra hasonlító prototípus egy átlagos családnak szükséges (5 óra alatt 10 liter) víz tehető patogénmentessé naponta energiabefektetés nélkül, pusztán a napenergia hasznosításával.

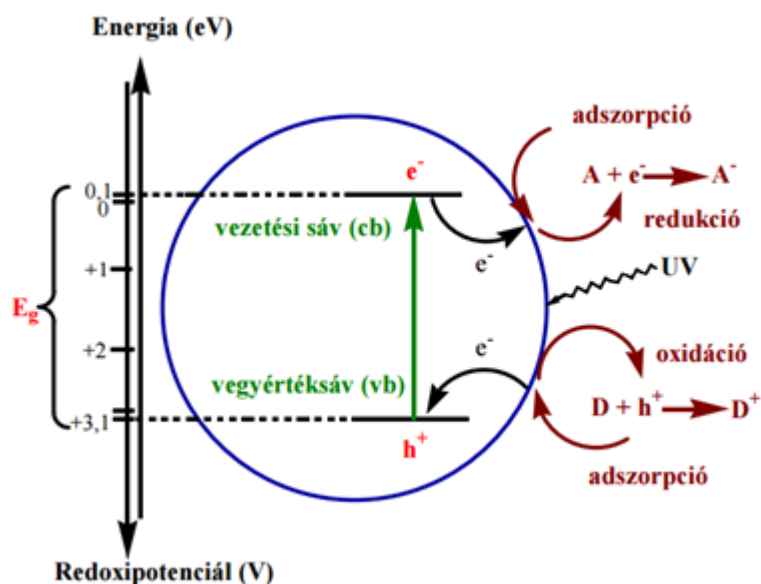
Munkám célja a fotokatalitikus filter oxidációs hatékonyságának igazolása és számszerűsítése volt egy kis méretű rendszert vizsgálva. Az UV fényel megvilágított fotokatalitikus felület jelenlétében keletkező reaktív oxigén gyököket spinnyomjelzővel való reakcióba lépésük alapján vizsgáltam elektron spin rezonancia (ESR) mérésekkel. Ezután modellszennyezőként algákat alkalmaztam, és az ESR jel alakulása és a rendszerbe juttatott algák fotospektrométerrel mért fluoreszcenciájának változása között kerestem kapcsolatot, összevetve ezzel a felület kémiai és biológiai hatékonyságát.

2. Elméleti háttér

2.1. Heterogén fotokatalízis

Egy kevésbé kiemelt tudományterület fellendülését hozta meg Fujishima és Honda [1], amikor 1972-ben fotokatalitikus félvezető segítségével megvalósított, pusztán a fény energiáját hasznosító vízbontásról publikálták eredményeiket, s ezzel új fejezet nyílt a vízisztítási eljárások történetében is.

A heterogén fotokatalízis alapja, hogy ha egy félvezetőt a vezetési sáv és a vegyérték sáv potenciáljai közti különbségnél nagyobb energiájú gerjesztés ér, akkor egy elektron (e^-) átkerül a vegyérték sávból a vezetési sávba, a helyén pedig egy pozitív töltésű lyuk (h^+) keletkezik. Ez a gerjesztett állapot töltésátmenettel járó kémiai reakciókat indíthat el.



1. ábra. A heterogén fotokatalízis folyamatának vázlatja [2]

Fénnyel való gerjesztés akkor történhet meg, ha a foton energiája eléri, vagy meghaladja a tiltott sáv szélességét ($h\nu \geq E$), ez a gerjesztési küszöb. A tiltott sáv szélessége határozza meg tehát, hogy milyen hullámhosszú fényel gerjeszthető az adott fotokatalitikus félvezető.

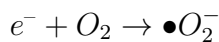
Azonban a fotokatalizátorokkal szemben támasztott elvárások ellentétes kívánalmakat jelentenek a tiltott sávra vonatkozólag. A felhasználás szempontjából ugyanis az egyik fontos elvárás, hogy a fotokatalizátor fotostabilis legyen, vagyis a gerjesztés után változatlan maradjon a félvezetőnk. Ez széles tiltott sávot kíván meg. Azonban ha a látható fény

hosszabb hullámhosszainak tartományába szeretnénk tolni a gerjesztési küszöböt, a tiltott sávnak minél keskenyebbnek kell lennie. Ez jelenti az alapvető problémát a látható fényvel gerjeszthető fotokatalizátorok fejlesztésében.

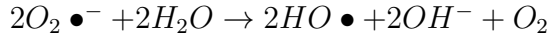
A fotonokkal gerjesztett félvezetőben kialakult elektron-lyuk párok rekombinálódhatnak, mely során a gerjesztő energia hőenergiává alakul. Ahhoz, hogy a kívánt töltésátmenettel járó kémiai reakciók végbemenjenek, a rekombináció mértékének minimalizálása szükséges, ami a felületen adszorbeált anyagok segítenek elő.

A fotokatalitikus víztisztítási eljárások a keletkező reaktív oxigén származékokkal (Reactive Oxygen Species - ROS) való reakciókon alapulnak. A szennyezők degradációja ugyan közvetlenül a lyukakkal vagy elektronokkal reagálva is végbemehet, de javarészt az oxigéngyökök játszanak szerepet. Ezek mind az elektronok, mind a lyukak által indított reakciókban keletkezhetnek.

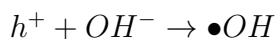
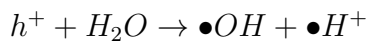
A vezetősávba lépett elektron a felületen adszorbeált oxigént redukálja, miközben szuperoxid-gyökion keletkezik:



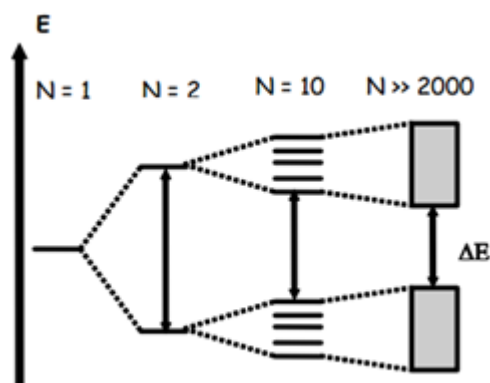
A szuperoxid-gyökionok vízzel való reakciója során hidroxilgyökök képződnek:



A lyukak vízmolekulákkal, vagy hidroxidionokkal szintén hidroxilgyökök keletkezésében vesznek részt:

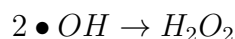
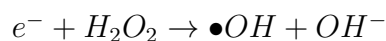
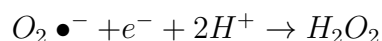


A szennyeződések ártalmatlanítása innen többlépcsős folyamat, de mint láttuk, a fotogenerált reakciók a katalizátorok felületén mennek végbe, ezért van szükség nagy felületre a hatékony eljárásokhoz, ami kis szemcsemérettel, pórusos szerkezettel érhető el. A szemcsméret csökkentésével azonban általában nő a tiltott sáv energiája is, az ún. kvantumbezártság jelensége miatt.



2. ábra. A szemcsék méretének növekedésével a tiltott sáv energiája csökken [3]

A felületen végbemenő gyökös reakciók során kis mértékben hidrogén-peroxid is keletkezik, ami szintén szerepet játszik a fertőtlenítésben:



Ugyanígy a szuper-oxid gyökionból képződő szingulett oxigén (O_2) oxidáló hatása is jelentős.

2.2. A titándioxid

A fotostabilitásra és gerjesztési küszöbre vonatkozó elvárásokra tekintettel a gyakorlatban legalkalmazhatóbb és legelterjedtebb fotokatalitikus félvezető a titándioxid (TiO_2). Aktivitását sokáig megőrzi, fotostabilis, UV fényvel jól gerjeszthető, mindemellett könnyen hozzáférhető, olcsó és nem toxikus.

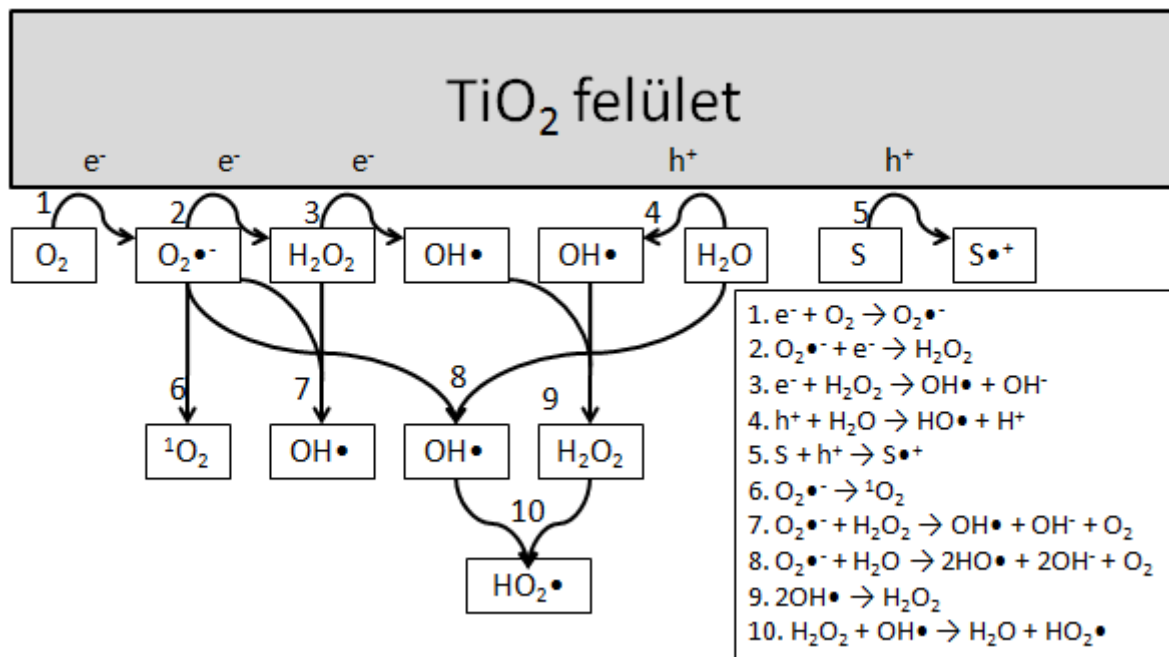
Három kristálmódosulata közül az anatázt és rutilt használják, mivel a brookit előállítására nehézkes és drága. A rutil tiltott sávjának szélessége 3.02 eV, ennek megfelelően a gerjesztési küszöbe 410 nm hullámhosszon van, vagyis némileg a látható fény tartományába esik, de a hatékony felhasználás mindkét módosulatnál UV gerjesztést igényel [4].

A fotoaktivitás növelését a nanorészecskék felületére felvitt nemesfémekkel, vagy különböző anyagokkal (pl. nitrogénnel, jódval, vassal) történő dópolással próbálják elérni. Ezekkel a módosításokkal némileg a gerjesztési spektrum is bővíthető.

A titándioxid gerjesztése nyomán végbemenő gyökös reakciók az alábbiak szerint írhatók fel:

A titándioxiddal való vízfertőtlenítésről 1985-ben jelentek meg az első publikációk. A TiO_2 módosulatainak fotokatalitikus aktivitása mára egy aktívan kutatott területté vált. A kutatásokban többnyire az Aeroxide gyártó P25 nevű TiO_2 nanokompozitját használják, melyet mi is alkalmaztunk referencia méréseinkhez. Ez a keverék 3:1 arányban tartalmazza a titándioxid anatáz és rutil módosulatait.

A titándioxid gerjesztése nyomán végbemenő gyökös reakciókat a 3. ábra szemlélteti.

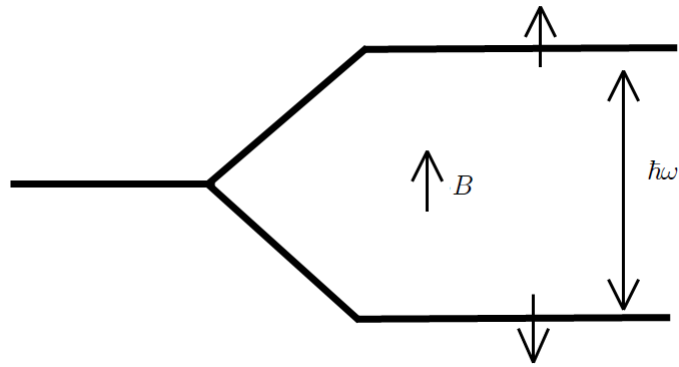


3. ábra. A gerjesztett titándioxid felületén végbemenő reakciók

Azonban a titándioxid elsődleges felhasználása nem a heterogén fotokatalízishez kapcsolódik. A mikronizált titándioxid a legelterjedtebb fehér pigment, szinte mindenhol megtalálható körülöttünk: festékekben, kozmetikumokban, és még ételeinkben is (pl. fogkrémek, joghurtok).

2.3. Elektron spin rezonancia

Az elektron spin rezonancia (ESR) spektrometria a paramágneses rezonancia jelenségén alapuló módszer. Külső mágneses tér jelenléte nélkül egy párosítatlan elektron két spinállapota degenerált (azonos energiájú). Mágneses tér jelenlétében két energianívó alakul ki, melyek a spin külső mágneses térrel parallel és antiparallel beállításának megfelelőek. Ezt nevezzük Zeeman-effektusnak. A két állapot közötti átmenet lehetséges a megfelelő energiájú foton elnyelésével.



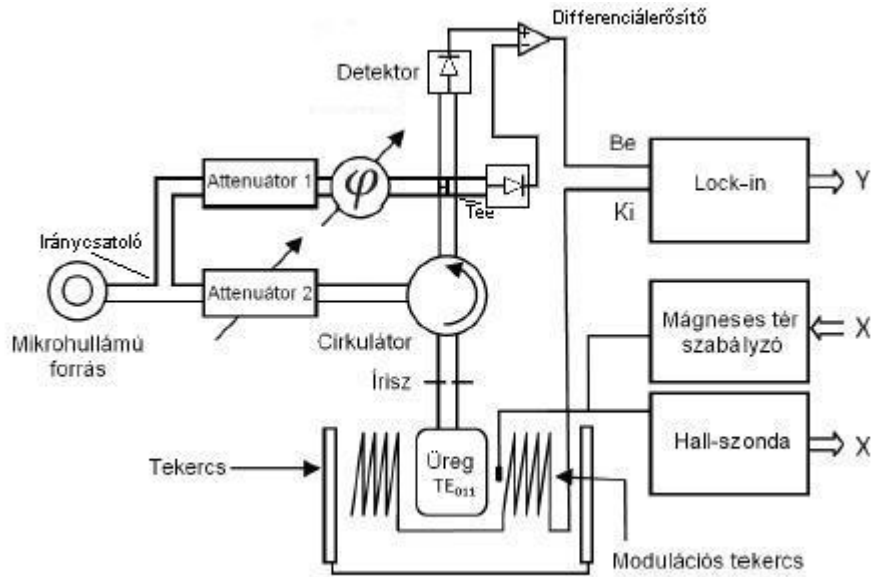
4. ábra. A Zeeman-effektus

$$\hbar\omega = \Delta E = g_e\mu_B B \quad (1)$$

ahol g_e az elektron g-faktora, $\mu_B = 9,27 \cdot 10^{-24}$ J/T a Bohr-magneton.

A mikrohullámok abszorpciójának leírására szolgáló fenomenologikus elektrodinamikai egyenletek a Bloch-egyenletek [5], melynek tárgyalása az itt bemutatott eredmények szempontjából nem szükséges.

Egy tipikus spektrométer alapvető felépítése az 5. ábrán látható.



5. ábra. Egy X sávú ESR spektrométer felépítése

Két párhuzamos mágneses teret összegzünk, a nagy mágneses tér DC terét és a modulációs tekerccs AC terét. A DC teret mérhetjük Hall-szondával, illetve a mágnesen

átfolyó áramból számítható. A Lock-in erősítő bemenete a detektorról kapott jel. Ezzel a detektor jeléből a moduláció frekvenciájú komponenst emeljük ki, tehát a mágneses tér változásából eredő jelet kapjuk meg.

A mikrohullámokat egy változtatható frekvenciájú mikrohullámú forrásból nyerjük. A mikrohullámokat kettéosztjuk egy iránycsatolóval, és az ábrán a 2-es attenuátorhoz tartozó ágon folyó hullámokat engedjük az üregre. A cirkulátornak nevezett eszköz felelős azért, hogy a forrásból kapott hullámokat az üreg felé, az üregről visszavert hullámokat pedig a detektor irányába irányítsa. A csatolóelem állításával kritikus csatolás állítható be az üregre, azaz reflexió nem tapasztalható. Ha a mágneses tér változása miatt az üregbe helyezett minta elnyelési tulajdonságai módosulnak, más mértékű reflexiót kapunk az üregről.

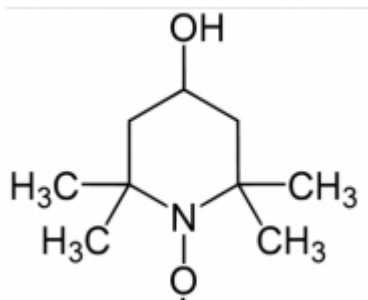
Az 1-es ágat referenciának nevezzük, egy fázistolás után összegezzük az üregről kapott mikrohullámokkal. A fázistolással elérhető, hogy a két ágon érkező mikrohullámokat azonos fázisban adjuk össze (a két ágon a mikrohullámok koherensek). A két ág összeadására egy magic Tee-nek nevezett eszköz használható. A magic tee két kimenetén a mikrohullámok ellentétes fázisban vannak, ezért a két kimeneten érkező jel összeadására egy differenciálerősítő használható. A referenciaággal érjük el, hogy a detektoron az ideális működéshez szükséges munkaponti teljesítményt kapjunk.

A lock-in elv felhasználása miatt egy ESR spektrum nem a minta abszorpcióját, hanem annak a deriváltját tartalmazza a mágneses tér függvényében.

2.4. Spinnyomjelzők, spincsapdák

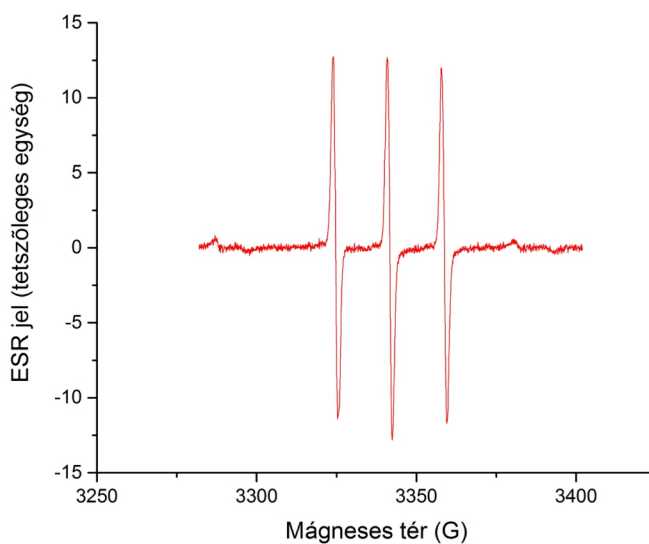
Az ESR jel tehát a mintánk párosítatlan elektronjainak függvénye. Olyan minta vizsgálható ezzel a módszerrel, amiben szabad gyökök viszonylag stabil állapotban vannak. Ugyan a gerjesztett félvezetőnk felületén is keletkeznek szabad gyökök, ezek igen nagy reakcióképességük miatt rövid élettartammal bírnak, tehát nem vizsgálhatóak módszerünkkel, ugyanis az UV gerjesztés és ESR mérés nem egyidőben történik. Ezt küszöbölik ki a különböző spinnyomjelzők és spincsapdák, más néven gyökfogók.

Méréseink során az egyik legelterjedtebb spinnyomjelzőt, a TEMPOL-t (a 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxylt) alkalmaztuk.



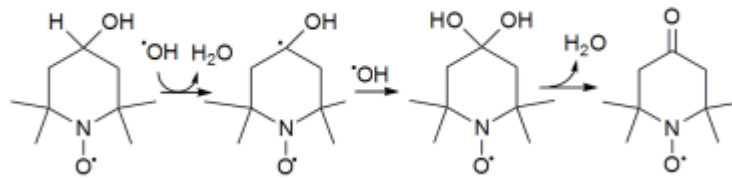
6. ábra. A TEMPOL molekula szerkezeti képlete

A TEMPOL hármass felhasadással bíró, triplet állapotnak megfelelő ESR jelet ad.



7. ábra. A TEMPOL ESR spektruma

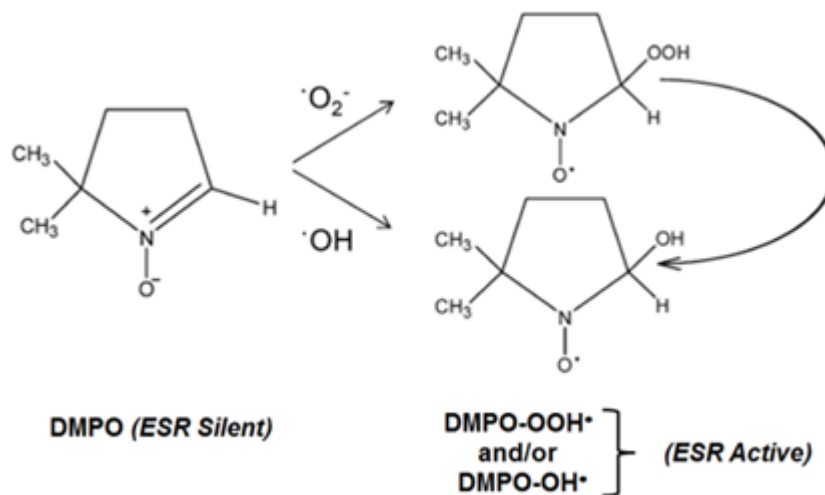
A jel intenzitásának változásából a tempol destrukciójának mértékére, vagyis közvetett módon a fotogenerált szabadgyökök mennyiségére következtethetünk. A heterogén fotokatalízis áttekintésénél ismertetett reaktív oxigén származékok (szuperoxid-gyökion, hidroxilgyök, szingulett oxigen) reakcióba lépnek TEMPOL-lal és ESR jelet nem adó végtermékekre, valamint kis mennyiségben TEMPONE-ra bontják azt, a mérésünk végére pedig mind a TEMPOL, mind a TEMPONE lebomlik ESR jelet nem adó vegyületekre.



8. ábra. A TEMPOL molekula TEMPONE-ná alakulásának folyamata [6]

Míg spin nyomjelzőket alkalmazva egy ESR aktív vegyület reaktív oxigén származékok általi degradációját, így az ESR jel csökkenését figyelhetjük meg, spincsapdákat alkalmazva éppen ellentétes folyamatokat játszathatunk le: egy ESR jelet nem adó vegyület oxigéngyökökkel reagálva ESR aktív vegyület épül fel [7].

Az egyik legelterjedtebb spincsapdát, a DMPO-t (5,5-dimetil-1-pirrolin N-oxidot) alkalmaztunk, aminek oxigénszármazékokkal való reakcióját a 9. ábra szemlélteti.



9. ábra. A DMPO és a belőle keletkező molekulák

A keletkező DMPO-OOH és DMPO-OH jelében négyes felhasadást látunk.

2.5. Fluoreszcencia spektroszkópia

Lumineszcencia során egy fényvel besugárzott anyag az elnyelt energiát kibocsátott fény formájában emittálja. A lumineszcencia időtartama szerint megkülönböztetünk fluoreszcenciát és foszforeszcenciát. Fluoreszcenciáról akkor beszélünk, ha a gerjesztés után a lumineszcencia időtartama 10^{-6} másodpercnél kevesebb ideig marad meg. Az emittálás mindig azonos, az anyagra, biológiai rendszerre jellemző hullámhosszon történik. A fluoreszcencia spektroszkópia módszereit egyre elterjedtebben használják a biofizikai, biokémiai, orvosi kutatásokban, nemcsak a tiszta fizikában és kémiában [8]. Egy adott emissziós hullámhosszon a kibocsátott fényintenzitás a következő általános formulával írható le:

$$I = kI_0\epsilon c \quad (2)$$

ahol c a minta koncentrációja, ϵ az elnyelés (besugárzás) hullámhosszán érvényes moláris abszorpciós koefficiens, I_0 a besugárzó monokromatikus fény intenzitása, k pedig a műszerre jellemző állandók és a vizsgálandó vegyület ún. kvantumhasznosítását összegző arányossági állandó. A koncentrációval való lineáris függés csak igen híg oldatokban, közelítőleg a $10^{-4} - 10^{-8} \text{ mol/dm}^3$ tartományban teljesül; ezt jelentősen meghaladó koncentrációk esetén a kalibrációs görbe visszahajlását tapasztaljuk, aminek sok esetben az önabszorpció az oka (a fluoreszkáló komponens nem ritkán képes a maga által kibocsátott hullámhosszúságú fényt elnyelni).

Itt kell megemlítenünk a photobleaching (fotofakítás, fotoelhalványítás) jelenségét is, amely során lézeres gerjesztés hatására az algák elveszítik a képességüket a fluoreszcenciára. A gerjesztéstől függően ez lehet végleges, vagy átmeneti állapot is.

3. Módszerek, eszközök

A kutatás során arra voltunk kíváncsiak, hogy az EPFL-LPMC laboratóriumában újonnan fejlesztett fotokatalitikus félvezető filter milyen mértékű fotogenerált oxidációra képes az idő függvényében. Ehhez egy 5 ml-es tégely aljára helyeztünk egy megfelelő méretű darabot a filterből, majd különböző oldatokban vizsgáltuk, hogy változó idejű lézeres UV megvilágítás hatására az oldat ESR aktivitása, illetve az algák fluoreszcenciája hogyan változik.

3.1. Minták

3.1.1. A fotokatalitikus filter

Méréseink alatt végig ugyanazt a filtert használtuk, mivel a csoport korábbi tapasztalatai alapján elég fotostabilis az ismételt méréssorozatok végzéséhez.

A titándioxid alapú fotoaktív aerogel kompozit nagy porozitással (akár 99.7 %), viszonylag kedvező mechanikai tulajdonságokkal és nanoméretű pórusokkal rendelkezik. Ezek a pórusok teszik lehetővé, hogy ne pusztán fotokatalitikus felületként, hanem valódi szűrőként is alkalmazható legyen. A porozitás miatt mechanikai védelemmel kellett ellátnunk a filterünket, ugyanis az UV megvilágítás során alkalmazott mágneses kevertetés komoly mechanikai károkat okozott volna benne, így filterünket két sűrű szövésű acélháló közé helyeztük, melyek széléit epoxy ragasztóval rögzítettük egymáshoz. Kontroll mérésekhez ugyanezt az összeállítást készítettük el fotokatalitikus filter helyett üres szűrőpapírt használva. Referencia méréseinkhez P25 titándioxid nanokompozitot alkalmaztunk, melyet ultrahangos rázatóban szonikáltunk, hogy minél homogénebb szuszpenziót kapjunk.

3.1.2. Az oldatok

Az alkalmazott oldatok, melyekben a filtert vizsgáltuk: különböző koncentrációjú TEMPOL és DMPO oldatok algákkal vagy algák nélkül. Modellszennyező algánk a *Raphidocelis subcapitata* volt, mely egy 8-14 μm hosszú és 2-3 μm széles zöld mikroalga.

Az algák mennyiségi meghatározása problémát jelentett a méréseink során. A megvilágított, filterrel kezelt oldatunkból meghatározott időközönként 20 μl mintát vettünk, melyet lapos kapillárisba helyezve mikroszkóp alatt vizsgáltunk. Az első problémánk, hogy a kicsiny koncentráció miatt egy ekkora minta fluoreszcencia intenzitásának mértéke az összeállításunk zajával összemérhető. Mivel eszközeink nem engedik meg a vizsgált

terület méretének növekedését, a koncentráció növelését kellett megvalósítanunk. Ezt egy nagyobb mennyiségű, 2 ml-es oldat 2-5 perces centrifugális ülepítésével értük el. A fluoreszcencia méréshez szükséges 20 μl -es mennyiséget az így kapott üledékből mintavételeztük. Mivel az asztali centrifugánk nem alkalmas az üledék diszkrét elkülönítésére, a centrifugálás utáni mintavételezés során az üledék valamennyire újra felkeveredik, ezért nagy pontatlanság feltételezhető e módszert alkalmazva, mivel a fluoreszcenciára képes algáink száma így nem csak az összeállításunkban végbement oxidációs folyamatoktól, hanem a mintavételezésünk pontosságától is függ, vagyis esetenként attól, mennyire kavarta fel az üledéket a kezünk remegése, míg a mintánkat leszívtuk.

Az ESR mérésekhez 0.7 mm átmérőjű üveg kapilláris csövekbe szívtuk fel mintákat.

3.2. Elektron spin rezonancia

Méréseinkhez egy Bruker Elexsys E500 CW-EPR berendezést használtunk. A filterrel ellátott 5 ml-es oldatunkat mágneses kevertetéssel, kontrollált szobahőmérsékleten, napfénytől elzárva, kis intenzitású UVA fénnel világítottuk meg. Ennek hatására az oldat összetételéstől függően (spincsapdák vagy spinnyomjelzők oldata) az oldat ESR aktivitása az idő függvényében nőtt vagy csökkent. Ezt a változást követtük nyomon 2-10 percenkénti mintavételezéssel és méréssel egészen addig, amíg a TEMPOL oldatunk ESR jele szinte teljesen meg nem szűnt. Ez körülbelül 50-70 perc megvilágítás után történt meg. DMPO-t alkalmazva ugyanilyen hosszú mérésorozatokot végeztünk.

3.3. Fluoreszcencia spektroszkópia

Azokon a méréseinken, melyek során alga modellszennyezőket alkalmaztunk, párhuzamosan vizsgáltuk a mintánk ESR aktivitását és az algák fluoreszcenciáját. A fluoreszcencia spektrumát egy Ocean Optics HR Spectrometer-rel mértük, mely egy Meiji Techno TC5500 mikroszkóphoz volt telepítve. A mikroszkópnak a pozicionálásban volt a legfőbb szerepe. A gerjesztéshez 470 nm hullámhosszú kék lézert fényt alkalmaztunk. A gerjesztés és emittálás spektrumát egy spektrométer elé helyezett ND50 szűrővel választottuk el egymástól, mely az 515 nm alatti hullámhosszokat nem engedte át, így a spektrumon csak az emittálás spektruma volt látható, ami 684 nm hullámhossz körüli volt. A lapos (0.4 mm vastag, 7 mm széles és 4 cm hosszú) kapillárisnak megfelelően egy nagyobb felületű, kiterjedt minta kicsiny (kb. 0.1 mm^2) tartományait használtuk fel az egyes mérésekhez. Mivel az algák nem egészen homogén módon oszlottak el a kapillárisban, egyetlen mintáról 4-5, esetenként akár 8 különböző spektrumot vettünk fel a mintánk

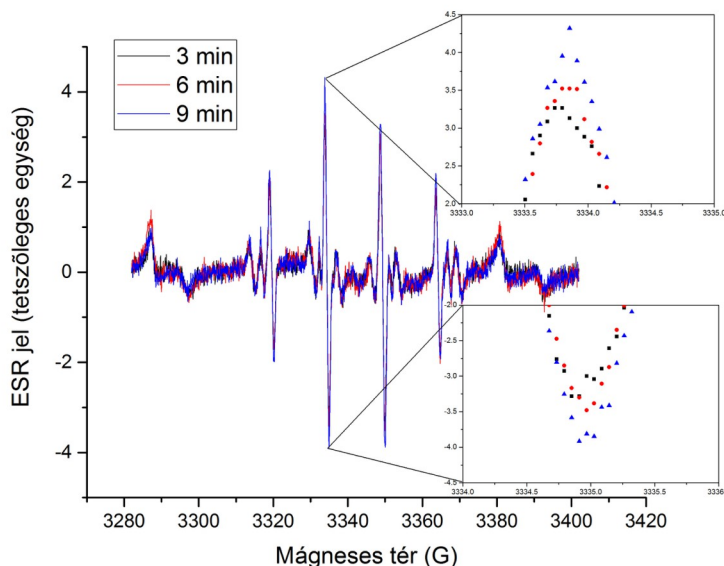
különböző helyein.

Mindezt egy nagyjából elsötétített laborban tettük, hogy a zajt minimalizáljuk.

4. Eredmények

4.1. ESR mérések vizes oldatokon

Első méréseinket DMPO spincsapda 0.1 M koncentrációjú oldatával végeztük, fotokatalitikus filter jelenlétében. A 8 ml-es oldatot, amelybe a filtert helyeztük, 50 percen át világítottuk UVA fénnel, mágneses kevertetés mellett, és 10 percenként mintát vettünk belőle az ESR méréshez. A minta kis ESR aktivitást mutatott, rossz volt a jel-zaj viszony, ez kiértékelhetetlenné tette a mérési eredményeinket. Feltehetően túl kis koncentrációjú és túl nagy mennyiségű volt az oldatunk az alkalmazott filter méretéhez képest, amelynek fotokatalízisben részt vevő felületét tovább csökkentette az acélháló, amivel körülvettük. Annak ellenőrzésére, hogy valóban a filter nem működött megfelelően az adott mennyiségű oldatban, a mérés végén az oldatunkból eltávolítottuk a fotokatalitikus filtert, 2 ml oldatot elkülönítettünk, és 6 mg P25 nanokompozitot tettünk bele. Mivel itt csak az összeállításunk működésének az ellenőrzése volt a cél, mindössze 9 percig világítottuk meg UVA fénnel, és 3 percenként mintavételeztünk. A spektrumon jól látható, ahogy nő az oldat ESR aktivitása, ami az egyre nagyobb mennyiségű hidroxilgyökök jelenlétére utal. Az intenzitás növekedés ugyan itt sem nagy, de az UVA gerjesztés ideje is viszonylag rövid volt. A hidroxilgyök képződés és befogás ténye mindenesetre kimondható volt.

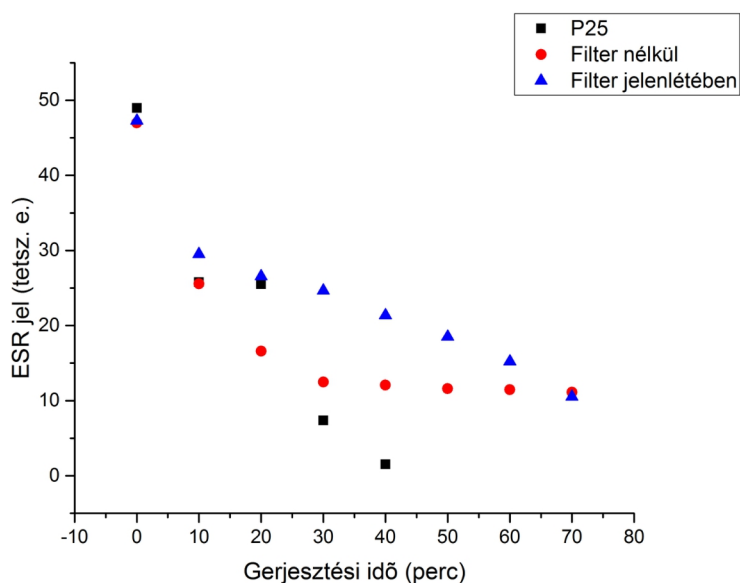


10. ábra. A DMPO-val végzett mérések eredményeinek összehasznítása

Ezek után kisebb mennyiségű, 5 ml-es oldatokat használtunk. Az oldat mennyiségének

csökkentésétől a keletkező hidroxilgyökökkel reagált vegyületek koncentrációjának, ezzel párhuzamosan az ESR jelünknek a növekedését vártuk. Egyszerűbb volt ugyanis az oldat mennyiségét csökkenteni, mint nagyobb felületű mintafiltert készíteni.

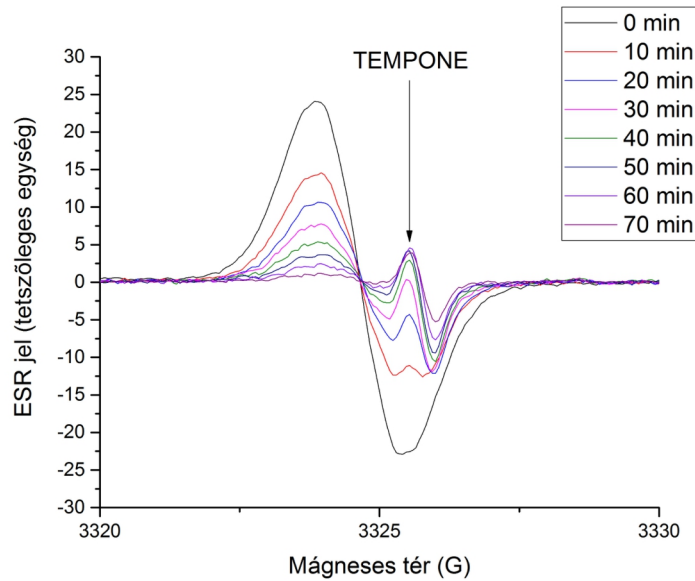
Következő méréseink során DMPO spincsapda helyett a TEMPOL spinnyomjelző $100\mu\text{M}$ koncentrációjú vizes oldatát alkalmaztuk. Ebben az oldatban már szignifikánsabb változást idézett elő a fotokatalízis. Kísérleteinket megismételtük üres szűrőpapírt és 3.25 mg P25 nanokompozitot alkalmazva is, majd a kapott ESR jeleink intenzitás változását hasonlítottuk össze.



11. ábra. $100\mu\text{M}$ TEMPOL oldat ESR jelének intenzitása a gerjesztési idő függvényében

Az összehasonlításból kiderült, hogy fotokatalitikus filterrel, illetve anélkül is közel azonos mértékben változott az oldatunk ESR jele, sőt, bizonyos mérési pontokban a filter nélküli destrukció meghaladja a filterrel megvalósultat, amiből egyrészt arra kell következtetnünk, hogy nagy mérési hibákkal dolgozunk, másrészt hogy az UVA hatására fotokatalitikus felület nélkül is megtörténik a TEMPOL destrukciója.

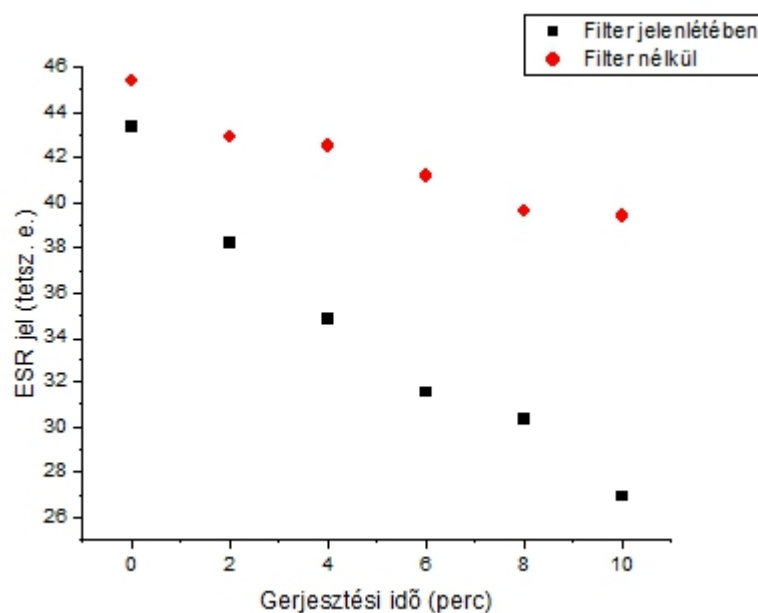
Méréseink során viszont jól megfigyelhető volt a TEMPONE keletkezése.



12. ábra. Filter + 100 μ M TEMPOL UVA megvilágítás mellett

Ahhoz, hogy a fotokatalízis destruktív hatását összevessük az UVA megvilágítás hatásával, tovább kell növelnünk a fotokatalitikus felület arányát az oldatunk mennyiségéhez képest, ezért az üvegedényünk belső falára is acélhálóval borított fotokatalitikus filtert helyeztünk. A filter nélkül végzett kontrollmérésekhez ugyanilyen összeállítást készítettünk, acélhálóval borított üres szűrőpapírral, hogy az UVA visszaverődése is azonos legyen a mérőedényünkben. Ennél a kísérletnél már algákat is használtunk modellszennyezőként az előzőekkel megegyező koncentrációjú TEMPOL oldatban, de ezek elvileg nem befolyásolhatták a TEMPOL adta ESR jel csökkenését, mert az algák nem lépnek reakcióba a TEMPOL-lal. Mérésünk során gyakoribb mintavételezéssel rövidebb ideig tartó megvilágítást alkalmaztunk.

Ez a megnagyobbított fotokatalitikus felület és a gyakoribb mintavételezés már lehetővé tették, hogy várt eredményeink megfigyelhetőek legyenek.

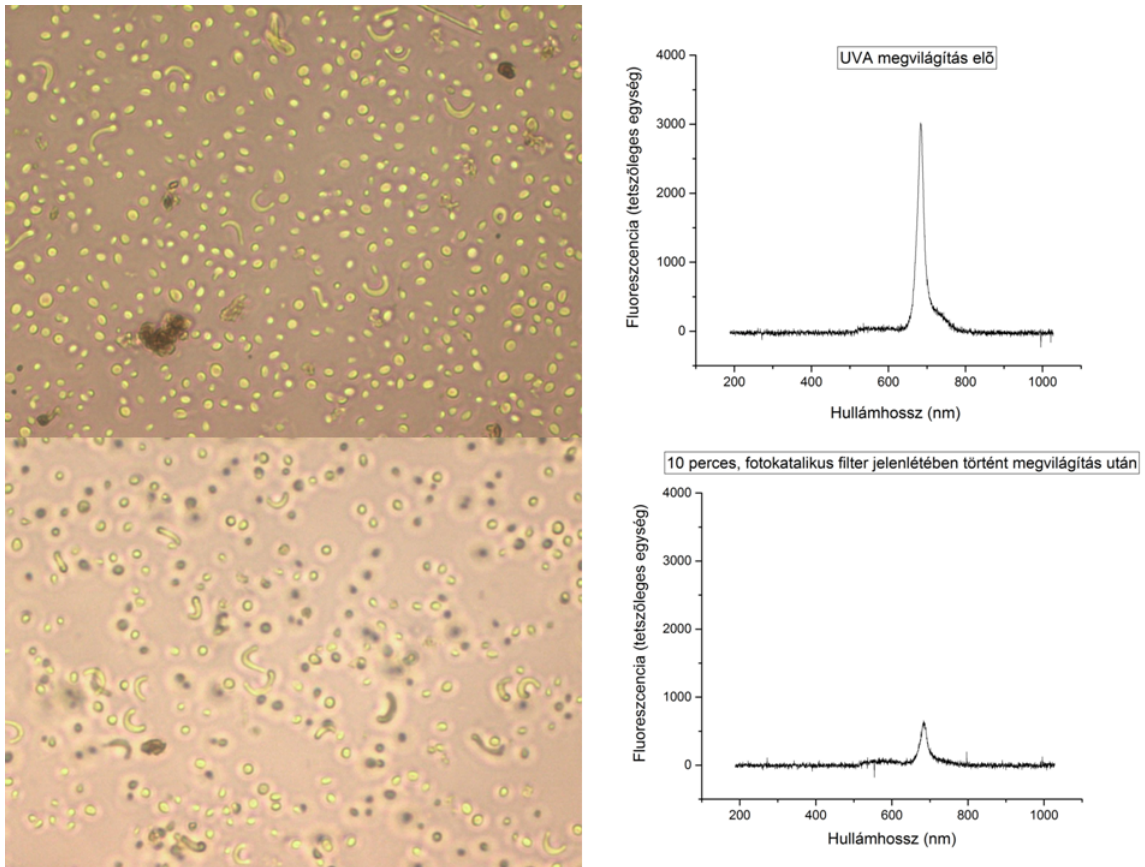


13. ábra. Nagyobb felületű fotokatalitikus filter melletti és filter nélküli ESR intenzitások összevetése

A filter jelenlétében megvalósult destrukció itt már jelentősebb, mint a filter nélküli megvilágítás során tapasztalt. Viszont az is látható, hogy a filter nélkül végzett kísérlet során a 10 perces megvilágítás utáni intenzitás jelentősen eltér az előző mérés 10 perces értékétől, noha ugyanolyan koncentrációjú oldattal, ugyanolyan intenzitású megvilágítással dolgoztunk. Felmerül a gyanú, hogy az 50 perces filter nélkül végzett méréseink adatai nem megfelelőek, hiba csúszhatott a méréseinkbe. Gyanúnkát alátámasztja, hogy a 30. perctől kezdve nem látunk szignifikáns változást az intenzitásban. Az okok tisztázáshoz további mérések szükségesek.

4.2. Fluoreszcencia mérések algákon

Méréseink során azt tapasztaltunk, hogy a fluoreszcencia rohamos csökkenést mutat, és a szokásos 50 perces megvilágítás után akár alkalmaztunk fotokatalitikus filtert a megvilágítás mellett, akár nem, közel nulla értékre redukálódott, ezért itt már 2 percenként vettünk mintát a megvilágított keverékből, és az egész mérés 10 percig tartott, hogy a folyamatot nyomon tudjuk követni.



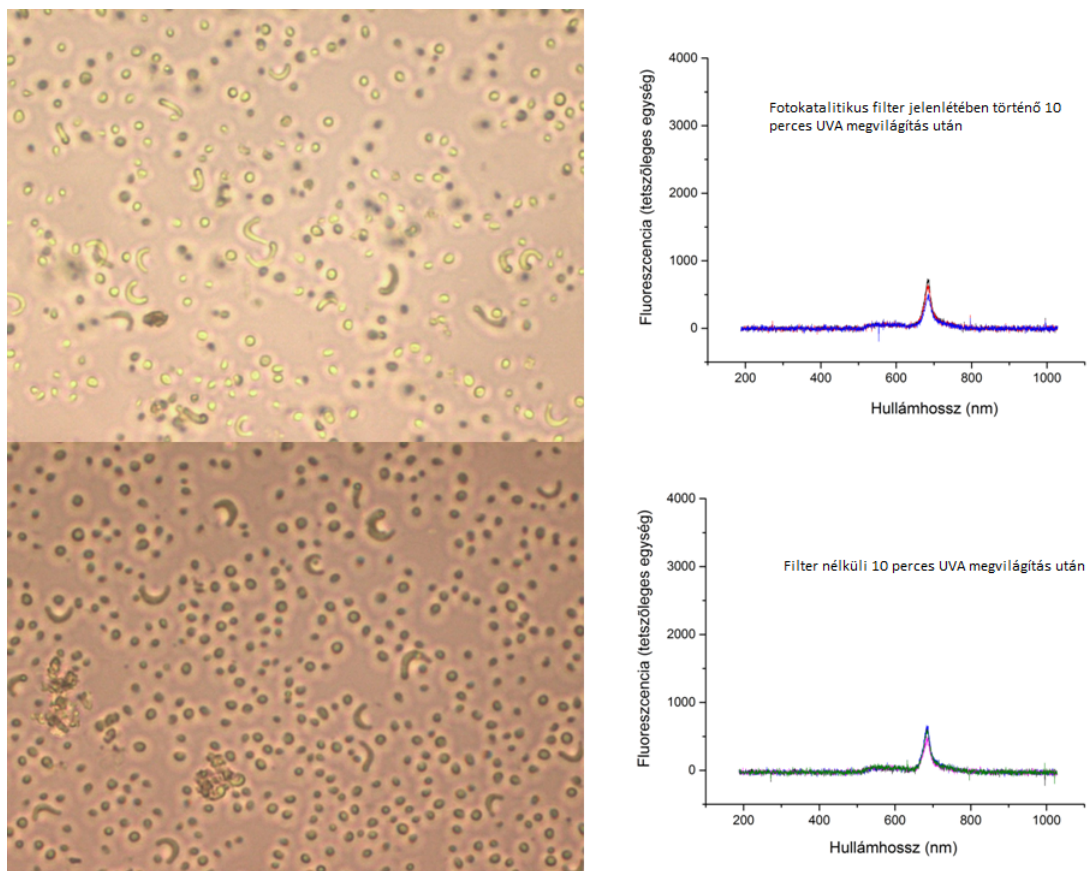
14. ábra. Algák fluoreszcenciájának csökkenése 10 perces UVA megvilágítás hatására

A legtöbb mérésünk során egyaránt néztünk fluoreszcencia és ESR spektrumot is, de mivel az 50 perces megvilágítással és 10 percenkénti mintavételezéssel végzett mérések során tulajdonképpen már az első mintavétel előtt megtörtént a fluoreszcencia jelenségének megszűnése az algák legnagyobb részében, így az összesen 10 perces megvilágítás alatti 2 percenkénti mintavételezéssel végzett méréseinktől vártunk valódi eredményeket.

A fluoreszcencia csökkenése nem mutatott jelentős különbséget a fotokatalitikus filter jelenlétében és az anélkül végzett méréseink eredményeit összevetve. Azt tapasztaltuk, hogy akár használtunk filtert, akár nem, a fluoreszcencia nagyjából azonos mértékben csökkent az az UV megvilágítás idejének függvényében, noha a fluoreszcencia mérésekkel párhuzamosan az azonos mintáról felvett ESR spektrumok alapján a gyökképződés szignifikánsan nagyobb mértékű volt a filter jelenlétében.

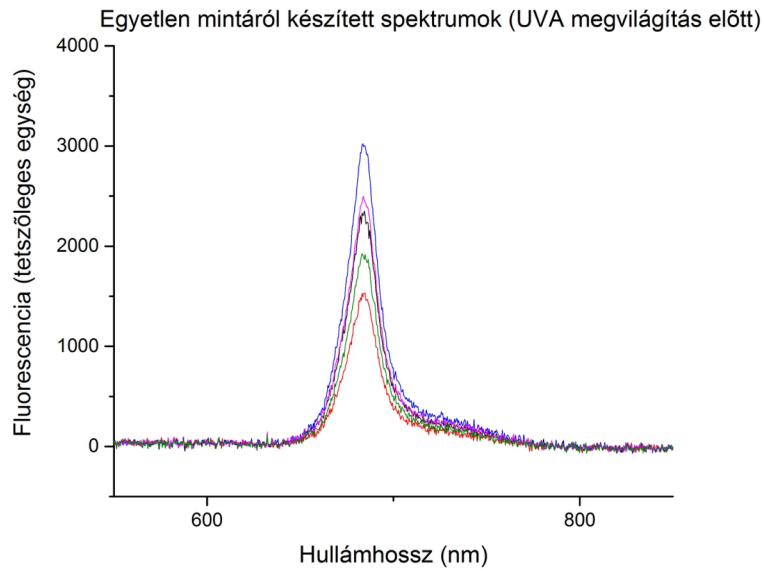
Ebből arra kellett következtetnünk, hogy a fluoreszcencia csökkenése nem a gyökképződés nyomán bekövetkező algapusztulás, hanem az algák UV megvilágítása következtében fellépő fotoelhalványulás (photobleaching) jelensége miatt történt. Ezért méréseinket kisebb intenzitású UVA gerjesztéssel is megismételtünk (20% helyett 5%), de a gyökképződés

hatását továbbra is elnyomta az UVA gerjesztés okozta fotoelhalványulás.



15. ábra. Fotokatalitikus filterrel és anélkül végzett fluoreszcencia mérések 10 perces, alacsony intenzitású UVA megvilágítás után

Méréseink kiértékelését nehezítette az algákkal ellátott keverék inhomogenitása. Egyetlen mintáról 5-8 spektrumot is levettünk a kapilláris különböző helyein, és azt tapasztaltuk, hogy ugyanazon a mintán lokálisan nagyon eltérő intenzitású fluoreszcenciát mérhetünk. Ez a jelünknek az algák száma szerinti normálását teszi szükségessé, amire sajnos a mérési összeállításunk nem ad lehetőséget.



16. ábra. Algák fluoreszcenciája UVA megvilágítás előtt egyazon minta különböző pontjain

5. Összefoglalás

TDK munkám során egy heterogén fotokatalízisen alapuló víztisztító filter gyökképző hatását vizsgáltam elektron spin rezonancia és fluoreszcencia mérésekkel. Eredményeink ahhoz segíthetnek hozzá, hogy hatékonyabb mérési összeállításokat készítsünk a biológiai szennyezők semlegesítésének spektroszkópiai vizsgálataihoz. Megállapítható, hogy az algák fluoreszcenciája a mérési összeállításunk és a mintavételezésünk módja mellett nem megfelelő mérőszám az UV gerjesztett fotokatalitikus filter oxidatív hatásának ellenőrzéséhez, mivel az UV lézer sokkal nagyobb volumenű változást idéz elő a fotoelhalványulás jelensége által, mint az algák pusztulása a fotokatalitikus filter miatt. Az algákkal ellátott keverék inhomogenitásának a megoldatlansága is a mérési összeállításunk hiányossága. Elmondható, hogy a fent ismertetett fluoreszcencia mérésorozat nem alkalmas annál több kijelentés megfogalmazására, mint hogy a zöld algák fluoreszcenciája az UVA megvilágítás idejével arányosan csökken.

A kutatócsoport által korábban végzett abszorbanciás mérések sokkal alkalmasabbak az algák pusztulásának mérésére.

Azt is láttuk, hogy a gerjesztett fotokatalitikus felület növelése mellett végzett méréseink eredményei is kiértékelhetőbbek, kevésbé zajosak. A valódi eredményeket a kutatócsoport által végzett nagyobb méretű rendszereken történő tesztelésektől várhatjuk, ami folyamatban is van az EPFL-en.

Az elektron spin rezonancia méréseink azonban jól mutatták a hidroxilgyök képződését a fotokatalitikus filter felületén. Ennek számszerűsítése, és más fotokatalitikus anyagokkal való összevetése további mérések feladata lehetne.

6. Hivatkozások

Hivatkozások

- [1] K. Honda A. Fujishima. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. *Nature*, pages 37–38, 1972.
- [2] 2006 Dombi András MTA Doktori Értekezés Vizekben és levegőben előforduló szerves szennyezők lebontása nagyhatékonyságú oxidációs eljárásokkal. Szegedi Tudományegyetem, Szeged.
- [3] Veréb Gábor Környezeti szennyezők ártalmatlanítása UV-és látható fényre aktív titán-dioxid alapú fotokatalizátorokkal Doktori értekezés 2014.
- [4] Darányi Mária Nanostruktúrált vékonyrétegek előállítása és vizsgálata Ph. D. értekezés 2011.
- [5] C. P. Slichter. *Principles of Magnetic Resonance*. Springer-Verlag, New York, 3rd ed. 1996 edition, 1989.
- [6] David Marshall et. al. Oxidation of 4-substituted tempo derivatives reveals modifications at the 1- and 4-positions. *Organic and Biomolecular Chemistry* 9 (13), pages 4936–4947, 2011.
- [7] Weiwei He et. al. Electron spin resonance spectroscopy for the study of nanomaterial-mediated generation of reactive oxygen species. *Journal of Food and Drug Analysis* 22, pages 49–63, 2014.
- [8] Orvosi biofizika Sándor Damjanovich Judit Fidy János Szöllősi (2007) Medicina Könyvkiadó Zrt.