



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00575**

(22) Data de depozit: **02.08.2012**

(41) Data publicării cererii:
28.03.2014 BOPI nr. 3/2014

(71) Solicitant:
• INCDO-INOE 2000, FILIALA INSTITUTUL
DE CERCETĂRI PENTRU
INSTRUMENTAȚIE ANALITICĂ,
STR.DONATH NR.67, CLUJ-NAPOCA, CJ,
RO

(72) Inventatori:
• MICLEAN MIRELA, STR.AVRAM IANCU
NR.158, BLE, AP.5, FLOREȘTI, CJ, RO;

• CADAR OANA, STR. MIGDALULUI NR. 14,
AP. 20, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• ROMAN CECILIA, STR. PIAȚA ABATOR,
BL. B, AP. 58, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• SENILĂ LĂCRĂMIOARA, STR. BUCIUM
NR. 1, BL. B1, AP. 30, ET. 7,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) **METODĂ DE DETERMINARE MULTIREZIDUALĂ A
PESTICIDELOR ORGANOCOLORATE ÎN PROBE
ALIMENTARE (PEȘTI ȘI ORGANISME ACVATICE) PRIN
EXTRACȚIE ULTRASONICĂ URMATĂ DE GAZ
CROMATOGRAFIE CUPLATĂ CU DETECTOR CU CAPTURĂ
DE ELECTRONI (USE-GC/ECD)**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă analitică de determinare a unor pesticide organoclorurate, din probe de pești și organisme acvatice. Metoda conform invenției constă din extracția cu ultrasunete a probelor cu un amestec de solvenți hexan:acetona, la temperatura ambiantă, timp de 15...30 min, urmată de evaporarea

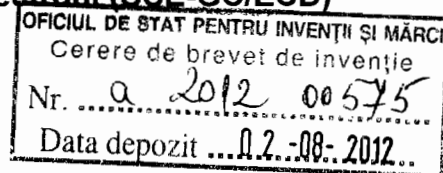
extractului, apoi de determinare simultană a 21 analiți prin gaz cromatografie cuplată cu detector cu captură de electroni.

Revendicări: 1
Figuri: 1



Metodă de determinare multireziduală a pesticidelor organoclorinate în probe alimentare de pești și organisme acvatice prin extracție ultrasonică urmată de gaz cromatografie cuplată cu detector cu captură de electroni (USE-GC/ECD)

DESCRIERE



Invenția se referă la o metodă analitică de determinare multireziduală, rapidă, simplă și sensibilă a 21 de pesticide organoclorurate (α -, β -, γ -, δ -, ϵ -izomeri hexacloro-ciclohexan, 4,4'-DDE, 2,4'-DDE, 4,4'-TDE, 2,4'-TDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 4,4'-metoxiclor, aldrin, dieldrin, endrin, heptaclor, heptaclorexid (izomer A), heptaclorexid (izomer B), alfa-endosulfan, beta-endosulfan, hexaclorobenzen) în pești și organisme acvatice (crustacee, cefalopode), prin extracție cu ultrasunare și gaz cromatografie cuplată cu detector cu captură de electroni (USE-GC/ECD).

Extracția ultrasonică se poate aplica pentru compuși organici nevolatili sau semi-volatili, cum sunt pesticidele organoclorurate, din probe solide, cum sunt peștii și organismele acvatice.

Consumul de pește și organisme marine este benefic datorită proteinelor de înaltă calitate, a acizilor grași, a compoziției minerale și a vitaminelor, scăzând riscul apariției unor boli cardiovasculare sau cancere [1, 2]. Multe studii de specialitate au raportat contaminarea organismelor marine cu pesticide organoclorurate (POC) din mediu care sunt rezistente la biodegradare și au persistență îndelungată în mediu. Unele din aceste POC sunt incriminate de efecte estrogenice în organisme [3]. Principala cale de expunere a organismului uman este consumul de alimente cu conținut crescut de lipide, cum sunt și peștii și organismele marine, care bioacumulează POC [1]. Unele POC sunt toxice pentru sistemul reproducător, produc disfuncții neurologice și intelectuale la copii [4]. Datorită concentrațiilor extrem de scăzute în organismele acvatice sunt necesare metode de extracție și determinare foarte sensibile și precise.

În străinătate se aplică metode analitice cuplate pentru extracția, detecția și cuantificarea pesticidelor organoclorurate, cum sunt: extracția lichid-lichid, extracția cu fluide supercritice, extracția accelerată cu solvenți, extracția ultrasonică cu solvenți (USE), urmată de determinare gaz cromatografică sau lichid cromatografică cu spectrometria de masă (GC-MS) [5].



Descrierea invenției

În țară, după informațiile noastre, nu s-a utilizat sau aplicat o metoda analitică pentru determinarea pesticidelor organoclorurate în probe alimentare (pești, organisme marine) prin tehnica USE-GC-ECD.

Scopul prezentei invenții este elaborarea unei metode analitice de determinare a 21 de pesticide organoclorurate (α -, β -, γ -, δ -, ϵ -izomeri hexaclorociclohexan, 4,4'-DDE, 2,4'-DDE, 4,4'-TDE, 2,4'-TDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 4,4'-metoxiclor, aldrin, dieldrin, endrin, heptaclor, heptaclorepoxid (izomer A), heptaclorepoxid (izomer B), alfa-endosulfan, beta-endosulfan, hexaclorobenzen) în alimente (pești și specii marine), prin extracție cu ultrasonare, urmată de detecția simultană prin gaz cromatografie capilară cuplată cu detector cu captură de electroni (USE-GC/ECD).

Problemele tehnice pe care le rezolvă metoda:

- Reduce timpul de extracție cu 90% față de metodele convenționale; extracția analiților prin metoda Soxhlet durează 10...16 ore, iar prin metoda propusă extracția se realizează cu ultrasunete într-un amestec de solvenți, timp de 30...60 min.

Avantajele metodei sunt:

- metoda de extracție USE permite extracția eficientă a pesticidelor organoclorurate din probe alimentare complexe, cum sunt peștii și organismele acvatice (crustacee, cefalopode), permite obținerea unor limite de detecție extrem de scăzute, este rapidă și scade consumul de solvenți organici toxici;
- separarea, identificarea, detecția și cuantificarea analiților se realizează simultan prin GC-ECD pe coloană capilară nepolară, astfel încât metoda analitică propusă de determinare a 21 de pesticide organoclorurate în probe alimentare de pești și organisme marine este economică, rapidă, foarte versatilă, extrem de sensibilă.

Metoda propusă permite determinarea multireziduală a 21 de pesticide organoclorurate (α -, β -, γ -, δ -, ϵ -izomeri hexaclorociclohexan, 4,4'-DDE, 2,4'-DDE, 4,4'-TDE, 2,4'-TDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 4,4'-metoxiclor, aldrin, dieldrin, endrin, heptaclor, heptaclorepoxid (izomer A), heptaclorepoxid (izomer B), alfa-endosulfan, beta-endosulfan, hexaclorobenzen) în pești și organisme acvatice (crustacee, cefalopode). Metoda folosită la extracția analiților din probe este ultrasonarea (USE),

Descrierea invenției

urmată de concentrarea extractului, iar apoi analiții sunt separați pe coloană capilară nepolară și cuantificați cu ajutorul detectorului cu captură de electroni.

Probele alimentare de pești și organisme marine au fost recoltate proaspete sau congelate și transportate pe gheață în laborator unde s-au îndepărtat porțiunile necomestibile, apoi s-au omogenizat cu un blender cu lame din oțel inoxidabil și păstrate la -20°C până la începerea analizei.

Anterior extracției proba a fost decongelată și s-a cântărit cu exactitate o masă m , care s-a omogenizat cu o masă m_1 de sulfat de sodiu anhidru, apoi s-a adăugat un volum V de amestec de solvenți hexan:acetonă, în raport 3:1 (v/v), într-un flacon de sticlă. Flaconul s-a introdus în baia de ultrasonare, menținând nivelul apei deasupra nivelului de solvent din flacon și proba s-a supus extracției ultrasonice timp de 15...30 min, la o frecvență și putere de 35 kHz și respectiv 320 W. După sonicare, extractul a fost filtrat prin hârtie de filtru, iar în reziduul solid s-a adăugat un volum V de amestec de solvenți hexan:acetonă, în raport 3:1 (v/v) și s-a resupus extracției ultrasonice timp de 15...30 min, ca la prima extracție. După sonicare, extractul a fost filtrat prin hârtie de filtru, iar reziduul solid a fost spălat succesiv cu câte v_1 ml amestec de solvent de extracție. Extracțiile a avut loc la temperatură ambiantă. Filtratele obținute s-au reunit într-un flacon sferic și supus evaporării la rotavapor, aproape până la sec, iar reziduul s-a redizolvat în 1 ml hexan. După filtrare prin filtru de $0,45\ \mu\text{m}$, $1\ \mu\text{l}$ s-a injectat în GC-ECD pentru separarea, identificarea și cuantificarea pesticidelor organoclorurate.

Injectarea s-a efectuat în modul „splitless”, la o temperatură menținută izoterm la 280°C . Coloana capilară nepolară utilizată este de tipul DB-1, $30\ \text{m} \times 0,32\ \text{mm} \times 3,00\ \mu\text{m}$. Gazul purtător este He de înaltă puritate, cu un debit de 1 ml/min. Programul aplicat pentru temperatura coloanei în GC este următorul: temperatura inițială este de 80°C , care a crescut la 196°C cu o rampă de $4^{\circ}\text{C}/\text{minute}$, menținută 2 min; de la 196 la 224°C cu o rampă de $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$, menținută 2 min; de la 224 la 240°C cu $4^{\circ}\text{C}/\text{minute}$, menținută 2 min; de la 240 la 275°C cu $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ și menținută pentru 2 minute. Temperatura detectorului a fost de 300°C .

Metoda USE-GC/ECD este eficientă pentru determinarea multireziduală a 21 de pesticide organoclorurate la nivel de urme în probe alimentare de pești și organisme acvatice și de asemenea, este mai rapidă, mai simplă și utilizează volume mai reduse de solvenți organici decât metodele clasice (extracții Soxhlet).

Descrierea invenției

Parametrii de performanță ai metodei de determinare a 21 pesticide organoclorurate (α -, β -, γ -, δ -, ϵ -izomeri hexacloro-ciclohexan, 4,4'-DDE, 2,4'-DDE, 4,4'-TDE, 2,4'-TDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 4,4'-metoxiclor, aldrin, dieldrin, endrin, heptaclor, heptaclorepoxid (izomer A), heptaclorepoxid (izomer B), alfa-endosulfan, beta-endosulfan, hexaclorobenzen) în pești și organisme acvatice (crustacee, cefalopode), prin USE-GC/ECD sunt:

- limitele de cuantificare pentru cei 21 analiți variază între 0,4 – 1,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$;
- gradele de recuperare pentru cei 21 analiți variază între 79,5 – 103%.

1. Miklavcic A., Stibilj V., Heath E., Polak T., Tratnik J.S., Klavz J., Mazej D., Horvat M., Mercury, selenium, PCBs and fatty acids in fresh and canned fish available on the Slovenian market, *Food Chemistry*, 124, **2011**, 711–720.
2. Davodi M., Esmaili-Sari A., Bahramifarr N., Concentration of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible fish species from the Shadegan Marshes (Iran), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 (3), **2011**, 294-300.
3. Wang D-Q., Yu Y-X., Zhang X-Y., Zhang S-H., Pang Y-P., Zhang X-L., Yu Z-Q., Wu M-H., Fu J-M., Polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in fish from Taihu Lake: Their levels, sources, and biomagnification, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 82 (1), **2012**, 63-70.
4. Wang Y.R., Zhang M., Wang Q., Yang D.Y., Li C.L., Liu J., Li J.G., Li H., Yang X.Y., Exposure of mother-child and postpartum woman-infant pairs to DDT and its metabolites in Tianjin, China, *Science of the Total Environment*, 396, **2009**, 34-41.
5. Ahmed, F. E., Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks, *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 20 (11), **2001**, 649-661.

REVEDICARE

Metodă de determinare multireziduală a pesticidelor organoclorinate în probe alimentare cu matrice solidă prin extracție ultrasonică urmată de gaz cromatografie cuplată cu detector cu captură de electroni **caracterizată prin aceea că** are la bază determinarea a 21 de pesticide organoclorurate (α -, β -, γ -, δ -, ϵ -izomeri hexaclorociclohexan, 4,4'-DDE, 2,4'-DDE, 4,4'-TDE, 2,4'-TDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 4,4'-metoxiclor, aldrin, dieldrin, endrin, heptaclor, heptaclorexid (izomer A), heptaclorexid (izomer B), alfa-endosulfan, beta-endosulfan, hexaclorobenzen) în pești și organisme acvatice (crustacee, cefalopode), prin tehnica USE-GC/ECD, prin extracția cu ultrasunete a probelor cu amestec de solvenți hexan:acetona, la temperatura ambiantă, timp de 15...30 min, urmată de evaporarea extractului, apoi de determinarea simultană a analiților prin gaz cromatografie cuplată cu detector cu captură de electroni.



DESENE

Figura 1. Cromatograma GC-ECD a unei probe de creveți pentru determinarea pesticidelor organoclorurate

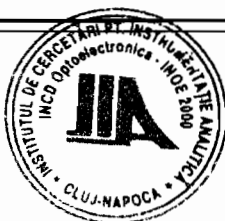
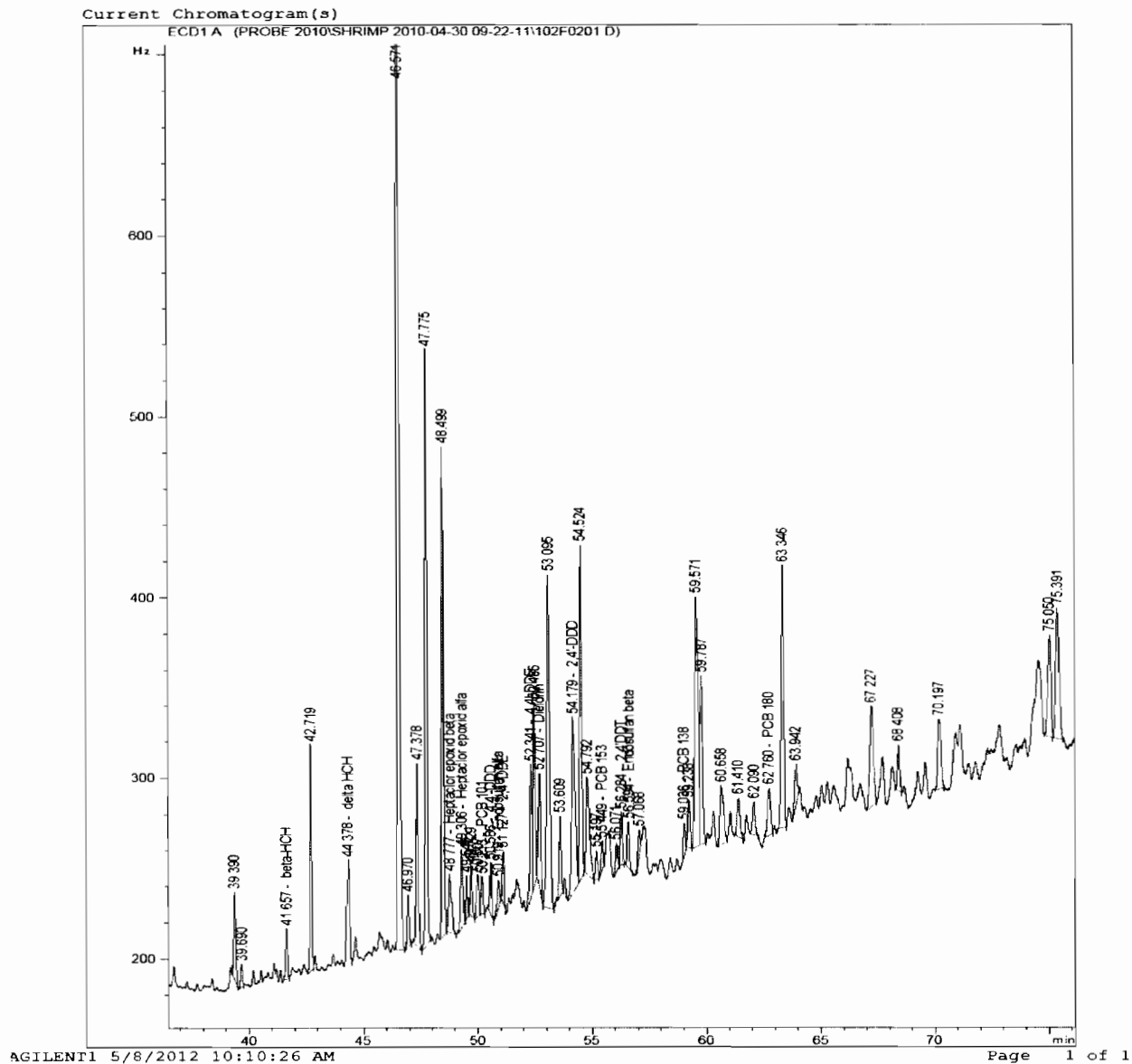


Figura 1. Cromatograma GC-ECD a unei probe de creveți pentru determinarea pesticidelor organoclorurate



Director ICIA,
CS II Mircea Chintoiu

