



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00974

(22) Data de depozit: 07/12/2016

(41) Data publicării cererii:
29/06/2018 BOPI nr. 6/2018

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

(72) Inventatori:
• KOVACS MELINDA HAYDEE,
STR. AL. VLĂHUȚĂ BL. N4, NR. 31, SC. 2,
AP. 37, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;

• KOVACS EMOKE DALMA,
STR. AL. VLĂHUȚĂ, BL. N4, NR. 31, SC. 2,
AP. 37, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• MICLEAN MIRELA, STR.AVRAM IANCU
NR.158, BL.E, AP.5, FLOREȘTI, CJ, RO;
• ROMAN CECILIA, STR. PIAȚA ABATOR,
BL. B, AP. 58, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) **METODĂ RAPIDĂ DE DETERMINARE ÎN ULTRAURME
A COMPUȘILOR ORGANOMETALICI DIN PROBE DE SOL
PRIN EXTRAȚIE ULTRASONICĂ-HEADSPACE
MICROEXTRAȚIE PE FAZĂ SOLIDĂ ȘI GAZ
CROMATOGRAFIE CUPLATĂ CU SPECTROMETRIE
DE MASĂ (USE-HS-SPME-GC-MS) TROFIC:
APĂ DE SUPRAFAȚĂ, SOL, AER, VEGETAȚIE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă analitică de determinare în ultraurme a compușilor organometalici ai mercurului, staniului și plumbului. Metoda conform invenției constă în extracția cu ultrasonare timp de 10...30 min, la temperatura de 30...80°C, cuplată cu tehnicile de extracție "headspace" la o temperatură de incubare de 40...65°C, și microextracție pe fază solidă,

urmată de analiza gaz cromatografică cuplată cu spectrometrie de masă prin care sunt determinați cei nouă analiți organometalici ai mercurului, staniului și plumbului.

Revendicări: 1



27

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. 2016 00 974
Data depozit ... 07.12.2016 ...

METODĂ RAPIDĂ DE DETERMINARE ÎN ULTRAURME A COMPUȘILOR ORGANOMETALICI DIN PROBE DE SOL PRIN EXTRAȚIE ULTRASONICA-HEADSPACE-MICROEXTRACTIE PE FAZĂ SOLIDĂ ȘI GAZ CROMATOGRAFIE CUPLATĂ CU SPECTROMETRIE DE MASĂ (USE-HS-SPME-GC-MS)

DESCRIERE

Invenția se referă la o metodă analitică de determinare în ultraurme, rapidă, simplă și sensibilă a derivaților organici potențial toxici ai unor compuși metalici din probe de sol. Astfel, prezenta invenție prezintă o metodă analitică de determinare a următorilor derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului: clorură de metilmercur, clorură de etilmercur, clorură de trimetilplumb, clorură de trietil plumb, clorură de butilstaniu, diclorură de dibutilstaniu, clorură de trimetilstaniu, diclorură de difenilstaniu și clorură de trifenilstaniu.

Metoda analitică propusă pentru determinarea compușilor organometalici menționați din probe de sol, are la bază tehnicile de extracție prin ultrasonare cuplate cu tehnicile de extracție "headspace" și microextracție pe fază solidă urmată de analiza gaz cromatografică cuplată cu spectrometrie de masă (USE-HS-SPME-GC/MS).

Extracția ultrasonică este o alternativă ieftină și eficientă care se poate aplica în cazul studiilor asupra matricelor de mediu precum solul și apa, în vederea extracției unor compuși organici nevolatili sau semi-volatili, cum sunt și compușii organometalici menționați. Microextracția pe fază solidă, comparativ cu metodele convenționale de extracție, este de asemenea o alternativă rapidă care în schimb nu necesită utilizarea solvenților organici. Această metodă cuplată cu tehnica de extracție „headspace” are la bază stabilirea unui echilibru al analiților țintă între matricea probei, spațiul liber de deasupra eșantionului de probă și fibra acoperită cu un polimer specific pe care are loc concentrarea acestora (analiți țintă).

Compușii organometalici menționați apar în mediul înconjurător fie pe cale naturală, fie ca urmare a unor activități antropogene. De exemplu, derivații organometalici ai plumbului ca tetraetil- și tetrametilul de plumb sunt introduși în mediul înconjurător ca urmare a utilizării lor ca agenți cu acțiune antidetonantă în industria combustibililor [1]. Derivații organici ai staniului în mediul înconjurător pot

avea ca sursă antropogenă utilizarea lor în: industria vopselelor, producția de pesticide, fabricația de policlorură de vinil sau fabricația agenților de protecție a navelor maritime [2]. Compușii organomercurici pot apărea în mediul înconjurător ca urmare a arderii combustibililor fosili sau ca urmare a aplicării lor în agricultură ca substanțe cu acțiune fungicidă [3, 4]

Compușii organometalici prezentați sunt considerați ca având un caracter potențial toxic chiar și în concentrații scăzute (ordinul ppb sau ppt), cu o acțiune negativă asupra sistemului endocrin cât și cu o acțiune potențial cancerigenă [5, 6] Acești compuși prezintă de asemenea și un potențial ridicat de bioacumulare în organismele vii precum și un caracter persistent în diferite matrici ai mediului înconjurător (sol, apă). Din punct de vedere chimic, compușii organometalici se caracterizează prin oxidabilitate și reactivitate ridicată [7].

Considerând aceste caracteristici ale compușilor organometalici prezentați, identificarea lor în probele de mediu precum solul, este importantă deoarece separarea, identificarea și cuantificarea lor constituie pasul esențial în acțiunile de protecție a mediului înconjurător cum ar fi selectarea și modul de aplicare ale proceselor de remediere, normarea legislativă, etc.

Datorită concentrațiilor extrem de scăzute cu care compușii organometalici se regăsesc în probele de sol, precum și caracterului polar și nevolatil (acestea reflectând caracterul lor ionic), sunt necesare metode de extracție, separare și determinare foarte sensibile și precise [8].

În **străinătate** se aplică metode analitice cuplate (adesea hibride) pentru extracția, detecția și cuantificarea compușilor organometalici în probele de sol, cum sunt: preconcentrare prin criogenare, digestie în mediu puternic acid, separare și analiză cantitativă prin montaje hibride de instrumente analitice precum cromatografia cuplată cu spectrometrie atomică (AAS, AFS) sau cu spectrometre cu plasmă cuplate inductiv (ICP-MS) [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Dezavantajul acestor metode este costul ridicat al instrumentelor analitice implicate în sistemele hibride, utilizarea unor acizi foarte toxici în concentrații și cantități ridicate, timpul extins al prelucrării probelor.

În **țară**, identificarea și analiza structurală a compușilor organometalici s-a realizat prin metode spectroscopice precum RMN și FT-IR [16, 17, 18]. După informațiile noastre nu s-a utilizat sau aplicat o metodă analitică pentru determinarea

compușilor organometalici din probe de mediu precum sol prin tehnica USE-HS-SPME-GC-MS.

Scopul prezentei invenții este dezvoltarea unei metode analitice de determinare multicomponent a 9 derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului (clorură de metilmercur, clorură de etilmercur, clorură de trimetilplumb, clorură de trietil plumb, clorură de butilstaniu, diclorură de dibutilstaniu, clorură de trimetilstaniu, diclorură de difenilstaniu și clorură de trifenilstaniu) prin extracție prin ultrasonare cuplată cu tehnicile de extracție "headspace" și microextracție pe fază solidă urmată de determinarea propriu-zisă prin analiza gaz-cromatografică cuplată cu spectrometria de masă (USE-HS-SPME-GC/MS).

Problemele tehnice pe care le rezolvă invenția sunt:

- reduce timpul de prelucrare a probelor cu 90 % față de metodele convenționale (digestie, criogenare);
- reduce semnificativ cantitatea de acizi utilizați în etapa de digestie;
- permite separarea și cuantificarea compușilor organometalici menționați și prin instrumente precum GC-MS fără a necesita utilizarea unor sisteme hibride;

Avantajele metodei:

- metoda de extracție USE permite extracția eficientă a compușilor într-un timp mult mai redus și cu un consum mult mai scăzut al substanțelor chimice toxice, comparativ cu metodele convenționale;
- aplicarea tehnicii de extracție și preconcentrare prin metoda HS-SPME permite eliminarea utilizării solvenților, scade timpul de preparare al probei și permite obținerea unor grade de recuperare satisfăcătoare (78 – 121 %);
- separarea, identificarea, detecția și cuantificarea analiților se realizează simultan prin GC-MS pe coloană capilară nepolară, în modul SIM (monitorizarea ionilor selectați), astfel încât metoda analitică propusă pentru determinarea celor 9 compuși organometalici din probele de sol este economică, rapidă, foarte versatilă și extrem de sensibilă.

Modul de lucru pentru analiza unor derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului dintr-o probă de sol: Metoda propusă permite determinarea multireziduală a 9 compuși organometalici (clorură de metilmercur, clorură de etilmercur, clorură de trimetilplumb, clorură de trietil plumb, clorură de butilstaniu,

diclorură de dibutilstaniu, clorură de trimetilstaniu, diclorură de difenilstaniu și clorură de trifenilstaniu) din probe de sol. Metoda folosită la extracția și preconcentrarea analiților din probe este ultrasonare cuplată cu tehnicile de extracție "headspace" și microextracție pe fază solidă, urmată de separarea analiților pe coloană capilară nepolară, identificarea și cuantificarea lor prin spectrometrie de masă în modul SIM, pentru creșterea sensibilității metodei.

După prelevare, proba de sol se omogenizează și se supune centrifugării. Pentru aceasta, se cântărește cu exactitate o masă m la care se adaugă un volum V de buffer de acetat de sodiu – acid acetic cu pH-ul cuprins între 4.2 – 5.2. Acest amestec proba – buffer se expune la o centrifugare cu 4 000 rpm într-un interval de timp cuprins între 5...20 min după care faza lichidă se separă de cea solidă și se filtrează prin hârtie de filtru. La 30 mL din soluția centrifugată și filtrată se adaugă un volum de n-hexan cuprins între 1.5 – 20 mL și amestecul se supune extracției prin ultrasonare care necesită introducerea acestui amestec în baia de ultrasonare, menținând nivelul apei deasupra nivelului de buffer din flacon și amestecul buffer – solvent se supune extracției ultrasonice timp de 10...30 min, la temperatura de 30...80 °C, la o frecvență și putere de 35 kHz și, respectiv 320 W. După sonicare, faza organică se separă și din aceasta se ia între 0.5...4.5 mL și se adaugă - între 0.1...0.5 mL 2 % (w/v) soluție de NaBEt₄ (pentru realizarea procesului de derivatizare) după care acesta se expune unei agitări mecanice timp de 5 min între 225...450 rpm și o incubare la o temperatură cuprinsă între 40...65 °C. Preconcentrarea compușilor organometalici are loc pe o fibră PDMS (cu caracteristicile: polidimetilsiloxan 30 μm) într-un interval de timp cuprins între 5...10 min urmată de desorbția lor la o temperatură cuprinsă între 35...50 °C într-un interval de timp cuprins între 5...15 min. Analiza probei se efectuează prin GC-MS în modul SIM.

Analiza gaz cromatografică a celor 9 compuși organometalici se efectuează pe o coloana capilară nepolară de tip TR-5MS, 30 m × 0.32 mm × 0.25 μm. Gazul purtător este He de înaltă puritate, cu un debit de 0.9 ml/min. Programul aplicat pentru temperatura coloanei în GC este următorul: temperatura inițială este de 50 °C, crește până la 180 °C cu o rampă de 5 °C/min; de la 180 la 230 °C crește cu o rampă de 15 °C/min și este menținută la 230 °C pentru 10 minute. Operarea

spectrometrului de masă se efectuează în modul SIM pentru cei 9 analiți, pentru fiecare din aceștia alegându-se ionii de identificare și cuantificare specifici.

Metoda USE-HS-SPME-GC-MS propusă este eficientă pentru determinarea în ultraurme a celor 9 derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului din probe de sol. Cu metoda de extracție și preconcentrare propusă se obține o metodă de determinare în ultraurme mai eficientă, rapidă și avantajoasă ca și cost în comparație cu metodele de extracție și preconcentrare precum digestia acidă și criogenarea prin: scurtarea timpului de preparare a probelor, creșterea sensibilității metodei și reducerea volumelor de substanțe chimice utilizate.

Parametrii de performanță ai metodei de determinare a celor 9 derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului din probe de sol, prin USE-HS-SPME-GC-MS sunt:

- limitele de cuantificare pentru cei 9 derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului variază între 0.37 – 1.29 $\mu\text{g}/\text{kg}$;
- gradele de recuperare pentru cei 9 derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului variază între 78 – 121 %.

Referințe bibliografice:

1. Jaagner D., Renman L., Wang Y. Stripping potentiometry for organolead compounds: application to the determination of total lead in gasoline. *Analytical Chemical Acta*, 267(1):165-169, 1992.
2. Lagerstrom M., Strand J., Eklund B., Ytreberg E. Total tin and organotin speciation in historic layers of antifouling paint on leisure boat hulls. *Environmental Pollution*, 220(B):1333-1341, 2017.
3. Volgina T.N., Novikov V.T., Vorobiev D.S., Fedorova Y.O. Oxidative detoxification of organomercury pesticides. *Procedia Chemistry*, 15:115-119, 2015.
4. Korn M.G., Santos D.S., Welz B., Vale M.G., Teixeira A.P., Lima D.C., Ferreira S.L. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels – A review. *Talanta*, 73(1):1-11, 2007.
5. Bridges C.C., Krasnikov F.B., Joshee L., Pinto T.J., Hallen A., Li J., Zalups K.R., Cooper A.J.L. New insights into the metabolism of organomercury compounds: mercury containing cysteine S-conjugates are substrates of human glutamine transaminase K and potent inactivators of cystathionine γ -lyase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 517(1):20-29, 2012.
6. Egorochkin A.N., Kuznestsova O.V., Khamaletdinova N.M., Domratcheva-Lvova L.G. Toxicity of organometallic compounds: correlation analysis via substituent constants. *Journal of Organometallic Chemistry*, 735:88-92, 2013.
7. Kuznetsova O.V., Egorochkin A.N., Khamaletdinova N.M., Domratcheva-Lvova L.G. Reactivity of organometallic compounds and polarizability effect. *Journal of Organometallic Chemistry*. 779:73-80, 2015.
8. Jenkins R.O., Craig P.J., Francesconi K.A., Harrington C.F. Environmental and biological aspects of organometallic compounds. *Comprehensive Organometallic Chemistry III*, 12:603-661, 2007.
9. Niedzielska D., Pawlak T., Wojtczak A., Pazderski L., Szlyk E. Structural and ^1H , ^{13}C , ^{15}N NMR spectroscopic studies of Pb(II) chloride organometallics with 2-phenylpyridine and ammonia, pyridine or its methyl derivatives. *Polyhedron*, 92:41-51, 2015.

10. Wai C.M., Wang S. Separation of metal chelates and organometallic compounds by SFC and SFE/GC. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 43(1-3):273-293, 2000,
11. Shabbir H., Saqib A., Saira S., Muhammad N.T., Muhammad S., Khurram S.M., Syed M.A. Synthesis, spectroscopy, single crystal XRD and biological studies of multinuclear organotin dicarboxylates, *Polyhedron*, 117:64-72, 2016.
12. Rocha C.S., Morais B.P., Rodrigues B.L., Donnaci C.L., Lima G.M., Ardisson J.D., Takahashi J.A., Bitzer R.S. Spectroscopic and X-ray structural characterization of new organotin carboxylates and their in vitro antifungal activities, *Polyhedron*, 117:35-47, 2016.
13. Penalver R., Campillo N., Hernandez-Cordoba M. Comparison of two derivatization reagents for the simultaneous determination of organolead and organomanganese compounds using solid-phase microextraction followed by gas chromatography with atomic emission detection, *Talanta*, 87:268-275, 2011,
14. Development of a methodology for the simultaneous determination of inorganic and organolead compounds using supercritical fluid extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry and its application to environmental matrices. *Talanta*, 80(2):504-510, 2009.
15. Hollow fiber-based liquid-liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography for the speciation of organomercury. *Journal of Chromatography A*, 1173(1-2):44-51, 2007.
16. Frentiu T., Mihaltan A.I., Senila M., Darvasi E., Ponta M., Frentiu M., Pintican B.P. New method for mercury determination in microwave digested soil samples based on cold vapor capacitively coupled plasma microtorch optical emission spectrometry: comparison with atomic fluorescence spectrometry. *Microchemical Journal*, 110:545-552, 2013.
17. Frentiu T., Petreus D., Senila M., Mihaltan A.I., Darvasi E., Ponta M., Plaian E., Cordos A.E. Low power capacitively coupled plasma microtorch for simultaneous multielemental determination by atomic emission using microspectrometers. *Microchemical Journal*, 97(2):188-195, 2011.
18. Kovacs M.H., Ristoiu D., Voica C., Ristoiu T. Optimization of organometallic compounds extraction from aqueous samples in order to improve their gas chromatography mass spectrometry analysis performance. *Romanian Journal of Physics*, 58(1-2):204-210, 2013.

This work was funded by Core Program, under the support of ANCS, project OPTRONICA IV number PN 16.40.02.01, Sectoral Operational Programme "Increase of Economic Competitiveness", Priority Axis II, Project Number 1887, INOVAOPTIMA, code SMIS-CSNR 49164.

and,

under the support of ANCS/UEFISCDI, project ESPAFAN number 54BM/2016, European and International Cooperation, Bilateral/Multinational Mobility Project.

REVENDICARE

Metodă analitică rapidă, simplă și sensibilă **caracterizată prin aceea că** determină în ultraurme nouă derivați organici potențial toxici ai mercurului, staniului și plumbului (clorură de metilmercur, clorură de etilmercur, clorură de trimetilplumb, clorură de trietil plumb, clorură de butilstaniu, diclorură de dibutilstaniu, clorură de trimetilstaniu, diclorură de difenilstaniu și clorură de trifenilstaniu) din probe de sol aplicând extracția prin ultrasonare timp de 10...30 min la temperatura de 30...80 °C cuplată cu tehnicile de extracție "headspace" la o temperatură de incubare cuprinsă între 40...65 °C și microextracție pe fază solidă – metodă de extracție și concentrare cu consum minim de substanțe și timp (desorbția are loc la o temperatură cuprinsă între 35...50 °C într-un interval de timp cuprins între 5...10 min), urmată de determinarea propriu-zisă a celor 9 analiți organometalici prin analiza gaz cromatografică cuplată cu spectrometrie de masă (USE-HS-SPME-GC/MS).