



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00974**

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/10/2020** BOPI nr. **10/2020**

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

(73) Titular:
• **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. VLAHUȚĂ, 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**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**M. C. ZUNIGA, E. JOVER, V. ARANCIBIA,
J. M. BAYONA, "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",
VOL. 80, PP. 504-510, TALANTA, 2009;**
**TIBERIU FRENȚIU, ALIN IRONIM
MIHALTAN, MARIN SENILA, EUGEN
DARVASI, MICHAELA PONTA, MARIA
FRENȚIU, BOGDAN PETRU PINTICAN,
"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",
VOL. 110, PP. 545-552, MICROCHEMICAL
JOURNAL, 2013**

(54) **METODĂ ANALITICĂ DE DETERMINARE A COMPUȘILOR
ORGANOMETALICI AI MERCURULUI, STANIULUI
ȘI PLUMBULUI DIN PROBE DE SOL**



RO 132682 B1

1 Invenția se referă la o metodă analitică de determinare, rapidă, simplă și sensibilă a
2 derivaților organici potențial toxici ai unor compuși metalici din probe de sol. Astfel, prezenta
3 invenție prezintă o metodă analitică de determinare a următorilor derivați organici ai
4 mercurului, staniului și plumbului: clorură de metilmercur, clorură de etilmercur, clorură de
5 trimetilplumb, clorură de trietil plumb, clorură de butilstaniu, diclorură de dibutilstaniu, clorură
6 de trimetilstaniu, diclorură de difenilstaniu și clorură de trifenilstaniu (adesea hibride) pentru
7 extracția, detecția și cuantificarea compușilor organometalici.

8 Este cunoscut din articolul "**Separation of metal chelates and organometallic**
9 **compounds by SFC and SFE/GC**"-C.M Wai, Shaofen Wang, **Journal of Biochemical and**
10 **Biophysical Methods, Vol. 43, 5 July 2000, Pag. 273-293** faptul că există metode analitice,
11 cum sunt: preconcentrare prin criogenare, digestie în mediu puternic acid, separare și
12 analiză cantitativă prin montaje hibride de instrumente analitice precum cromatografia
13 cuplată cu spectrometrie atomică (AAS, AFS) sau cu spectrometre cu plasmă cuplate
14 inductiv (ICP-MS).

15 De asemenea, este cunoscut din articolul "**Low power capacitively coupled plasma**
16 **microtorch for simultaneous multielemental determination by atomic emission using**
17 **microspectrometers**"- **Microchemical Journal, 97(2): 188-195, 2011** Frentiu T., Petreus
18 D., Senila M., Mihaltan A.I., Darvasi E., Ponta M., Plaian E., Cordos A.E., se referă la
19 microspectrometru pentru analiza multi-elementară simultană prin spectrometrie cu emisii
20 atomice la lichidare electronică fără dezolvare, spectrul emisiilor fiind mai simplu și rezonabil.

21 Sunt cunoscute metode de analiză prin cromatografia cu fluide pentru determinarea
22 solubilității compușilor organometalici, analiza cromatografică a compușilor care conțin metal.
23 Dezavantajul acestor metode este costul ridicat al instrumentelor analitice implicate în
24 sistemele hibride, utilizarea unor acizi foarte toxici în concentrații și cantități ridicate, timpul
25 extins al prelucrării probelor, faptul că [Niedzielska D., Pawlak T., Wojtczak A., Pazderski
26 L., Szlyk E. **Structural and 1H, 13C, 15N NMR spectroscopy studies of Pb(II) chloride**
27 **organometallics with 2-phenylpyridine and ammonia, pyridine or its methyl**
28 **derivatives. Polyhedron, 92: 41-51, 2015, Shabbir H., Saqib A., Saira S., Muhammad**
29 **N.T., Muhammad S., Khurram S.M., Syed M.A., Synthesis, spectroscopy, single crystal**
30 **XRD and biological studies of multinuclear organotin dicarboxylates, Polyhedron, 117:**
31 **64-72, 2016, Rocha C.S., Morais B.P., Rodrigues B.L., Donnaci C.L., Lima G.M.,**
32 **Ardisson J.D., Takahashi J.A., Bitzer R.S., Spectroscopic and X-ray structural**
33 **characterization of new organotin carboxylates and their in vitro antifungal activities,**
34 **Polyhedron, 117: 35-47, 2016, Penalver R., Campillo N., Hernandez-Cordoba M.,**
35 **Comparison of two derivatization reagents for the simultaneous determination of**
36 **organolead and organomanganese compounds using solid-phase microextraction**
37 **followed by gas chromatography with atomic emission detection, Talanta, 87: 268-275,**
38 **2011, Development of a methodology for the simultaneous determination of inorganic**
39 **and organolead compounds using supercritical fluid extraction followed by gas**
40 **chromatography-mass spectrometry and its application to environmental matrices.**
41 **Talanta, 80(2): 504-510, 2009, Hollow fiber-based liquid-liquid-liquid microextraction**
42 **combined with high performance liquid chromatography for the speciation of**
43 **organomercury. Journal of Chromatography A, 1173(1-2): 44-51].**

44 Compușii organometalici menționați apar în mediul înconjurător fie pe cale naturală,
45 fie ca urmare a unor activități antropogene. De exemplu, derivații organometalici ai plumbului
46 ca tetraetil- și tetrametilul de plumb sunt introduși în mediul înconjurător ca urmare a utilizării
47 lor ca agenți cu acțiune antidetonantă în industria combustibililor [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.	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 [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
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 [Volgina T.N., Novikov V.T., Vorobiev D.S., Fedorova Y.O., Oxidative detoxification of organomercury pesticides. Procedia Chemistry, 15: 115-119, 2015, 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
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 [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, Egorochkin A.N., Kuznetsova O.V., Khamaletdinova N.M., Domratheva-Lvova L.G., Toxicity of organometallic compounds: correlation analysis via substituent constants. Journal of Organometallic Chemistry, 735: 88-92, 2013]	7
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 [Kuznetsova O.V., Egorochkin A.N., Khamaletdinova N.M., Domratheva-Lvova L.G., Reactivity of organometallic compounds and polarizability effect. Journal of Organometallic Chemistry. 779: 73-80, 2015.]	9
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.	11
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 [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.]	13
Identificarea și analiza structurală a compușilor organometalici s-a realizat și prin metode spectroscopice precum RMN și FT-IR [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, Kovacs M.H., Ristoiu D.,	15

1 **Voica C, Ristoiu T., Optimization of organometallic compounds extraction from**
2 **aqueous samples in order to improve their gas chromatography mass spectrometry**
3 **analysis performance. Romanian Journal of Physics, 58(1-2): 204-210, 2013].**

4 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția, așa cum rezultă din descriere, constă
5 în dezvoltarea unei metode analitice care să determine derivați organici ai mercurului, staniu-
6 lui și plumbului, cu un timp redus de prelucrare a probelor și fără a se utiliza reactivi toxici.

7 Metoda analitică pentru determinarea compușilor organometalici conform invenției,
8 are la bază tehnicile de extracție prin ultrasonare cuplate cu tehnicile de extracție
9 "headspace" și microextracție pe fază solidă urmată de analiza gaz cromatografică cuplată
10 cu spectrometrie de masă (USE-HS-SPME-GC/MS).

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

19 Metoda analitică conform invenției de determinare multicomponent a 9 derivați orga-
20 nici ai mercurului, staniului și plumbului (clorură de metilmercur, clorură de etilmercur, clorură
21 de trimetilplumb, clorură de trietil plumb, clorură de butilstaniu, diclorură de dibutilstaniu,
22 clorură de trimetilstaniu, diclorură de difeniilstaniu și clorură de trifeniilstaniu) prin extracție
23 prin ultrasonare cuplată cu tehnicile de extracție "headspace" și microextracție pe fază solidă
24 urmată de determinarea propriu-zisă prin analiza gaz-cromatografică cuplată cu spectro-
25 metria de masă (USE-HS-SPME-GC/MS).

26 Metoda analitică conform invenției :

27 - reduce timpul de prelucrare a probelor cu 90% față de metodele convenționale
(digestie, criogenare);

28 - reduce semnificativ cantitatea de acizi utilizați în etapa de digestie;

29 - permite separarea și cuantificarea compușilor organometalici menționați și prin
30 instrumente precum GC-MS fără a necesita utilizarea unor sisteme hibride.

31 Avantajele metodei:

32 - metoda de extracție USE permite extracția eficientă a compușilor într-un timp mult
33 mai redus și cu un consum mult mai scăzut al substanțelor chimice toxice, comparativ cu
34 metodele convenționale;

35 - aplicarea tehnicii de extracție și preconcentrare prin metoda HS-SPME permite
36 eliminarea utilizării solvenților, scade timpul de preparare al probei și permite obținerea unor
37 grade de recuperare satisfăcătoare (78...121%);

38 - separarea, identificarea, detecția și cuantificarea analiților se realizează simultan
39 prin GC-MS pe coloană capilară nepolară, în modul SIM (monitorizarea ionilor selectați),
40 astfel încât metoda analitică propusă pentru determinarea celor 9 compuși organometalici
41 din probele de sol este economică, rapidă, foarte versatilă și extrem de sensibilă.

42 În continuare este prezentat un exemplu de realizare pentru analiza unor derivați
43 organici ai mercurului, staniului și plumbului dintr-o probă de sol: metoda permite determi-
44 narea multireziduală a 9 compuși organometalici (clorură de metilmercur, clorură de etil-
45 mercur, clorură de trimetilplumb, clorură de trietil plumb, clorură de butilstaniu, diclorură de
46 dibutiilstaniu, clorura de trimetilstaniu, diclorură de difeniilstaniu și clorura de trifeniilstaniu) din
47 probe de sol. Metoda folosită la extracția și preconcentrarea analiților din probe este

RO 132682 B1

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. 1
3

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 4000 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. 5
7
9
11
13
15
17
19

Analiza gaz cromatografică a celor 9 compuși organometalici se efectuează pe o coloana capilară nepolară de tip TR-5MS, 30 m x 0,32 mm x 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 min. 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. 21
23
25
27

Metoda este eficientă pentru determinarea 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. 29
31
33

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: 35

- limitele de cuantificare pentru cei 9 derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului variază între 0,37...1,29 μg/kg; 37

- gradele de recuperare pentru cei 9 derivați organici ai mercurului, staniului și plumbului variază între 78...121%. 39

RO 132682 B1

1

Revendicare

3

Metodă de determinare a compușilor organometalici ai mercurului, staniului și plumbului din sol prin extracție ultrasonică headspace, microextracție pe fază solidă și gaz cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă, **caracterizată prin aceea că**, se prelucrează proba de sol în vederea solubilizării compușilor organometalici prezenți, se separă

5

7

9

11

cele două faze rezultate, faza lichidă obținută se supune extracției cu ultrasonare timp de 10...30 min, la o temperatură de 30...80°C, la o frecvență de 35 kHz și putere de 320 W, cuplată cu tehnici de extracție "headspace" la o temperatură de incubare de 40...65°C și microextracție pe fază solidă urmată de determinarea propriu-zisă prin analiza gaz cromatografică cuplată cu spectrometrie de masă.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 436/2020