



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2018 00529

(22) Data de depozit: 13/07/2018

(41) Data publicării cererii:  
30/01/2020 BOPI nr. 1/2020

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

(72) Inventatori:  
• CADAR OANA, STR.OASULUI NR.340M,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• SENILA MARIN, STR. BUCIUM NR. 1,  
BL. B1, SC.1, ET.7, AP. 30, CLUJ-NAPOCA,  
CJ, RO;  
• HOAGHIA ALEXANDRA,  
STR.MAGHERANULUI NR.8, MEDIAȘ, SB,  
RO;  
• ROMAN CECILIA, STR.PIAȚA ABATOR,  
BL.B, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) **METODĂ DE DETERMINARE A PB DIN PROBE  
ALIMENTARE DE ORIGINE VEGETALĂ PRIN LIOFILIZARE,  
EXTRACȚIE ASISTATĂ DE ULTRASUNETE ȘI ABSORBȚIE  
ATOMICĂ ÎN CUPTOR DE GRAFIT (FD/UAE/GF-AAS)**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de determinare a Pb din probe alimentare de origine vegetală. Metoda, conform invenției, constă în uscarea unei cantități de 100...200 mg probă de amestec vegetal prin liofilizare la temperatura de -40°C și 25 psi, timp de 6 h, se pune extracției asistată de ultrasunete în soluție de HCl 0,5 mol/l, timp de 15...20 min, la 60...70°C, la o frecvență de 35 kHz și o putere de 400 W, după care amestecul se răcește, se centrifughează la 4400...4500 rpm

timp de 10 min, iar supernatantul se separă pentru analiza de determinare a conținutului de Pb, cu ajutorul unui spectrometru de absorbție atomică cu cuptor de grafit, metoda având o limită de detecție mai mică de 0,05 μg/kg greutate umedă și un grad de recuperare la analiză a materialului de referință certificat de 97%.

Revendicări: 1



RP

**Metodă de determinare a Pb din probe alimentare de origine vegetală prin liofilizare, extracție asistată de ultrasunete și absorbție atomică în cuptor de grafit (FD/UAE/GF-AAS)**

**DESCRIERE**

Invenția se referă la o metodă analitică de determinare a Pb din probe alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale, cereale), prin liofilizare (FD), extracție asistată de ultrasunete (UAE) și spectrometrie de absorbție atomică cu cuptor de grafit (GF-AAS), UAE/GF-AAS.

Contaminarea mediului reprezintă un pericol deosebit și un impediment major în dezvoltarea unei societăți durabile, cu consecințe negative directe asupra calității mediului și implicit asupra omului. Alături de aer și apă, alimentele constituie factori de mediu esențiali pentru asigurarea bunei desfășurări a tuturor proceselor vitale. Compușii cu acțiune estrogenică puternică, ca de exemplu unele metale grele, printre care și Pb, manifestă efecte negative severe asupra sănătății umane și animale [1, 2]. Prezența acestora în mediu și alimente în concentrații extrem de mici, precum și nivelurile maxime admise impuse de legislație foarte scăzute, impun existența și aplicarea unor metode de determinare deosebit de sensibile pentru extracția lor din matrice și pentru tehnici analitice pentru determinare cantitativă a acestora [3].

În străinătate, pentru extracția, detecția și cuantificarea Pb din probe alimentare de acest tip se aplică digestia acidă convențională, asistată de microunde sau ultrasunete cu acizi concentrați, urmată de spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS), spectrometrie de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES), spectrometrie de absorbție atomică în flacără (FAAS) sau spectrometrie de absorbție atomică cu atomizare electrotermică (ETAAS) [1, 4-7].

Metodele menționate mai sus, aplicate pentru determinarea Pb din probe vegetale, se confruntă cu următoarele neajunsuri: metodele de uscare clasice la 105 °C nu sunt indicate în cazul probelor sensibile la temperaturi ridicate, necesită cantități mari de probă de ordinul g, temperaturi ridicate și cantități mari de acizi concentrați. Luând în considerare cele menționate apare ca extrem de necesară realizarea unei metode analitice care să rezolve aceste neajunsuri și, dacă se poate, simultan [4-7].

Scopul prezentei invenții este elaborarea unei metode analitice de determinare a Pb din probe alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale, cereale), prin

14

liofilizare, extracție asistată de ultrasunete, urmată de detecția simultană prin spectrometrie de absorbție atomică în cuptor de grafit (FD/UAE/GF-AAS). Metoda propusă permite determinarea Pb din probe alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale, cereale).

Problemele tehnice pe care le rezolvă invenția sunt: metodă rapidă și eficientă de uscarea a probei (liofilizare) care folosește temperatură și presiune scăzută, reducerea timpului de extracție la 15...20 min, reducerea cantității de probă supuse analizei la 100...200 mg, eliminarea utilizării acizilor concentrați și a temperaturilor înalte prin utilizarea unei soluții de HCl 0,5 mol/L la 60...70 °C, reducerea efectelor de matrice la determinarea spectrometrică prin utilizarea unei soluții de acid diluat, limite de detecție mai scăzute datorită utilizării GF-AAS, comparativ cu alte metode spectrometrice (ICP-OES și FAAS).

În țară, după informațiile noastre, nu s-a utilizat sau aplicat o metoda analitică similară celei propuse pentru determinarea Pb din probe alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale, cereale) prin tehnica FD/UAE/GF-AAS.

Metoda folosită în cadrul prezentei invenții pentru etapa de extracție a metalelor grele din probe presupune: uscarea probei prin liofilizare, extracția asistată de ultrasunete (UAE) în acid diluat, urmată de determinarea Pb prin spectrometrie de absorbție atomică în cuptor de grafit (GF-AAS).

Probele de produse alimentare de origine vegetală se liofilizează la -40 °C și 25 psi, timp de 6 h, se macină și se omogenizează cu o moară având cuțit din titan. Se cântăresc 100...200 mg probă, se transferă într-un vas de teflon și se adaugă 10 mL HCl 0,5 mol/L. Amestecul se supune extracției asistate de ultrasunete în vederea extracției Pb timp de 15...20 min, la 60...70 °C, la o frecvență de 35 kHz și putere de 400 W. Nivelul de solvent din vasul de teflon trebuie să fie sub nivelul apei din baia cu ultrasunete. Proba se răcește, se centrifughează la 4400...4500 rpm, timp de 10 min, iar supernatantul se separă în vederea analizei GF-AAS.

Analiza spectrometrică a Pb din probele alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale, cereale) se realizează cu ajutorul unui spectrometru de absorbție atomică cu cuptor de grafit în următoarele condiții: lungimea de undă - 283,3 nm; fanta - 0,7 nm, lampa EDL - curent: 440 mA, timp de citire - 5 sec.; procesare semnal - aria picului; volum probă - 20 μL; temperatura injecție - 90 °C, standarde de calibrare - 2.0, 5.0, 10, 20 μg/L; modificator de matrice NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>+Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - volum: 5 μL, program cuptor - temperatura(°C)/rampa (s)/timp de mentinere(s): treapta 1 110/1/30, treapta 1



16

2: 130/15/30, treapta 1 3: 850/10/20, treapta 1 4: 1600/1/5, treapta 1 5: 2450/1/3. Rezultatul final este media aritmetică a 3 determinări. Dacă proba a fost diluată, se ține cont de factorul de diluție. Se recalculează rezultatul la greutatea produsului proaspăt.

Extracția asistată de ultrasunete a Pb din probe alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale, cereale), urmată de identificarea și detecția cu ajutorul GF-AAS este o procedură analitică simplă și rapidă, necesită cantități reduse de probă și acizi concentrați, cu sensibilitate mărită și precizie ridicată.

Parametrii de performanță ai metodei de determinare a Pb din probe alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale, cereale) prin liofilizare, extracție asistată de ultrasunete urmată de absorbție atomică în cuptor de grafit (FD/UAE/GF-AAS) sunt: - limita de detecție metodă: 0,05 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  greutate umedă), - grad de recuperare la analiză material de referință certificat:  $97 \pm 5,0$  %.

Exemplu de aplicare metodă:

Pentru exemplificare s-a optat pentru o probă de morcov.

Pregătirea probei: se îndepărtează extremitățile, părțile murdare și putrede, se curăță prin răzuire și se spală cu apă distilată. Eșantionul se liofilizează la  $-40$  °C și 25 psi, timp de 6-8 h, iar ulterior se macină și se omogenizează cu o moară având cuțit din titan. Se cântăresc 100 mg probă liofilizată, se transferă într-un vas de teflon și se adaugă 10 mL HCl 0,5 mol/L. Amestecul se supune extracției asistate de ultrasunete, timp de 20 – 30 min, la  $70$  °C, la o frecvență de 35 kHz și putere de 400 W. Proba se răcește, se centrifughează la 4400...4500 rpm, timp de 10 min, iar supernatantul se separă în vederea analizei GF-AAS.

Măsurare: conținutul de Pb ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) din extract se determină cu ajutorul unui spectrometru de absorbție atomică în cuptor de grafit (GF-AAS) folosind următoarele etaloane pentru curbă de calibrare: 2.0, 5.0, 10, 20  $\mu\text{g}/\text{L}$  Pb.

Rezultat: concentrația de Pb în proba de morcov analizată  $< 0,05$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  greutate umedă.

Bibliografie

1. X. Li, Z. Li, C.J. Lin, X. Bi, J. Liu, X. Feng, H. Zhang, J. Chen, T. Wu, *Health risks of heavy metal exposure through vegetable consumption near a large-scale Pb/Zn smelter in central China*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 161, 99-110.

2. A.S. Qureshi, M.I. Hussain, S. Ismail, Q.M. Khan, *Evaluating heavy metal accumulation and potential health risks in vegetables irrigated with treated wastewater*, Chemosphere, 2016, 163, 54-61.
3. S.Y. Choe, S.J. Kim, H.G. Kim, J.H. Lee, Y. Choi, H. Lee, Y. Kim, *Evaluation of estrogenicity of major heavy metals*, Science of the Total Environment, 2003, 312, 15-21.
4. M.H.H. Ali, K.M. Al-Qahtani, *Assessment of some heavy metals in vegetables, cereals and fruits in Saudi Arabian markets*, The Egyptian Journal of Aquatic Research, 2012, 38, 31-37.
5. N. Shaheen, N.M. Irfan, I.N. Khan, S. Islam, M.S. Islam, M.K. Ahmed, *Presence of heavy metals in fruits and vegetables: Health risk implications in Bangladesh*, Chemosphere, 2016, 152, 431-438.
6. A. Augustsson, T. Uddh-Soderberg, M. Filipsson, I. Helmfrid, M. Berglund, H. Kerlsson, J. Hogmalm, A. Karlsson, A. Alriksson, *Challenges in assessing the health risks of consuming vegetables in metal-contaminated environments*, Environment International, 2018, 113, 269-280.
7. M.R. Gomez, S. Cerutti, L.L. Sombra, M.F. Silva, L.D. Martinez, *Determination of heavy metals for the quality control in argentinian herbal medicines by ETAAS and ICP-OES*, Food and Chemical Toxicology, 2007, 45, 1060-1064.
8. J.L. Tadeo, C. Sanchez-Brunete, B. Albero, A.I. Garcia-Valcarcel, *Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples*, Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 2415-2440.



## REVENDICARE

Metoda de determinare a Pb din probe alimentare de origine vegetală (legume, plante medicinale și cereale) prin liofilizare, extracție asistată de ultrasunete și absorbție atomică în cuptor de grafit (FD/UAE/GF-AAS) **caracterizată prin aceea că se bazează pe liofilizarea probei, extracția, în prezență de HCl 0,5 mol/L, într-o baie cu ultrasunete timp de 15...20 min, la 60...70°C, decantarea probei și determinarea Pb cu ajutorul unui spectrometru de absorbție atomică cu cuptor de grafit.**

---

Director ICIA,  
CS I Dr. Ing. Mircea Chintoanu

