

Mihail Simion BELDEAN-GALEA

***Rolul tehnicilor de separare în studiile de
mediu***

Rezumatul tezei de abilitare

Cluj-Napoca, 2017

Cuprins

Cuvânt înainte

1. Introducere
 2. Material și metode
 - 2.1. Tehnici de separare
 - 2.1.1. Cromatografia în fază gazoasă
 - 2.1.2. Cromatografia de lichide de înaltă performanță
 - 2.1.3. Cromatografia bidimensională de gaze
 - 2.2. Tehnici de extracție
 - 2.2.1. Extracția cu solvenți
 - 2.2.2. Extracția pe fază solidă
 - 2.2.3. Microextracția în fază lichidă
 - 2.3. Metodologia de validare a metodelor analitice
 - 2.3.1. Exactitatea
 - 2.3.2. Precizia
 - 2.3.3. Liniaritatea
 - 2.3.4. Limita de detecție
 - 2.3.5. Limita de cuantificare
 - 2.3.6. Specificitatea/Selectivitatea
 - 2.3.7. Robustețea
 3. Evaluarea calității mediului utilizând tehnici cromatografice
 - 3.1. Evaluarea hidrocarburilor aromatice policiclice în compartimente de mediu.
 - 3.1.1. Determinarea de nitrofenoli și hidrocarburi aromatice policiclice în probe de apă
 - 3.1.2. Prevalența și identificarea surselor de HAP în ape de suprafață
 - 3.1.3. Evaluarea poluării atmosferice urbane cu HAP folosind biomonitori și analiza HPLC
 - 3.2. Evaluarea conținutului de erbicide triazinice în diferite probe de mediu
 - 3.2.1. Evaluarea conținutului de erbicide triazinice în probe de apă
 - 3.2.2. Evaluarea conținutului de erbicide triazinice în probe de miere
 4. Dezvoltarea de tehnici cromatografice bidimensionale și cuplate pentru analiza probelor de mediu complexe
 - 4.1. Caracterizarea soartei lipidelor în stații de epurare a apelor uzate folosind GCxGC-qMS
 - 4.2. Determinarea poluanților organici xenobiotici în levigat folosind GCxGC-qMS
 - 4.3. Dezvoltarea de metode pentru analiza produșilor secundari de degradare Fenton a medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene în matrice apoase
 5. Dezvoltarea de metode de extracție miniaturizate pentru analiza diferitelor clase de poluanți organici
 - 5.1. Microextracția în fază lichidă în analiza medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene
 - 5.2. Microextracția în fază lichidă în analiza pesticidelor triazinice
 6. Sinteza activității academice și proiecții de dezvoltare profesională
- Bibliografia

Cuvânt înainte

Teza de față reprezintă o sinteză a principalelor activități de cercetare ale autorului efectuate în ultimii 10 ani, după obținerea diplomei de doctor, în anul 2006.

În cercetarea mea m-am concentrat pe trei direcții principale de cercetare după cum urmează:

- A. ***Evaluarea calității mediului folosind tehnici cromatografice.*** Această direcție este reflectată în șapte lucrări de cercetare publicate în reviste internaționale și un proiect de cercetare internațională, la care am fost director de proiect. Subiectul acoperă utilizarea tehnicilor cromatografice pentru determinarea diferitelor clase de compuși organici în diferiți factori de mediu (aer, apă, sol, alimente).
- B. ***Dezvoltarea tehnicilor cromatografice bidimensionale și cuplate pentru analiza probelor de mediu complexe.*** Această direcție se referă la aplicarea uneia dintre cele mai performante tehnici de separare dezvoltate în ultimele decenii la probele complexe de mediu. M-am concentrat în principal pe cromatografia bidimensională de gaze cuplată cu spectrometria de masă pentru analiza diferitelor clase de compuși în probe lichide (apă, ape uzate, levigat). Rezultatele cercetării efectuate se reflectă în cinci lucrări științifice și un proiect de cercetare bilaterală, la care am fost director de proiect.
- C. ***Dezvoltarea metodelor de extracție miniaturizate pentru analiza unor clase diferite de poluanți.*** Această direcție este cea mai nouă în activitatea mea de cercetare, consolidează și în același timp îmbunătățește celelalte două direcții prezentate anterior. Acest domeniu reprezintă o tendință nouă în chimia analitică și vine în întâmpinarea principilor chimiei analitice verzi prin reducerea deșeurilor generate în timpul protocolului analitic și în același timp prin scăderea timpului necesar analizei. Ca rezultate, au fost publicate două lucrări în reviste ISI și un proiect bilateral la care am fost director de proiect. Două manuscrise sunt în pregătire pentru a fi publicate în jurnale ISI cu factor de impact ridicat.

Este important de menționat faptul că aceste rezultate nu puteau fi obținute fără o bună colaborare cu colegi din străinătate și cu alți specialiști implicați în evaluarea calității mediului și pot spune că aceste realizări sunt doar începutul altor direcții de cercetare pe care intenționez să le dezvolt în domeniul Științei Mediului.

În această teză voi prezenta pe scurt realizările mele reflectate în lucrările publicate pe direcțiile de cercetare menționate, precum și proiecția dezvoltării mele profesionale viitoare.

1. Introducere

Degradarea continuă a calității mediului datorită cauzelor naturale și în special antropice necesită un efort susținut pentru a găsi soluții, pentru a controla și prognoza posibilele efecte negative care pot apărea în viitor și pentru a stabili planuri de gestionare adecvate pentru remedierea acestora.

Numărul mare de compuși chimici care se găsesc în factorii de mediu necesită utilizarea unor metode specifice de analiză cu selectivitate, specificitate și sensibilitate ridicată.

Utilizarea tehnicilor cromatografice în evaluarea calității mediului este menționată în mii de lucrări de cercetare și este imposibil de realizat o inventariere a acestora dacă luăm în considerare numărul uriaș de compuși studiați în factorii de mediu.

Dar, datorită creșterii continue a numărului de compuși chimici eliberați în factorii de mediu care pot contribui la alterarea calității acestuia, dezvoltarea de noi protocoale de analiză pentru identificarea și cuantificarea lor chiar și la nivel de ultraurme a devenit o prioritate. Astfel, în această teză vreau să subliniez rolul cromatografiei în evaluarea calității mediului și rezultatele cercetărilor mele efectuate în acest sens.

2. Material și metode

Datorită complexității probelor de mediu și a nivelului scăzut de concentrație a compușilor țintă, un protocol de analiză adecvat implică diferite tehnici de separare și de prelucrare a probelor complexe cu scopul de a izola compușii țintă de matricele în care sunt prinși, și în același timp, de a concentra la niveluri de concentrație detectabilă de tehnicile de analiză folosite.

Pentru cercetările descrise în această lucrare s-au folosit trei tehnici de separare cuplate cu detectori specifici ca de exemplu cromatografia în fază gazoasă, cromatografia de lichide de înaltă performanță și cromatografia bidimensională de gaze precum și diferite protocoale de extracție (extracție cu solvenți, extracție pe fază solidă, microextracție în fază lichidă) toate dezvoltate cu scopul de a evalua prevalența unor poluanți în factorii de mediu și de a estima stresul chimic la care sunt supuși acești factori.

Pentru validarea protocoalelor dezvoltate s-au folosit unele abordări chemometrice obligatoriu necesare în analizele de laborator pentru testarea exactității, preciziei, liniarității sau sensibilității unei metode de analiză. O serie de abordări metodologice pentru identificarea sau studiul comportamentului unor poluanți în factorii de mediu au fost utilizate.

În paginile următoare, sunt redate pe scurt rezultatele cercetărilor efectuate pe cele trei direcții menționate anterior.

3. Evaluarea calității mediului utilizând tehnici cromatografice

Numărul mare de compuși chimici care pot fi găsiți în factorii de mediu necesită utilizarea unor metode specifice de analiză care să aibă selectivitate, specificitate și sensibilitate ridicată. Dintre metodele folosite în evaluarea calității mediului, metodele cromatografice par să fie cele mai des utilizate.

Necesitatea utilizării metodelor cromatografice în studiile de mediu este stipulată și în diverse directive oficiale, un exemplu elocvent fiind Directiva Cadru pentru Apă a Parlamentului și Consiliului European (EC 60/2000) care stabilește cadrul legislativ pentru managementul apelor de suprafață și subterane. Dacă se ia în considerare lista cu substanțe prioritare stipulată în această directivă se poate observa că din cei 45 de compuși chimici, 41 sunt substanțe organice, iar standardul de calitate al mediului (EQS) recomandă utilizarea tehnicilor cromatografice pentru analiza acestor compuși. Așadar, dezvoltarea de metode cromatografice pentru analiza unor poluanți specifici nu numai în apă, dar și în alți factori de mediu devine o necesitate pentru protecția mediului și a sănătății umane.

Folosindu-mă de experiența de peste 17 ani în domeniul separatologie analitice, direcțiile mele de cercetare au fost îndreptate spre dezvoltarea și aplicarea celor mai potrivite tehnici cromatografice, cu scopul de a evalua prevalența unor poluanți organici toxici în vederea evaluării riscului de expunere și a calității mediului.

Aceste cercetări au fost efectuate în cadrul unui proiect de cercetare finanțat de NATO (NATO Sfp 984440) sau în lucrări de licență, disertație sau teze de doctorat și s-au concretizat în publicarea a 7 articole în reviste ISI (Beldean-Galea M.S. et al., 2016a; Beldean-Galea M.S. et al., 2016b; Mihăiescu R. et al., 2016; Drăguș A. et al., 2015; Beldean-Galea M.S. et al., 2014; Copaciu F. et al., 2013; Drăguș A. et al., 2012).

Realizările reflectate de câteva dintre lucrările amintite sunt prezentate în continuare:

3.1. Evaluarea hidrocarburilor aromatice policiclice în compartimente de mediu

Hidrocarburile aromatice policiclice (HAP) sunt compuși organici incluși în lista poluanților prioritari ai Agenției Americane de Mediu (EPA) și ai Agenției Europene de Mediu (EEA) din cauza potențialului lor toxic, mutagen și carcinogen. Acești compuși sunt larg răspândiți în compartimentele de mediu și sunt prezenți în atmosferă, apă de suprafață, sol, sediment și organisme și sunt cei mai importanți contaminanți la scară regională și globală.

În ultimul deceniu, au fost realizate numeroase studii pentru evaluarea concentrației și distribuției HAP în diferite medii precum atmosferă (Ravindra et al., 2008), râuri și lacuri interioare, apele și sedimentele de estuare și ape marine (Yunker et al., 2015), soluri (Maliszewska-Kordybach et al., 2009) etc. Alte lucrări de cercetare s-au axat pe înțelegerea impactului anumitor surse de emisie, cum ar fi sursele de combustie sau combustibilii fosili (Zhang et al., 2008, Yunker et al., 2015) asupra bugetului de HAP din mediu.

3.1.1. Determinarea de nitrofenoli și hidrocarburi aromatice policiclice în probe de apă

Una dintre cercetările efectuate de Beldean-Galea et al., (2014) a avut ca scop dezvoltarea unei metode de extracție simultană și de analiză prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC) a unor nitrofenoli și HAP-uri din probe de apă. Metoda dezvoltată a fost aplicată pentru analiza acestor compuși în diferite probe de apă colectate din zona municipiului Cluj-Napoca.

Nitrofenolii și HAP-urile sunt poluați extrem de toxici pentru mediul înconjurător având efecte cancerigene atât la om cât și la animale sau fiind răspunzători de degradarea continuă a pădurilor în Europa Centrală. Datorită proprietăților fizico-chimice diferite de obicei analiza lor implică două etape de extracție și implicit tot atâtea analize.

Pentru metoda dezvoltată s-au luat în studiu 13 HAP-uri (naftalină, acenaftenă, fluoren, fenantren, antracen, piren, benzo(a)antracen, benzo(a)piren) respectiv 5 compuși fenolici (fenol, 2-nitrofenol, 3-nitrofenol, 4-nitrofenol, 2,6-dinitrophenol).

Extracția acestor compuși s-a realizat prin extracție pe fază solidă utilizând un cartuș de extracție Strata X ce conține un adsorbant polimeric și anume stiren-divinilbenzen funcționalizat. Pentru optimizarea etapei de extracție s-au testat diferite tipuri de cartușe de extracție, respectiv extracția cu solvenți organici.

Analizele s-au efectuat prin HPLC cu detecție în ultraviolet (UV). Cromatograma amestecului etalon este prezentată în figura 12.

Metoda dezvoltată a întrunit toate condițiile impuse de protocolul de validare și a fost aplicată la analiza unor probe de apă reale (apă de ploaie, apă de râu și apă uzată) colectate din raza municipiului Cluj-Napoca (figura 13, tabelul 5).

Rezultatele analizelor efectuate pe probe reale de apă au demonstrat că această metodă ar putea fi utilizată pentru analiza simultană a nitrofenolilor și a HAP-urilor în probe de apă la nivelul ppb-urilor, fiind o bună alternativă la metodele clasice care implică analize separate pentru fiecare clasă de compuși.

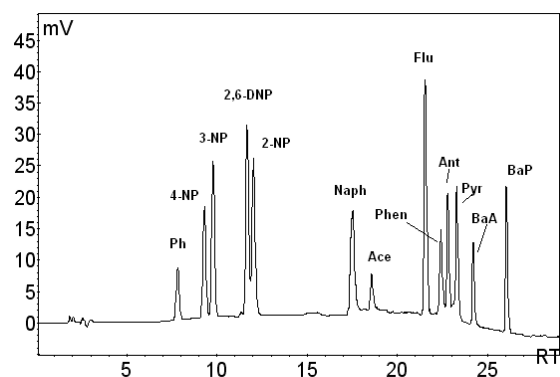


Fig. 12. Cromatograma HPLC a amestecului standard studiat (nitrofenoli și HAP) (după Beldean-Galea et al., 2014)

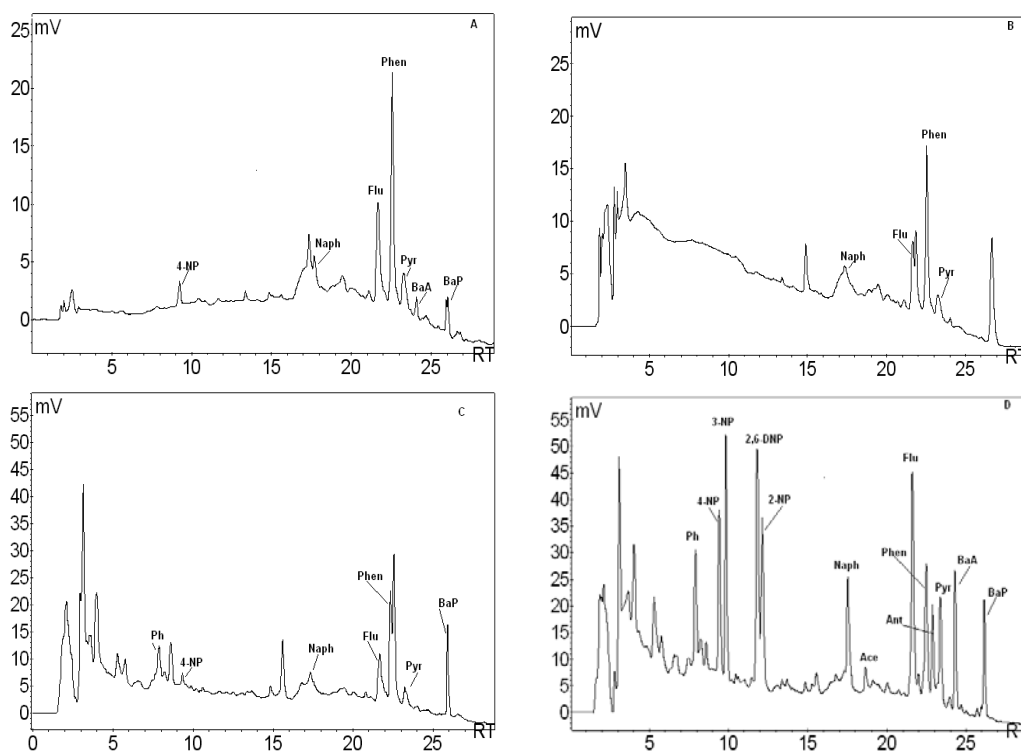


Fig. 13. Cromatograma HPLC a unor probe de apă de ploaie (A), apă de râu (B), apă uzată (C) și apă uzată contaminată cu amestec standard (nitrofenoli și HAP) (D) (după Beldean-Galea et al., 2014)

Tabel 5. Concentrația compușilor testați în probe de apă de ploaie, apă de râu și apă uzată (după: Beldean-Galea et al., 2014)

Compus	Concentrația ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	Apă de ploaie	Apă de râu	Apă uzată
Ph	Nd	Nd	9.25
2-NP	Nd	Nd	Nd
3-NP	Nd	Nd	Nd
4-NP	4.04	Nd	3.44
2,6-DNP	Nd	Nd	Nd
Naph	1.21	0.81	0.94
Ace	Nd	Nd	Nd
Flu	1.93	1.04	2.25
Phen	4.2	3.5	5.5
Ant	Nd	Nd	Nd
Pyr	0.91	0.30	0.81
BaA	0.36	Nd	Nd
BaP	0.57	Nd	1.91
Total PAHs	9.18	5.65	11.41

Nd – nedetectat

3.1.2. Prevalența și identificarea surselor de HAP în ape de suprafață

Un studiu mult mai complex privind prevalența HAP-urilor în compartimentele de mediu a fost realizat în cadrul proiectului NATO 984440 SfP intitulat "Un model de predicție și preveniție a posibilelor efecte dezastruoase ale poluării toxice în bazinul râului Tisa", elaborat între România și Ucraina. La acest proiect am fost directorul de proiect din partea țării membră NATO.

În cadrul proiectului, s-a monitorizat pe o perioadă de 11 luni concentrația a 16 HAP-uri în ape de suprafață și sedimente colectate din Bazinul românesc al Tisei.

Pentru identificarea și evaluarea surselor de emisii HAP s-au folosit rapoarte de diagnosticare bazate pe izomeri HAP. Aceste rapoarte permit identificarea posibilelor/potențialelor origini ale HAP, putând distinge între HAP-uri provenite din ardere (originea pirogenică) și deversarea de produse petroliere (originea petrogenică) (Yunker et al., 2002).

În studiul de față s-au folosit raportul de abundență de hidrocarburi cu 2-3 inele (hidrocarburi ușoare) și de hidrocarburi cu 4-6 inele (hidrocarburi grele) (LMW/HMW) (Zhang et al., 2008); raportul Antracen/(Antracen + Fenantren) (Yunker și colab., 2002), raportul Fluoranten/ (Fluoranten + Piren), Benz(a)antracen/(Benz(a)antracen + Crisen) și raportul Indeno(1,2,3-cd)-piren/(Indeno(1,2,3-cd)piren + Benzo(ghi)perilen) (Tobiszewski și Namiesnik 2012).

Analizele a 16 HAP-uri s-au efectuat prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC) cu detecție în fluorescență. Rezultatele obținute și rapoartele izomerice calculate pentru probele analizate sunt date în tabelele 6 și 7.

Tabel 6. Media concentrațiilor individuale, total HAP și rapoartele \sum_{LMW}/\sum_{HMW} , ANT/(ANT+PHE), și FLT/(FLT+PYR) în probele de apă analizate, (după Beldean-Galea et al. 2016)

Compus	Concentrația medie (ng L ⁻¹)		
	Vișeu	Iza	Tisza
NAP	29.89	29.69	5.54
ACE	0.49	0.42	0.68
FL	1.71	2.38	2.94
ANT	0.72	0.29	0.35
PHE	9.05	13.46	9.84
FLT	4.07	14.51	4.97
PYR	2.26	1.41	1.55
B[a]A	0.04	nd	0.28
CHR	0.00	0.21	0.17
B[b]F	0.41	1.26	1.08
B[k]F	0.24	nd	1.11
B[g,h,i]P	0.48	1.06	1.06
B[a]P	0.02	0.02	1.23
DB[a,h]A	0.11	nd	nd
INP	0.00	nd	0.79
Total PAH	49.73	64.71	31.59
\sum_{LMW}	42.08	46.23	19.35
\sum_{HMW}	7.65	18.36	12.24
\sum_{LMW}/\sum_{HMW}	5.50	2.52	1.58
ANT/(ANT+PHE)	0.073	0.021	0.034
FLT/(FLT+PYR)	0.64	0.91	0.76

Tabel 7. Media concentrațiilor individuale, total HAP și rapoartele ANT/(ANT+PHE), FLT/(FLT+PYR), B[a]A/(B[a]A + CHR) și INP/(INP + B[g,h,i]P) în probele de sedimente analizate (după: Beldean-Galea et al. 2016)

Compus	Concentration (μg kg ⁻¹)		
	Vișeu	Iza	Tisza
NAP	1.36	2.23	3.13
ACE	nd	0.15	0.23
FL	0.29	0.49	0.49
ANT	0.087	0.05	0.10
PHE	0.81	0.49	1.80

FLT	1.22	0.67	1.36
PYR	1.03	0.18	1.11
B[a]A	0.016	0.022	0.21
CHR	0.018	0.047	0.33
B[b]F	0.068	0.35	0.43
B[k]F	nd	nd	0.25
B[g,h,i]P	0.02	0.16	0.50
B[a]P	nd	0.052	0.28
DB[a,h]A	0.002	0.17	0.05
INP	0.016	0.019	0.36
Total PAH	4.94	5.03	10.62
Σ_{LMW}	2.55	3.41	5.75
Σ_{HMW}	2.39	1.67	4.88
$\Sigma_{LMW}/\Sigma_{HMW}$	1.07	2.04	1.18
ANT/(ANT+PHE)	0.097	0.093	0.053
FLT/(FLT+PYR)	0.54	0.79	0.55
B[a]A / (B[a]A + CHR)	0.47	0.32	0.39
INP/ (INP + B[g,h,i]P)	0.44	0.11	0.42

Analiza surselor de poluare cu HAP

Conform literaturii de specialitate, un raport $\Sigma_{LMW}/\Sigma_{HMW}$ mai mic sau egal cu 1 indică o contribuție pirogenică, în timp ce o valoare mai mare decât 1 indică o contribuție petrogenică (Zhang et al., 2008). Un raport $ANT/(ANT + PHE)$ mai mic sau egal cu 0,1 indică o contribuție petrogenică și un raport mai mare de 0,1 indică una pirogenică. Un raport de $FLT/(FLT + PYR)$ mai mic de 0,4 indică deversare de petrol; un raport între 0,4 și 0,5 sugerează arderea combustibililor fosili, iar un raport mai mare de 0,5 implică combustie de biomasă și cărbune. Un raport $BaA/(BaA + Chr)$ mai mic de 0,2 indică contribuție petrogenică; 0,2-0,35 indică arderea petrolului (combustibil lichid fosil și țiței) și $> 0,35$ indică combustie de biomasă și cărbune. Un raport $InP/(InP + BgP)$ mai mic de 0,2 indică o contribuție petrogenică, 0,2-0,5 arderea de petrol și peste 0,5 indică arderea de cărbune, iarbă și lemn (Yunker et al, 2002).

Pentru probele de apă, raportul $\Sigma_{LMW}/\Sigma_{HMW}$ sugerează că, în râurile Vișeu și Iza, sursele petrogenice sunt dominante, în timp ce în râul Tisa sunt mai frecvente sursele pirogenice.

Din graficul încrucișat al rapoartelor izomerice ale $ANT/(ANT + PHE)$ versus $FLT/(FLT + PYR)$, se observă că principalele surse de poluare în toate râurile studiate combină amestecurile de scurgeri de produse petroliere și arderea de biomasă și cărbune (Figura 14).

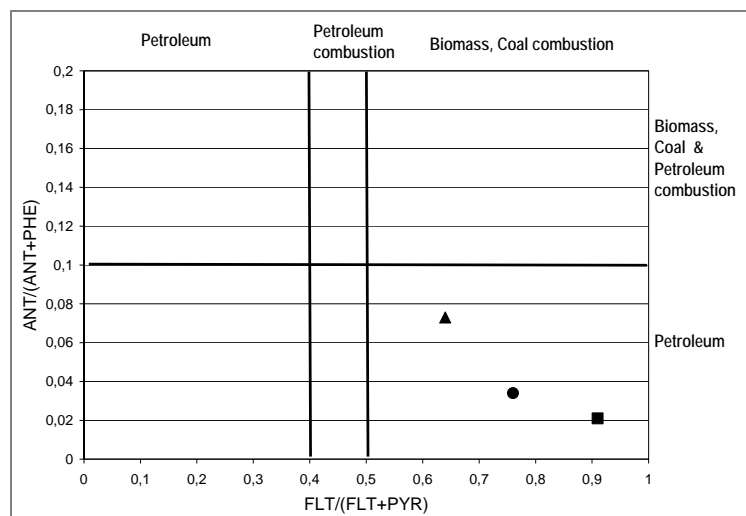


Fig. 14. Graficul încrucișat al rapoartelor izomerice $ANT/(ANT + PHE)$ versus $FLT/(FLT + PYR)$ în probele de apă analizate (valori medii) (▲ – Râul Vișeu, ■ – Râul Iza, ● – Râul Tisza (după Beldean-Galea et al., 2016)

Pentru probele de sedimente, rezultatele sugerează că sursele de poluare cu HAP-uri sunt mixte și includ surse petrogenice și pirogenice.

Astfel, din graficul încrucișat al raporturilor izomerice ale $ANT/(ANT + PHE)$ versus $FLT/(FLT + PYR)$ (Figura 15) se poate concluziona că sursele de poluare din toate probele de sedimente de râu studiate sunt similare cu cele obținute pentru probele de apă și combină scurgerilor de produse petroliere cu arderea de biomasă și cărbune.

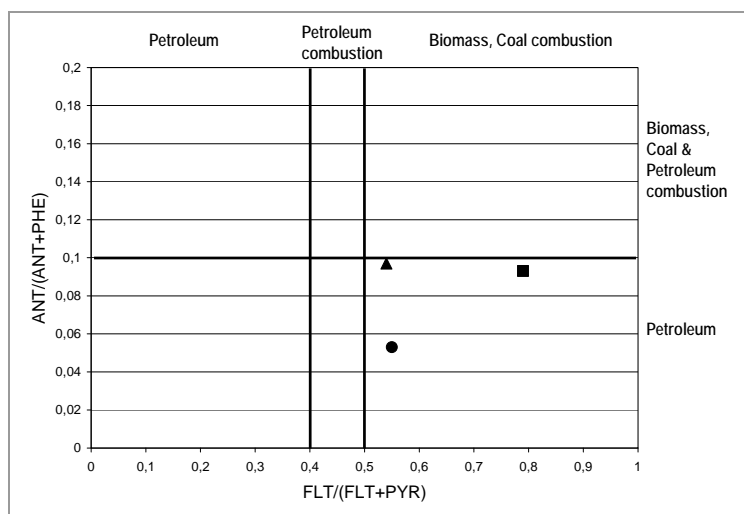


Fig. 15. Graficul încrucișat al rapoartelor izomerice $ANT/(ANT + PHE)$ versus $FLT/(FLT + PYR)$ în probe de sedimente (▲ – Râul Vișeu, ■ – Râul Iza, ● – Râul Tisza) (după Beldean-Galea et al., 2016)

Din graficul încrucișat al rapoartelor izomerice $B[a]A/(B[a]A + CHR)$ versus $IND/(IND + B[g,h,i]P)$ se observă că în râul Iza, originea HAP are o amprentă de ardere a petrolului și scurgerile petroliere, în timp ce în râurile Vișeu și Tisa sunt dominante combustia petrolieră, și arderea biomasei și a cărbunelui.

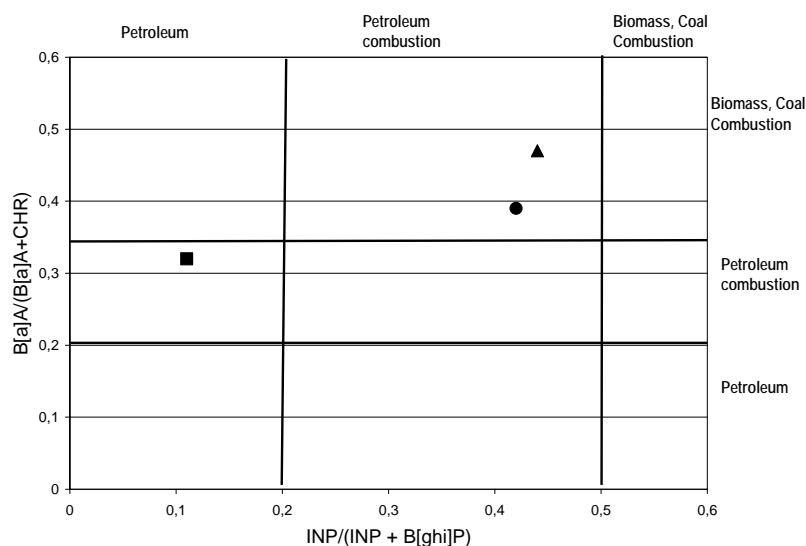


Fig. 16. Graficul încrucișat al rapoartelor izomerice $B[a]A/(B[a]A + CHR)$ versus $INP/(INP + B[g,h,i]P)$ în probe de sedimente (▲ – Râul Vișeu, ■ – Râul Iza, ● – Râul Tisza) (după Beldean-Galea et al., 2016)

Ținând cont de rezultatele discutate mai sus, o concluzie rezonabilă pentru studiul efectuat este că, în zona studiată, amprenta HAP-urilor pentru probele de sediment și apă este legată de activitățile antropice. Astfel, amprenta petrogenică este rezultatul activității de extracție a pietrișului din zona investigată și a unei îndepărtări ineficiente a acestora în timpul epurării apelor reziduale, în timp ce amprenta pirogenică este dată în principal de arderea lemnului și cărbunelui necesar la încălzirea locuințelor.

3.1.3. Evaluarea poluării atmosferice urbane cu HAP folosind biomonitori și analiza HPLC

Un studiu similar celui precedent ce vizează identificarea surselor de poluare cu HAP-uri a fost efectuat de Beldean-Galea și colab. (2016) și a constatat în utilizarea ca biomonitor al HAP a specie de copac larg răspândită în întreaga lume, *Thuja occidentalis*. Scopul studiului a fost monitorizarea poluării atmosferice a HAP în Cluj-Napoca și identificarea surselor de poluare pe baza unor rapoarte izomerice.

Au fost selectate cinci puncte reprezentative de monitorizare amplasate în zonele urbane (P1), suburbane (P5), trafic intens (P2, P3) și rezidențiale (P4). Conținutul total a zece HAP-uri (naftalină, acenaftenă, antracen, fenantren, fluoranten, piren, crisen, benzo(a)piren, indeno (1,2,3-cd)-piren) a fost analizat în frunze de *Thuja occidentalis*. Extracția compușilor țintă a fost efectuată prin extracție asistată de ultrasunete, iar analiza s-a efectuat prin HPLC.

Pentru identificarea surselor de poluare s-au folosit următoarele rapoarte: Raportul de abundență $\Sigma_{LMW}/\Sigma_{HMW}$, abundența produșilor de combustie și total HAP ($\Sigma_{COMB} / \Sigma_{Total}$), respectiv rapoartele ANT/(ANT + PHE), FLT/(FLT + PYR), B[a]A/ B[a]A + CHR și PYR/B[a]P.

Rezultatele au arătat că conținutul de HAP-uri din frunzele *Thuja* poate fi corelat cu locația punctului de prelevare. Astfel, conținutul total de HAP în frunze uscate s-a situat între 58,45 și 537,74 ng/g, cu concentrații maxime în zone cu trafic intens și concentrații mai scăzute în zona suburbană (tabelul 8).

Tabel 8. Concentrația de HAP în frunze de *Thuja* în punctele de monitorizare și rapoartele izomerice (după Beldean-Galea et al., 2016)

Compusul	Puncte de prelevare/ Concentrația [ng/g] frunză uscată				
	P1	P2	P3	P4	P5
NAP	33.49	60.04	43.48	30.87	13.36
ACE	30.91	35.65	23.26	19.73	7.81
ANT	0.58	4.73	0.51	0.24	0.73
PHE	2.93	7.46	1.54	1.65	0.23
FLT	2.93	10.54	2.96	1.77	0.37
PYR	6.24	10.84	3.28	1.46	0.22
B[a]A	5.72	7.05	5.61	4.79	3.95
CHR	141.8	105.17	69.63	15.3	9.25
B[a]P	143.04	134.18	89.25	30.54	10.46
IND	170.1	156.34	86.95	44.39	12.3
Total HAP	537.74	532	326.47	150.74	58.45
$\Sigma_{LMW}/\Sigma_{HMW}$	0.14	0.25	0.27	0.53	0.61
$\Sigma_{COMB}/\Sigma_{Total}^*$	0.87	0.78	0.78	0.64	0.62
FLT/(FLT+PYR)	0.32	0.49	0.47	0.55	0.63
ANT/(ANT+PHE)	0.17	0.39	0.25	0.13	0.76
B[a]A/(B[a]A+CHR)	0.04	0.05	0.06	0.14	0.27
PYR/B[a]P	0.04	0.08	0.04	0.05	0.02

* $\Sigma_{COMB} - (PYR, B[a]A, CHR, B[a]P, IND)$

Referitor la sursele de poluare atmosferică cu HAP-uri, raportul $\Sigma_{LMW}/\Sigma_{HMW}$ versus $\Sigma_{COMB}/\Sigma_{Total}$ ne indică faptul că în punctele de monitorizare cu trafic intens (P1-P3) sursele de poluare sunt pirogenice și au ca rezultat combustia, în timp ce în punctele de monitorizare P4 și P5 contribuția combustiei este mai mică (Figura 17).

Din raportul ANT/(ANT + PHE) versus FLT/(FLT + PYR) (Figura 18) se poate concluziona că sursele de poluare în punctele de monitorizare sunt pirogenice și sunt derivate din arderea de biomasă, cărbune și petrol.

Raportul B[a]A/(B[a]A + CHR) sugerează că în punctele de monitorizare P1-P4 apar emisii petrogenice, în timp ce în P5 apar emisii pirogenice. Raportul PYR/B[a]P sugerează emisii de ardere din motoare pe benzină, valorile obținute fiind sub 1 pentru toate punctele de monitorizare.

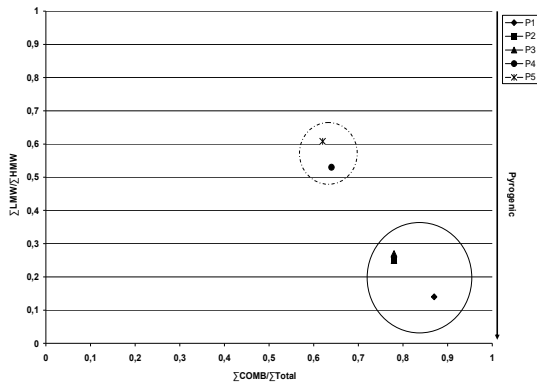


Fig. 17. Graficele încrucișate pentru rapoartele $\Sigma_{LMW}/\Sigma_{HMW}$ versus $\Sigma_{COMB}/\Sigma_{Total}$ (Beldean-Galea et al., 2016b)

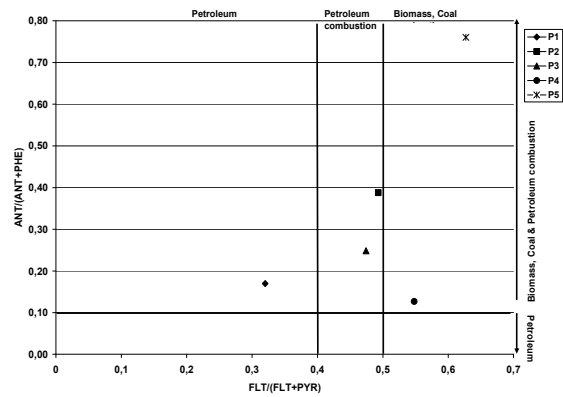


Fig. 18. Graficele încrucișate pentru rapoartele $ANT/(ANT+PHE)$ versus $FLT/(FLT+PYR)$ (Beldean-Galea et al., 2016b)

3.2. Evaluarea conținutului de erbicide triazinice în diferite probe de mediu

Având în vedere faptul că recent Comisia Europeană a introdus atrazina și simazina în lista substanțelor prioritare, au fost efectuate studii cu privire la prevalența unor pesticide triazinice în diverse probe de mediu (probe de apă de fântână, respectiv probe de miere de albină) (Drăguș et al., 2012, Drăguș & Beldean-Galea, 2015).

3.2.1. Evaluarea conținutului de erbicide triazinice în probe de apă

Pentru a evalua impactul asupra sănătății umane, au fost măsurate concentrațiile de erbicide triazinice în diferite probe de apă de fântână colectate din două regiuni ale Transilvaniei (zonele Turda și Sighișoara). În timp ce în zona Turda, principala activitate agricolă o reprezintă culturile de cereale, în zone Sighișoara aceste activități sunt limitate, iar activitatea principală este creșterea animalelor.

Erbicidele triazinice (atrazină, simazina, trietazina și propazina) au fost extrase din probele de apă prin extracție pe fază solidă și analizate prin HPLC cu detecție în UV. În figura 20 sunt prezentate cromatograma amestecului etalon și cromatograma unei probe de apă de fântână în care se poate observa prezența atrazinei.

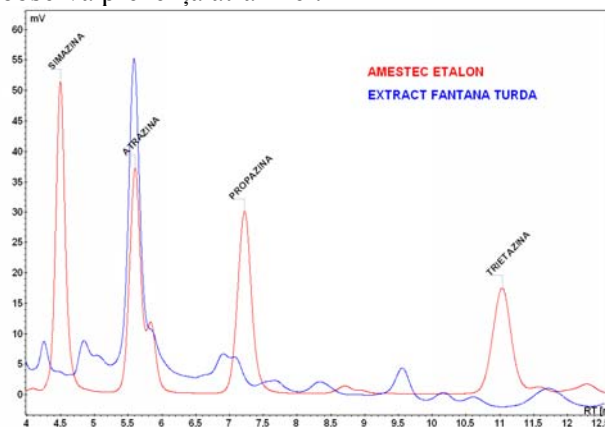


Fig. 20. Cromatogramele triazinelor analizate (culoarea roșie - amestec standard, culoarea albastră - probă de apă de fântână) (după Drăguș, Beldean-Galea et al., 2012)

Rezultatele studiului au arătat că toate probele de apă au fost contaminate cu erbicide triazinice. Cele mai des întâlnite au fost atrazina într-un interval de concentrație de 3,07 și 8,07 $\mu\text{g/L}$ și propazina în intervalul <0,05 și 2,87 $\mu\text{g/L}$. Cea mai mare concentrație de atrazină a fost găsită în apa de fântână din Ploscoș (8,07 $\mu\text{g/L}$), în timp ce cea mai scăzută în proba de apă

prelevată din Criș-Sighișoara (4,6 µg/L). Simazina a fost găsit în intervalul <0,05 și 0,15 µg /L, dar numai în probele colectate din zona Turda, în timp ce trietazina a fost detectată într-o singură probă prelevată de la un izvor din Turda (Tabelul 10).

Tabel 10. Concentrațiile de erbicide triazinice găsite în probele de apă (după Drăguș, Beldean-Galea et al., 2012)

Punctul de prelevare	Simazină (µg/L)	Atrazină (µg/L)	Propazină (µg/L)	Trietazină (µg/L)	Suma (µg/L)
Turda					
Râul Arieș	0.15	3.07	0.2	nd	3.42
Fântână Turda	0.1	7.5	2.87	nd	10.47
Izvor Turda	0.1	6.6	0.22	0.07	6.99
Lac Turda	nd	5.8	0.2	nd	6
Fântână Ploscoș-Turda	nd	8.07	nd	nd	8.07
Sighișoara					
Fântână Viscri-Sighișoara	nd	5.2	nd	nd	5.2
Fântână Criș-Sighișoara	nd	4.6	nd	nd	4.6
Fântână Saschiz-Sighișoara	nd	5.47	nd	nd	5.47
MAC potrivit EPA- USA	3	4	*	*	*
MAC România (Legea apei potabile)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5

nd – nedetectat

*- limită nestabilită

Studiul a arătat prezența erbicidelor triazinice provenite din agricultură în apele de suprafață și cele subterane. Legislația română limitează concentrația maximă admisă a pesticidelor individuale în apa de băut la 0,1 µg /L și suma totală a pesticidelor la 0,5 µg /L, iar concentrațiile măsurate în apele din studiu au fost situate cu mult peste aceste valori. Acest lucru poate reprezenta un risc grav pentru sănătatea umană. Unele persoane, în special în zonele rurale, nu sunt informate cu privire la riscurile consumului de apă netratată. Deși riscul pentru oameni va fi redus datorită extinderii sistemelor centralizate de apă în zonele rurale, prezența pesticidelor în apa de băutură trebuie monitorizată periodic.

3.2.2. Evaluarea conținutului de erbicide triazinice în probe de miere

Pentru o mai bună evaluare a impactului utilizării erbicidelor triazinice în agricultură asupra conținutului lor în mierea de albine, au fost luate în studiu trei zone din România și anume Transilvania (județul Cluj și județul Bistrița-Năsăud) unde se practică agricultura tradițională, respectiv Moldova (județul Vaslui) și Dobrogea (județul Tulcea), unde se practică agricultura modernă.

Au fost luate în studiu patru tipuri de miere; flori de salcâm (probele 3C, 8V, 9V și 11V), floarea soarelui (probele 5T, 7V și 10V), flori de rapiță (probele 4T și 12V) și polifloră (probele 2C, 13V și 14B).

Erbicidele triazinice (simazină, prometon, atrazină, ametrină, propazină, prometrin și terbutrin) au fost extrase din probele de miere prin extracție pe fază solidă, după dizolvarea mierii în apă distilată. Analiza s-a făcut prin HPLC cu detecție în UV.

Rezultatele probelor analizate au arătat că nivelul concentrațiilor erbicidelor triazinice din probele de miere depind de zona de prelevare (tabelul 13).

Astfel, cele mai mari cantități de erbicide triazinice s-au găsit în probele colectate din zonele Dobrogea și Moldova, unde se practică agricultura modernă, care implică utilizarea pesticidelor pentru tratarea plantelor. Concentrațiile găsite au fost cuprinse între 50,2 și 102,11 µg/kg în județul Tulcea (probe 4T, 5T) și între 80,67 și 997,54 µg/kg în județul Vaslui (probe 7V, 8V, 9V, 10V, 11V, 12V, 13V).

Concentrațiile cele mai scăzute, cuprinse între 4,97 și 6,84 µg/kg au fost găsite în probele de miere colectate din județul Cluj (proba 2 C și 3 C), în timp ce în eșantionul colectat din județul Bistrița-Năsăud (eșantion 14 B) triazinele nu au fost detectate. În aceste două regiuni se

practică agricultura tradițională, iar cantitatea de pesticide care se utilizează pentru tratarea plantelor este scăzută sau lipsește în întregime.

Concentrațiile ridicate de erbicide triazinice găsite în probele de miere de salcâm (probă 8V, 9V, 11V) pot fi explicate prin faptul că înflorirea salcâmului corespunde perioadei în care aceste erbicide au fost aplicate pe cultura de porumb.

Tabel 13. Prezența erbicidelor triazinice în probele de miere de albină analizate (după Drăguș & Beldean-Galea, 2015)

Cod probă	Concentrația ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							
	Simazină	Prometon	Atrazină	Ametrin	Propazină	Prometrin	Terbutrin	Total
2 C	nd	nd	1.19	nd	5.65	nd	nd	6.84
3 C	nd	nd	4.97	nd	nd	nd	nd	4.97
4 T	50.20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	50.20
5 T	34.59	26.08	11.18	16.34	13.92	nd	nd	102.11
7 V	80.49	nd	nd	nd	nd	nd	34.58	115.07
8 V	58.56	54.96	nd	nd	nd	nd	nd	113.52
9 V	3.80	7.80	75.97	60.29	88.74	nd	15.00	251.6
10 V	116.05	31.66	nd	nd	20.04	nd	nd	167.75
11 V	82.05	17.15	nd	nd	4.78	nd	nd	103.98
12 V	32.73	nd	nd	nd	nd	nd	47.94	80.67
13 V	490.0	507.5	nd	nd	nd	nd	nd	997.5
14 B	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-

nd- nedetectat

Acest studiu a arătat prezența erbicidelor triazinice în probele de miere în concentrații care depind de zona de prelevare. Cel mai mare conținut de triazine care depășește cadrul de reglementare al UE a fost găsit în probele colectate din Moldova și Dobrogea, zone în care se practică agricultura modernă. În zona Transilvaniei, unde se practică agricultura tradițională, conținutul de triazine nu depășește cerințele UE, iar prezența erbicidelor triazinice din proba de miere de salcâm și polifloră dovedește mobilitatea acestor substanțe chimice în compartimentele de mediu.

4. Dezvoltarea de tehnici cromatografice bidimensionale și cuplate pentru analiza probelor de mediu complexe

Interesul meu față de acest subiect s-a născut în anul 2006, imediat după susținerea tezei de doctorat, când am avut posibilitatea de a face un stagiu postdoctoral de cinci luni la École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielle de la Ville de Paris (ESPCI), Franța, unde am fost inițiat în cromatografia bidimensională de gaze. Ulterior acestui stagiu au fost dezvoltate diferite colaborări în cadrul a trei proiecte bilaterale și stagii de cercetător invitat. Interesul meu s-a concentrat pe dezvoltarea protocoalelor GCxGC pentru analiza probelor de mediu complexe. Ca urmare a acestor colaborări au fost publicate în reviste prestigioase cinci articole științifice (Beldean-Galea et al., 2014; Beldean-Galea et al., 2013a; Beldean-Galea et al., 2013b; Beldean-Galea et al., 2012; Vial et al., 2010). Rezultatele pot fi rezumate astfel:

4.1 Caracterizarea soartei lipidelor în stații de epurare a apelor uzate folosind GCxGC-qMS

Am ales să folosim tehnica GCxGC-qMS pentru a studia comportamentul și mecanismul de îndepărtare al grăsimilor în timpul procesului de epurare a apelor uzate deoarece grăsimile și uleiurile sunt probe de complexitate ridicată, în esență trigliceride, constând din acizi grași saturați și polinesaturați, cu catenă liniară, atașați ca esteri la glicerină.

Mai mult în procesele de epurare a apelor reziduale, comportamentul exact al lipidelor în timpul epurării nu este foarte bine înțeles, fiind încă o provocare pentru cercetători (Chipasa & Medrzycka, 2008).

Pentru acest studiu au fost luate în considerare trei stații de epurare din România, echipate diferit. Astfel, stația de epurare nr. 1 conținea numai treaptă fizică, stația de epurare nr. 2 conținea treaptă fizică și biologică, iar stația nr. 3 conținea treaptă fizică, separator de grăsimi și treaptă biologică.

Eficiența eliminării grăsimilor în stațiile de epurare a fost evaluată prin conținutul de acizi grași din grăsimile probelor de apă colectate la intrarea și ieșirea din stațiile de epurare (probe medii de 8 ore).

Analizele de esteri metilici ai acizilor grași (FAME) s-au efectuat pe un cromatograf de gaze (Thermo Trace GC×GC echipat cu un modulator criogenic cu CO₂) cuplat cu un spectrometru de masă quadrupolar. Pentru analize s-a folosit un amestec de 37 de esteri metilici ai acizilor grași. Cromatograma amestecului FAME este prezentată în figura 23.

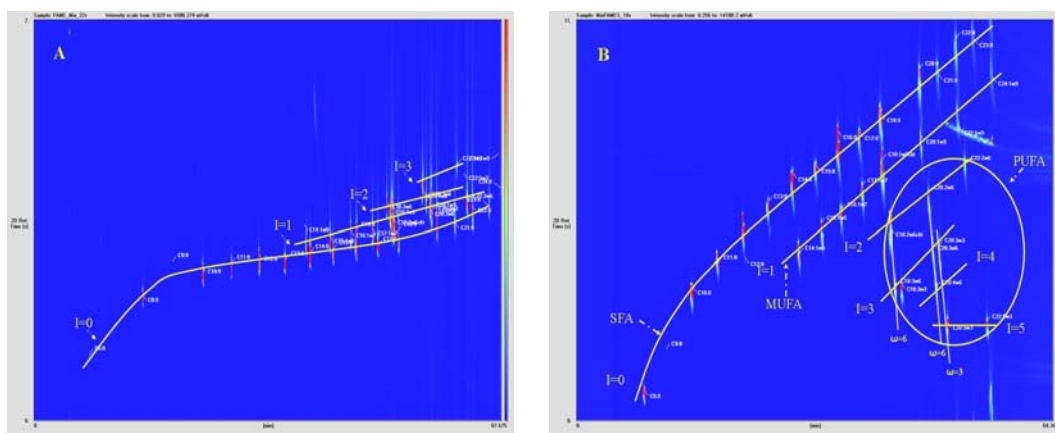


Fig. 23. Cromatogramele GCxGC ale amestecului standard obținute prin set ortogonal convențional de coloane (A) și set ortogonal invers de coloane (B), unde I=0, I=1, I=2, I=3, I=4, I=5 reprezintă numărul legăturilor duble, iar ω6 și ω3 poziția legăturilor duble (după Beldean-Galea et al. 2013).

Grăsimile au fost extrase cu cloroform și supuse unei etape de derivatizare pentru obținerea esterilor metilici de acizi grași. Cromatograma GCxGC a extractului unei probe reale de apă uzată este prezentată în figura 24.

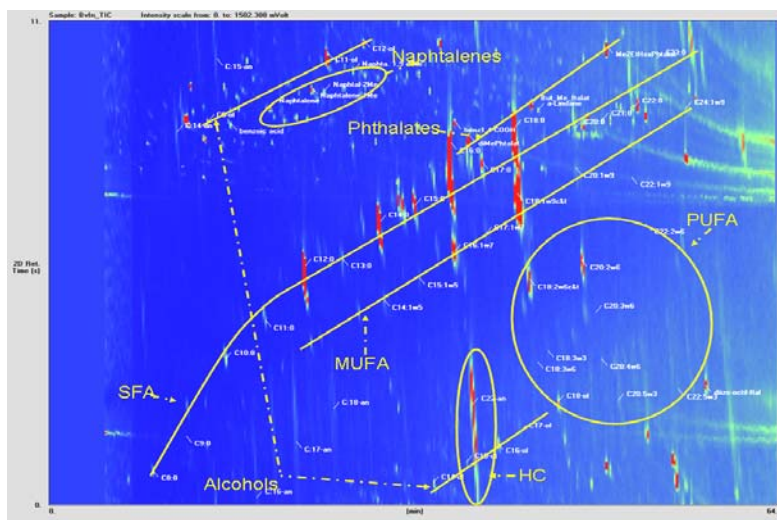


Fig. 24. Cromatograma GCxGC a unui extract de apă uzată cu vizualizarea unor clase variate de compuși (după Beldean-Galea et al. 2013)

Evaluarea capacității de eliminare a grăsimilor în stațiile de epurare selectate s-a făcut în diverse moduri. Prima evaluare a fost efectuată prin cuantificarea conținutului de grăsimi în influenții și efluenții fiecărei stații. Rezultatele studiului nostru au arătat că eficiența eliminării grăsimilor depinde de tipul de sisteme utilizate în stațiile de epurare. Astfel, cea mai mare eficiență (83,3%) a fost obținută pentru stația de epurare care conține toate treptele de epurare (treaptă fizică, separator de grăsimi și treaptă biologică), în timp ce cea mai mică eficiență (28,1%) a fost obținută pentru stația de epurare ce conținea numai treapta fizică.

Acest mod de evaluare nu a fost mulțumitor pentru că nu dă informații despre compoziția grăsimilor. În acest sens acizii grași au fost grupați în trei familii și anume acizi grași saturați (SFA), mononesaturați (MUFA) și polinesaturați (PUFA). Analiza compoziției grăsimilor la intrarea și la ieșirea din stația de epurare arată o modificare a compoziției grăsimilor, modificare care diferă de la o stație la alta (Figura 25).

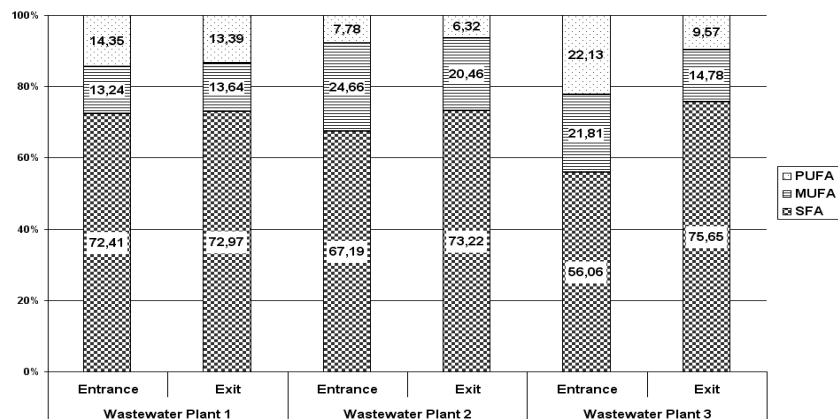


Fig. 25. Compoziția grăsimilor în influentul și efluentul stațiilor de epurare studiate (după Beldean-Galea et al., 2013)

Rezultatele oferă câteva aspecte esențiale ale mecanismului de eliminare a grăsimilor în timpul procesului de epurare. Astfel, în cazul stațiilor care conțin numai treaptă fizică, mecanismul de îndepărtare constă doar în adsorbția grăsimilor pe particulele în suspensie. În cazul stațiilor de epurare care conțin o treaptă biologică, mecanismul de eliminare combină adsorbția grăsimilor pe particulele în suspensie cu biodegradarea grăsimilor în treapta biologică.

Studiul a mers mai în profunzime și a vizat identificarea tipului de acizi grași care suferă cele mai mari transformări pe durata procesului de epurare. În acest sens s-a cuantificat individual fiecare acid gras, atât în influent cât și în efluent, iar o analiză statistică (ANOVA) a fost făcută cu scopul de a scoate în evidență modificările semnificative.

Rezultatele au arătat că în stația de epurare care conține o treaptă biologică, procentul unor acizi grași nesaturați, cum ar fi C_{20:2ω6}, C_{18:2ω6c&t}, C_{18:1ω9c&t} și C_{16:1ω7} scade în timpul tratamentului biologic, iar acizii grași precum C:22, C:18, C:16 C:14 și C:12 cresc.

Dacă luăm în considerare faptul că în grăsimile analizate numai concentrația de C:24 scade în timpul tratării apelor reziduale, presupunem că creșterea procentului C:18, C:16, C:14 și C:12 este rezultatul altor procese de bioconversie microbiană care apar în nămolul activ și care au ca rezultat conversia principalilor acizi grași nesaturați (C_{20:2ω6}, C_{18:2ω6c&t} C_{18:1ω9c&t} și C_{16:1ω7}) în acizi grași saturați. O creștere a concentrației de C:9 a fost de asemenea observată în timpul tratamentului biologic și în absența unui acid gras nesaturat C:11, presupunem că acest acid a fost produs din acizi grași cu număr de atomi de carbon mai mare, cum ar fi C:13 și C:15. Schimbarea conținutului de acizi grași individuali în timpul tratamentului biologic a fost raportată și de alți autori (Chipasa & Medrzycka, 2008) care sugerează că această modificare ar putea fi rezultatul consumului continuu de acizi grași ca substraturi de către microorganismele, precum și eliberarea lor în apele uzate ca produse secundare. De fapt, eliberarea lipidelor în apele uzate apare întotdeauna în toate fazele de creștere microbiană, iar din acest punct de vedere, evaluarea mecanismului de eliminare a grăsimilor necesită o analiză detaliată a compoziției grăsimilor în toate etapele tratamentului.

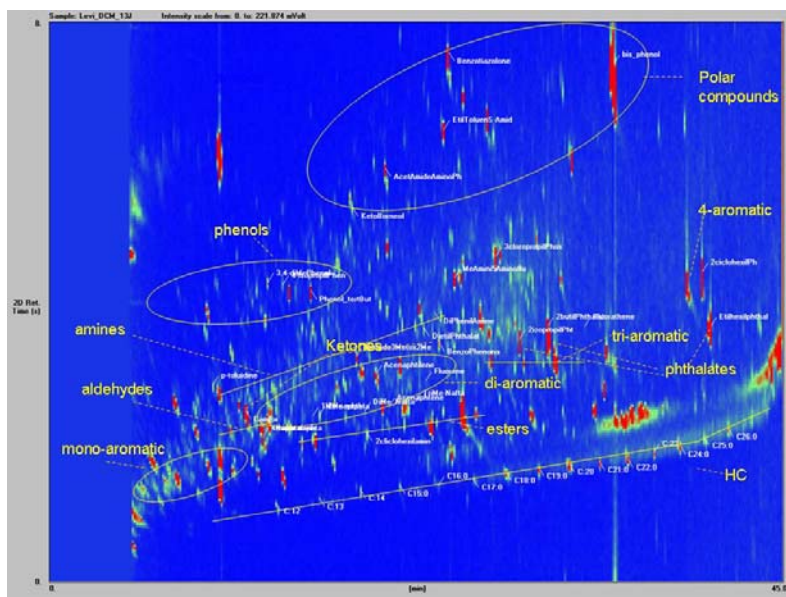


Fig. 28. Cromatograma GCxGC a unui extract de levigat (după Beldean-Galea et al., 2013)

Așa cum se poate observa în figura 28, levigatul de deșeuri municipale cuprinde un număr imens de compuși organici care sunt dificil de separat într-o singură analiză utilizând cromatografia convențională. Se poate observa, de asemenea, că în compoziții identificate cei mai prevalenți sunt compușii nepolari, cum ar fi hidrocarburile și alchilbenzenii și compușii cu polaritate scăzută sau medie, cum ar fi hidrocarburile aromatice policiclice, esterii, aldehydele, cetonele și ftalații. Au fost identificate și alte clase de compuși polari, cum ar fi amine, amide sau fenoli.

Mai mult, cuplarea tehnicii GCxGC cu spectrometria de masă a dat posibilitatea identificării altor compuși care nu au fost incluși în amestecul standard, cum ar fi diferiți ftalați, fenoli, tioamide etc. Compușii identificați conform spectrelor de masă sunt prezentați detaliat în teza de abilitare.

4.3. Dezvoltarea de metode pentru analiza produșilor secundari de degradare Fenton a medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene în matrice apoase

Studiile de specialitate au arătat că pentru o serie de poluanți organici tehnicile de epurare convenționale au o eficiență scăzută de eliminare, fapt ce duce la deversarea acestora în cursurile de apă de suprafață și implicit la o creștere a expunerii la acești poluanți.

În ultima perioadă s-a încercat a se găsi modalități noi de eliminare a acestor poluanți refractari, iar procesele de oxidare avansată (AOP) par să fie o bună alegere. Aceste procese reprezintă un grup de procese de tratare a compușilor refractari care utilizează specii oxidative (O_3 , $\bullet OH$, clor etc.) pentru mineralizarea compușilor organici în CO_2 și H_2O (Litter, 2005). Diferite AOP-uri, cum ar fi oxidarea cu ozon, apă oxigenată H_2O_2/UV , Fe^{2+}/H_2O_2 (Fenton) sau (photo-Fenton) au fost aplicate. Dintre acestea cea mai aplicată și mai promițătoare este oxidarea Fenton, deoarece reactivii utilizați în această metodă sunt ieftini, ușor de manipulat și ecologici (Litter, 2005).

Cercetările efectuate de mine și colegii mei în acest domeniu (Beldean-Galea et al., 2014; Beldean-Galea et al., 2015) s-au axat pe două clase de poluanți, cum ar fi plastifianții (ftalații) și medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (NSAID).

Noutatea studiului a constat în aplicarea cromatografiei bidimensionale de gaze cuplată cu spectrometria de masă (GC×GC-qMS) pentru identificarea simultană a unui număr mare de produși de degradare Fenton a antiinflamatoarelor selectate (diclofenac, ibuprofen și ketoprofen).

Rezultatele analizelor GC×GC-qMS au arătat că tehnica propusă permite identificarea unui număr mare de produși secundari de degradare care se formează în timpul oxidării Fenton. Astfel, au fost identificați 12 compuși de degradare pentru diclofenacului, 13 pentru ibuprofen și 9 pentru ketoprofen (Figura 29).

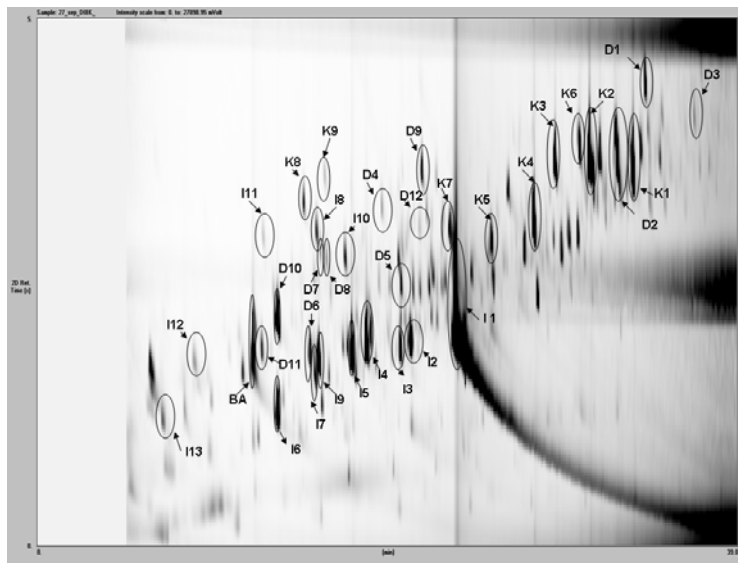


Fig. 29. – Cromatograma GC×GC a produșilor de degradare Fenton identificați pentru diclofenac, ibuprofen și ketoprofen (după Beldean-Galea et al., 2014)

Dintre produșii secundari de degradare ai diclofenacului, patru dintre acești precum benzen-1,3-diclor-2-izocianat (D6); 2,6-dicloronitrobenzen (D7); 2,6-diclorfenil izocianidă (D8) și N-(2,6-diclorfenil) formamidă (D9), s-au identificat pentru prima dată, nefiind niciodată menționați în literatura de specialitate referitoare la degradarea Fenton a diclofenacului. Alți compuși care nu pot fi identificați din cauza limitărilor de performanță ale instrumentului pot fi de asemenea vizualizați pe cromatogramă.

În ceea ce privește eficiența procesului de oxidare Fenton asupra antiinflamatoarelor selectate, experimentele efectuate au arătat că procesul Fenton este lent și timpul necesar pentru degradarea lor completă este lung. În figura 30 sunt prezentate cromatogramele GC×GC obținute după 30, 60 și 120 minute de degradare Fenton.

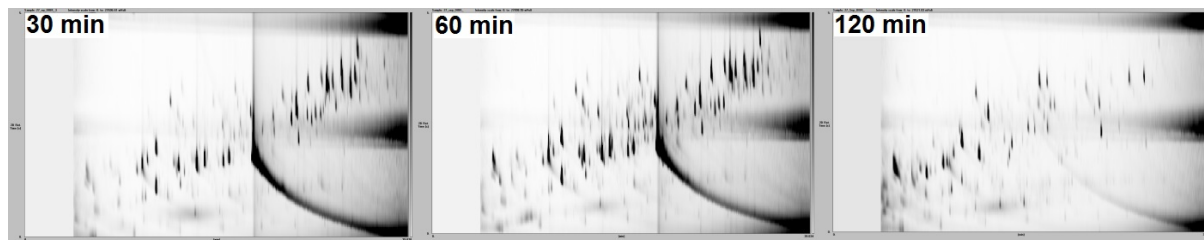


Fig. 30. Evoluția procesului de degradare Fenton a NSAIDs selectate (după Beldean-Galea et al., 2014)

Ca o concluzie a acestor studii se poate afirma că o alternativă convenabilă pentru monitorizarea proceselor de oxidare avansată poate fi cromatografia bidimensională de gaze datorită capacității ei de a analiza într-o singură etapă compuși cu proprietăți fizico-chimice diferite. Mai mult, cuplarea acestei tehnici cu spectrometria de masă dă posibilitatea identificării un număr foarte mare de produși secundari de degradare și poate furniza suficiente date pentru a estima un mecanism real de degradare a compușilor organici în procese de oxidare avansată.

5. Dezvoltarea de metode de extracție miniaturizate pentru analiza unor clase diferite de poluanți organici

Tehnicile miniaturizate de extracție au căpătat în ultimul timp o atenție deosebită datorită faptului că utilizează volume mici de probă și de extractant și în același timp reduc considerabil timpul de analiză.

Microextracția în fază solidă bazată pe solidificarea solventului de extracție (DLLME-SFO) a fost aplicată de mine și colaboratorii mei în cadrul Proiectului Bilateral România-Franța, Programul Brancusi, Proiectul nr. 774/2014, pentru analiza medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene în probe de apă (Beldean-Galea et al., 2016) și a pesticidelor triazinice în probe de sol (Drăguș et al., 2015). De altfel, acesta este și cel mai nou domeniu de cercetare abordat și intenționez să cuplez aceste tehnici de microextracție cu tehnicile de analiză multidimensionale cu scopul de a reduce la minim timpul necesar analizelor și de a obține maximum de informații într-o singură analiză. Rezultatele obținute în această direcție de cercetare sunt prezentate în continuare.

5.1. Microextracția în fază lichidă în analiza medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene

O metodă DLLME-SFO pentru extracția a patru medicamente antiinflamatoare nesteroidiene (ketoprofen, naproxen, ibuprofen și diclofenac) din probe de apă a fost dezvoltată de Beldean-Galea și colab. (2016) și aplicată la analiza acestor compuși în probe de apă uzată. Analiza compușilor s-a făcut prin HPLC, iar detecția prin UV.

O serie de parametri de extracție precum influența tipului și a volumului de solvent de extracție, a tipului și a volumului de solvent de dispersie, tăria ionică a probei și pH-ul probei au fost studiate și optimizate. În final o metodă de extracție (DLLME) și analiză (HPLC) au fost validate și aplicate la probe reale. Rezultatele obținute arată că protocolul dezvoltat poate fi aplicat la analiza antiinflamatoarelor selectate în probe de apă uzată (figura 36).

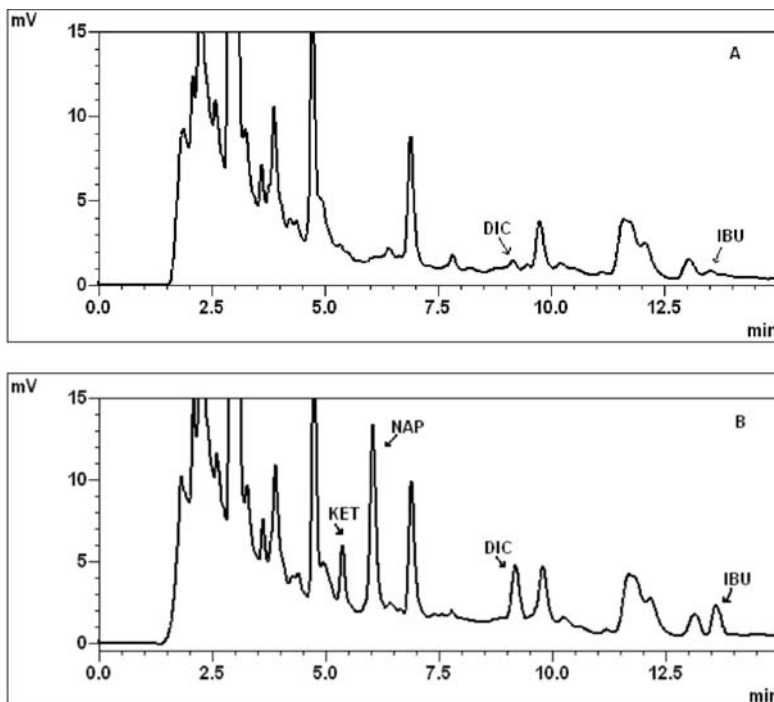


Fig. 36. Cromatogramele unor probe de apă uzată (A) și apă uzată contaminată cu amestec standard (B). Condiții de extracție: 10 mL probă de apă, pH 2, 0.5 g NaCl, 150 μ L solvent de dispersie (acetonitril), 30 μ L solvent de extracție (1-undecanol) (după Beldean-Galea et al., 2016)

5.2. Microextracția în fază lichidă în analiza pesticidelor triazinice

Microextracția în fază lichidă poate fi aplicată atât pentru probe lichide cât și pentru probe solide. O metodă bazată pe DLLME-SFO pentru analiza a șapte pesticide triazinice (simazină, prometon, atrazină, ametryn, propazină, prometryn, terbutrin) în probe de sol a fost dezvoltată de către Andreea Drăguș sub îndrumarea mea pe durata stagiului de pregătire doctorală.

Procedura a constat în utilizarea extracției asistate de ultrasunete (USAE) ca metodă de extracție a celor șapte pesticide triazinice din probele de sol urmată de microextracția în fază lichidă (DLLME-SFO) ca metodă de purificare și concentrare a extractului (Drăguș et al., 2014).

O serie de factori care influențează USAE, precum tipul solventului de extracție și DLLME-SFO, precum tăria ionică a probei și pH-ul, au fost studiați și optimizați. Analizele s-au efectuat prin HPLC cu detecție în UV. Cele mai bune condiții experimentale obținute pentru extragerea pesticidelor triazinice din probele de sol au fost: metanolul ca solvent de extracție pentru USAE, o valoare de 8 pentru pH și o concentrație de 20% NaCl în fază apoasă pentru DLLME-SFO. Procedura dezvoltată USAE-DLLME-SFO-HPLC-UV a fost validată și aplicată pentru extragerea și analiza acestor erbicide în probe de sol colectate dintr-o zonă din Transilvania.

Cromatograma unei probe de sol colectată dintr-o cultură de grâu și cromatograma unei probe contaminate cu amestec standard sunt prezentate în figura 40.

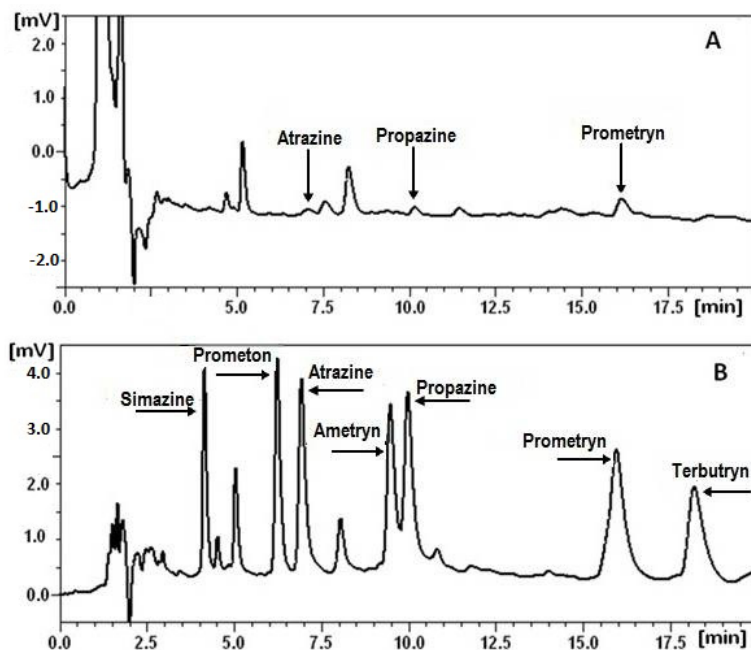


Fig. 40. Chromatograma unei probe de sol (A) și cea a unei probe de sol contaminate (B) (după Drăguș et al., 2014).

Conform cromatogramei de mai sus, în proba de sol s-au găsit trei triazine, și anume atrazină, propazină și prometryn. Aceste rezultate demonstrează eficacitatea procedurii propuse USAE-DLLME-SFO-HPLC-UV pentru probe reale de sol.

6. Sinteza activității academice și proiecții de dezvoltare profesională

Activitatea academică prestată în ultimii 10 ani, pe cele trei direcții menționate la începutul acestei teze, a fost concretizată în: trei cărți publicate în România și un capitol de carte publicat într-un volum internațional, 19 articole științifice publicate în reviste ISI și șase articole științifice publicate în reviste BDI.

Rezultatele cercetărilor efectuate demonstrează faptul că tehnicile de separare și tehnicile avansate de extracție sunt indispensabile în studiile de mediu. Conform rezultatelor obținute în cercetările efectuate, factorii de mediu sunt poluați/contaminați cu o gamă variată de compuși chimici care creează un stres chimic permanent asupra mediului.

Au fost elaborate și aplicate pe probe reale diferite metode cromatografice cuplate și multidimensionale capabile să determine într-o singură etapă un număr mare de compuși chimici, creând astfel premisele unei evaluări mai detaliate a stresului chimic la care sunt supuse ecosistemele.

Utilizarea biomonitorilor și aplicarea unor metode specifice de identificare a surselor de poluare împreună cu analizele cromatografice a făcut posibilă determinarea surselor de poluare a factorilor de mediu și obținerea unor informații utile pentru autoritățile responsabile de managementul calității mediului.

Dezvoltarea metodelor de extracție miniaturizate a permis reducerea toxicității metodelor analitice prin reducerea volumului de solvenți utilizați în procesarea probelor, a volumului probei necesare pentru analiză și, nu în ultimul rând, a timpului de analiză.

În următorii ani, voi continua cercetarea legată de dezvoltarea metodelor de extracție și analiză care vor permite determinarea poluanților organici în diferite probe de mediu. Mă voi concentra asupra probelor de complexitate ridicată, cum ar fi apa uzată, levigatul, studiul proceselor avansate de oxidare, emisiile gazoase și poluanții emergenți sau xenobiotici.

O nouă direcție pe care doresc să o dezvolt este studiul istoriei poluării cursurilor de apă pe baza poluanților organici persistenți în probe de sedimente sau soluri inundabile datate cu radionuclizi. Consider că această direcție de cercetare este binevenită, având în vedere faptul că, la nivel internațional, interesul pentru cunoașterea poluării istorice a cursurilor de apă devine tot mai important.

În ultimii ani, am implicat în activitatea de cercetare numeroși doctoranzi sau masteranzi (Florin Copaciu, Oxana Opris, Andreea Dragus, Livia Al Hafez, Diodiu Raluca etc.) care au avut posibilitatea de a-și realiza tezele și de a se familiariza cu tehnicile de analiză de înaltă performanță utilizate în evaluarea calității mediului.

La nivel instituțional, am coordonat peste 40 de lucrări de licență și de disertație, o bursă de performanță (Rotaru Andreea) și două stagii de trei, respectiv două luni, pentru doi studenți străini (Joanna Schlesinger și Antoine Enel, ESPCI, Franța). Am participat în comisiile de îndrumare a 10 doctoranzi, precum și ca membru al juriului de doctorat pentru Imadeddine Azzouz la Universitatea "Pierre et Marie Curie", Paris, Franța.

Am participat în calitate co-director la organizarea a două școli de vară cu participare internațională: "Transylvania Summer School in Chromatography" (edițiile 2010, 2011) și am fost membru în comitetul de organizare al simpozionului internațional „17th International Symposium on Separation Sciences” organizat la Cluj-Napoca, 05-09 septembrie 2011, (<http://www.17isscluj2011.org/>). Am fost membru în comitetul de organizare al celui de-al X-lea Forum Anual Eurachem-România, (2011), membru în comitetul științific a două conferințe naționale "Apa și aerul – Componente ale mediului" (2016, 2017) și o conferință internațională (5th Scientific Conference "Monitoring and water analysis. Chromatographic methods for the determination of ionic compounds"), Torun, Polonia (2017).

Consider că rezultatele de cercetare prezente și viitoare ar putea fi importante pentru autoritățile publice responsabile pentru monitorizarea mediului și ar putea ajuta factorii de decizie și părțile interesate să adopte cele mai adecvate politici de reducere a poluării și de dezvoltare a unei societăți durabile.

Bibliografie selectivă

1. Beldean-Galea M.S., Mihăiescu R., Arghiuș V., Croitoru A., Horvath C., Coman V., Occurrence and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Tisza River and its Romanian Tributaries, *Water Air and Soil Pollution*, 2016, 227-377.
2. Beldean-Galea S., Mihăiescu R., Cucoreanu I., Mihăiescu T., Arghiuș V., Assessment of Polycyclic aromatic hydrocarbons urban air pollution using *Thuja occidentalis*, Conference Proceedings, Book Series: International Multidisciplinary Scientific GeoConference - SGEM 2016, Vol II, 243-250.
3. Beldean-Galea M.S., Coman V., Thiebaut D., Vial J., Determination of four acidic nonsteroidal anti-inflammatory drugs in wastewater samples by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet and high-performance liquid chromatography, *Journal of Separation Science*, 2015, 38, 641-648.
4. Beldean-Galea M.S., Cozma A.M., Diodiu R., Simultaneous degradation of some phthalate esters under Fenton and Photo-Fenton oxidation processes, *Air and Water Components of the Environment Proceeding Conference*, 2015, 156-163.
5. Beldean-Galea M.S., Filip M., Coman V., Simultaneous Determination of Nitrophenols and Poly-Aromatic Hydrocarbons in Aquatic Samples by Solid Phase Extraction and HPLC Analysis, *Acta Chimica Slovenica*, 2014, 61, 202-207.
6. Beldean-Galea M.S., Coman V., Copaciu F., Thiebaut D., Vial J., Simultaneous identification of Fenton degradation by-products of diclofenac, ibuprofen and ketoprofen in aquatic media by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with mass spectrometry, *Revue Roumaine de Chimie*, 2014, 59(11-12), 1021-1027.
7. Beldean-Galea M.S., Vial J., Thiebaut D., Coman V., Characterization of the fate of lipids in wastewater treatment using a comprehensive GCxGC/qMS and statistical approach, *Analytical Methods*, 2013, 5, 2315-2323.
8. Beldean-Galea M.S., Vial, J., Thiebaut, D., Development of a screening method for the determination of xenobiotic organic pollutants in municipal landfill leachate using solvent extraction and comprehensive GCxGC-qMS analysis, *Central European Journal of Chemistry*, 2013, 11(10), 1563-1574.
9. Chipasa K.B., Medrzycka K., Characterization of the fate of lipids in activated sludge, *J Env Sci*, 2008, 20, 536.
10. Copaciu F., Coman V., Simedru D., Beldean-Galea S., Opreș O., Ristoiu D., Determination of two textile dyes in wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2013, 36, 1646-1660.
11. Drăguș A., Beldean-Galea M.S., Assesment of triazine herbicides content in honey samples by solid-phase extraction and HPLC analysis, *STUDIA UBB CHEMIA, LX, 2, 2015, Tom I*, 117-124.
12. Drăguș A., Beldean-Galea M.S., Coman V., Determination of triazine herbicides in soil samples by ultrasound-assisted extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet and HPLC-UV analysis, *Revue Roumaine de Chimie* 2014, 59(11-12), 1029-1036.
13. Drăguș A., Beldean-Galea M.S., Mihăiescu R., Mihăiescu T., Ristoiu D., Assessing impacts of triazine pesticides use in agriculture over the well water quality, *EEMJ*, 2012, 11(2), 319-324.
14. Litter I.M., Introduction to Photochemical Advanced Oxidation Processes for Water Treatment, in *Handbook of Environmental Chemistry*, Springer, 2005, 2, 325-336.
15. Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B., Klimkowicz-Pawlas A., Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of the Total Environment*, 2009, 407, 3746-3753.
16. Mihăiescu R., Arghiuș V., Beldean-Galea S., Croitoru A., Horvath C., The assessment of some priority substances in the Tisza River and its Romanian tributaries, Conference Proceedings, Book Series: International Multidisciplinary Scientific GeoConference, SGEM 2016, 711-718.
17. Ravindra K., Sokhi R., Van Grieken R., Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment*, 2008, 42, 2895-2921.
18. Tobiszewski M., Namieśnik J., PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environmental Pollution*, 2012, 162, 110-119.
19. Vial J., Thiebaut D., Sassiati P., M. S. Beldean-Galea, Gomez Ramos M., Bouzige M. Cognon G., Teillet B., Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography of Supercritical Fluid and Pressurized Liquid Extracts of Tobaccos, *Journal of Chromatographic Science*, 2010, 48(4), 267-273.
20. Yunker M. B., MacDonald R. W., Ross P. S., Johannessen S. C., Dangerfield N., Alkane and PAH provenance and potential bioavailability in coastal marine sediments subject to a gradient of anthropogenic sources in British Columbia, Canada. *Organic Geochemistry*, 2015, 89-90, 80-116.
21. Yunker M. B., Macdonald R. W., Vingarzan R., Mitchell R. H., Goyette D., Sylvestre S., PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 2002, 33, 489-515.
22. Zhang, W., Zhang, S., Wan, C., Yue, D., Ye, Y., and Wang, X. Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban road runoff, dust, rain and canopy throughfall. *Environmental Pollution*, 2008, 153, 594-601.