

Sprawozdanie z wykonanych działań w ramach 2 etapu projektu „Bezpieczna Żywność”

Polcargo International sp. z o.o.

W ramach tego etapu wybrano metodologię przygotowania próbek do spektroskopii ramanowskiej. Wykonano 2090 badań, z czego 970 Politechnika Gdańska przy użyciu spektroskopii ramanowskiej. Pozostałe analizy zostały wykonane w Pracowni Analiz Instr. Polcargo Int. Zbadano następujące związki: captan, captaphol, perithrins, THPI, biphenyl, xerosimethyl, oraz tzw. czystą matrycę. Wdrożono oprogramowanie do analizy danych spektrometrycznych przy użyciu AI, w szczególności znanych metod „deep learning”, jak i własnego algorytmu wraz z własną konwersją danych. Zbadano cztery różne algorytmy analizy danych. Opracowano wczytywanie danych ze spektrometru Ramana do oprogramowania. Wszystkie poniższe wykresy pochodzą z wdrożonego w ramach projektu oprogramowania Polcargo Informatyki.

Przygotowanie próbek

Metoda przygotowania prób do oznaczania wybranych pozostałości pestycydów oraz metodę analizy opracowano na podstawie polskiej normy PN-EN 15662 „Żywność pochodzenia roślinnego. Multimetoda do oznaczania pozostałości pestycydów z zastosowaniem analizy opartej na GC i LC po ekstrakcji/podziale acetonitrylem i oczyszczaniu metodą dyspersyjnej SPE. Metoda modułowa QuEChERS.”

Próbki materiału roślinnego zostały zhomogenizowane przy użyciu blendera i zamrożone w zamrażarce w -20°C w pojemnikach polistyrenowych o pojemności 100 mL tzw. moczówkach. Do przygotowania analiz próby zostały rozmrożone i przygotowane w poniższy sposób:

- Naważono 10g próby do probówki typu Falcon.
- Naważkę zafortyfikowano odpowiednią ilością wybranego pestycydu w celu uzyskania żądanego stężenia tj:

- 0,005 mg/kg
- 0,01 mg/kg
- 0,05 mg/kg
- 0,1 mg/kg
- 0,15 mg/kg
- 0,2 mg/kg
- 0,25 mg/kg
- 0,3 mg/kg
- 0,35 mg/kg
- 0,4 mg/kg
- 0,45 mg/kg
- 0,5 mg/kg

- 0,6 mg/kg
- 0,7 mg/kg
- 0,8 mg/kg
- 0,9 mg/kg
- 1 mg/kg
- 2 mg/kg
- 5 mg/kg
- 10 mg/kg
- 15 mg/kg
- 20 mg/kg

- Do naważki dodano sole (4g MgSO₄ + 1g NaCl);
 - Do naważki dodano 1% HCOOH w ACN (HPLC) (wg. Tab.1).
 - Próbę wytrząsano 2 min. na wytrząsarce o ruchu posuwisto-zwrotnym z prędkością min. 300 ruchów/min
 - Próbę wirowano przez 4 min przy 3600 rpm.
 - Ekstrakt pobrano w ilości 5ml górnej warstwy i oczyszczono na PSA/MgSO₄/carb.
 - Następnie próbę wytrząsano przez 2 min. na wytrząsarce o ruchu posuwisto-zwrotnym z prędkością min. 300 ruchów/min
 - Ponownie próbę wirowano przez 4 min przy 3600 rpm.
- W zależności od badanego pestycydu przygotowano próby odpowiednio na chromatograf GC-MS/MS lub LC-MS/MS.

GC-MS/MS

1. Do strzykawki z filtrem 0,2µm pobrano 0,8 ml oczyszczonego ekstraktu.
2. Dodano 0,2 ml toluenu.
3. Przesączono przez filtr do vialki.

LC-MS/MS

1. Pobrano 1ml oczyszczonego ekstraktu do próbówki.
2. Dodano 0,9ml 0,1% HCOOH w wodzie.
3. Odparowano do 1ml pod azotem.
4. Przesączono przez filtr 0,2µm do vialki.

Analizę chromatograficzną wykonano przy pomocy chromatografów LC/MS/MS przy użyciu detektora SHIMADZU LCMS-8050 i GC/MS-MS przy użyciu detektora SHIMADZU GCMS-TQ8050

Parametry pracy HPLC - Nexera

Kolumna: Velox Biphenyl 2,7µm, 2,1 x 100mm
 Termostat kolumny: 35°C
 Przepływ eluenta: 0.4 ml/min
 Objętość nastrzyku: 3 µl
 Detekcja: FULL SCAN. Akwizycja danych do 21 min.

Eluent: A: woda + 5 mM mrówczan amonu; B: metanol + 5 mM mrówczan amonu

4. Parametry pracy detektora mas MS/MS – SCHIMADZU Icms-8050

Parametry źródła jonów:

Nebulizing Gas Flow: 3,0 l/min

Drying Gas Flow: 10 l/min

Heating Gas Flow: 10 l/min

Interface Temperature: 350°C

Desolvation Temperature: 600°C

DL Temperature: 150°C

5. Parametry pracy GC – TQ8050

Kolumna: SHIMADZU SH-Rtx-5MS – 30m. 0,25mmID, 0,25 μm

Column Oven Temperature: 105°C – 2 min; przyrost temp. 15°C/min do 130°C – 0 min; przyrost 6°C/min do 200°C – 0 min.; przyrost 12°C/min do 310°C – 2 min.

Injection Temperature: 250°C

Injecton Mode: Splitless

Total Flow: 30 mL/min

Column flow: 1,4 mL/min

6. Parametry detektora GCMS-TQ8050

Parametry źródła jonów:

Interface Temperature: 280°C

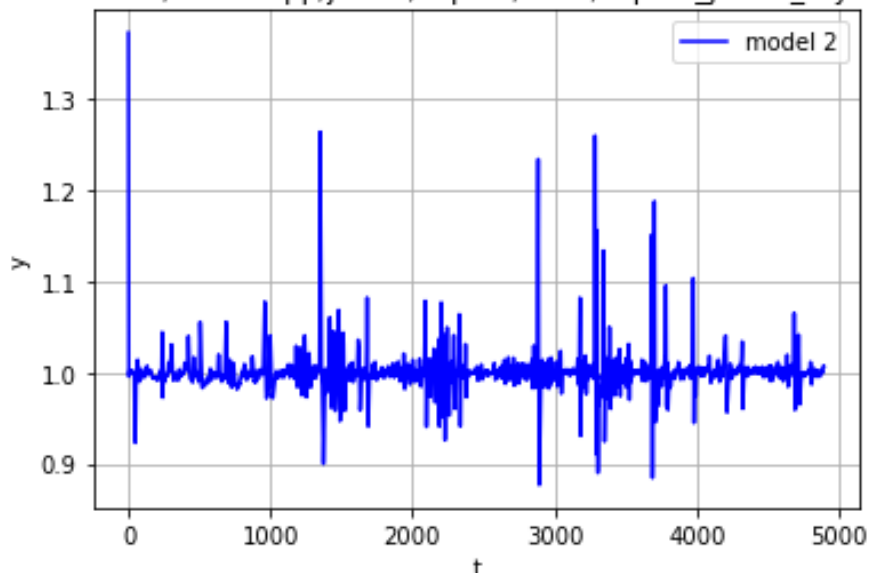
Ion Source Temperature: 230°C

Detector Voltage: 0,65 kV

Detekcja: FULL SCAN. Akwizycja danych do 26,5 min.

Poniżej przykłady danych uzyskanych z analiz:

Próbka testowa : D:/ParzenApp/jabłko/captan/False/captan_jablko_czysty_10_plus.csv

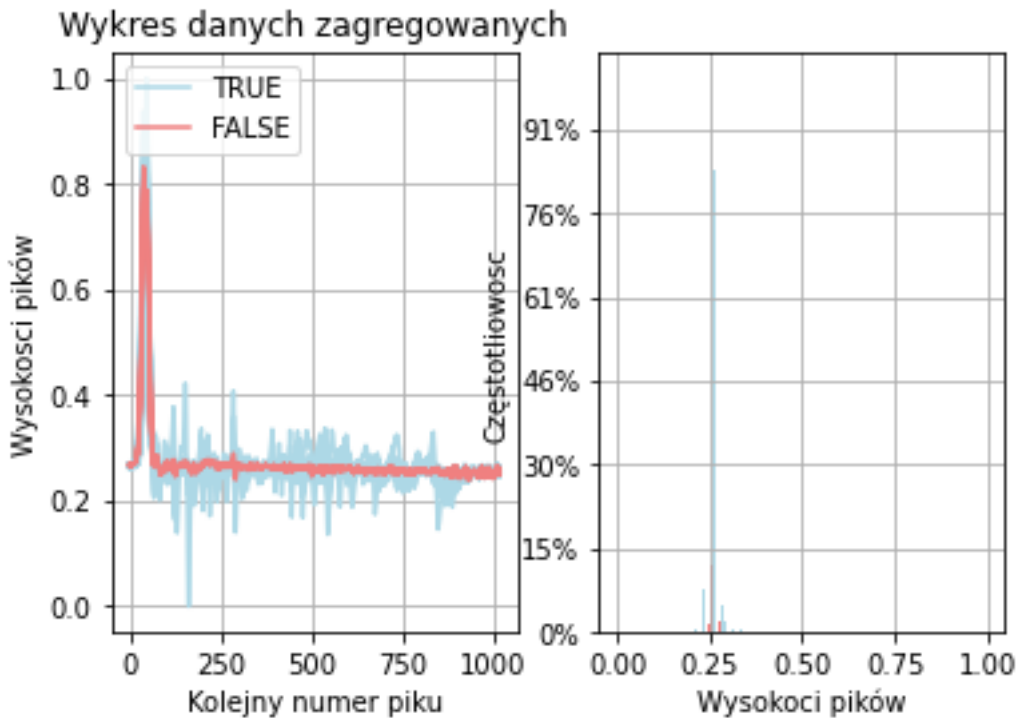


Poniżej próbka captanu ze spektrometrii mas LC MS przy zast. metod deep learning:

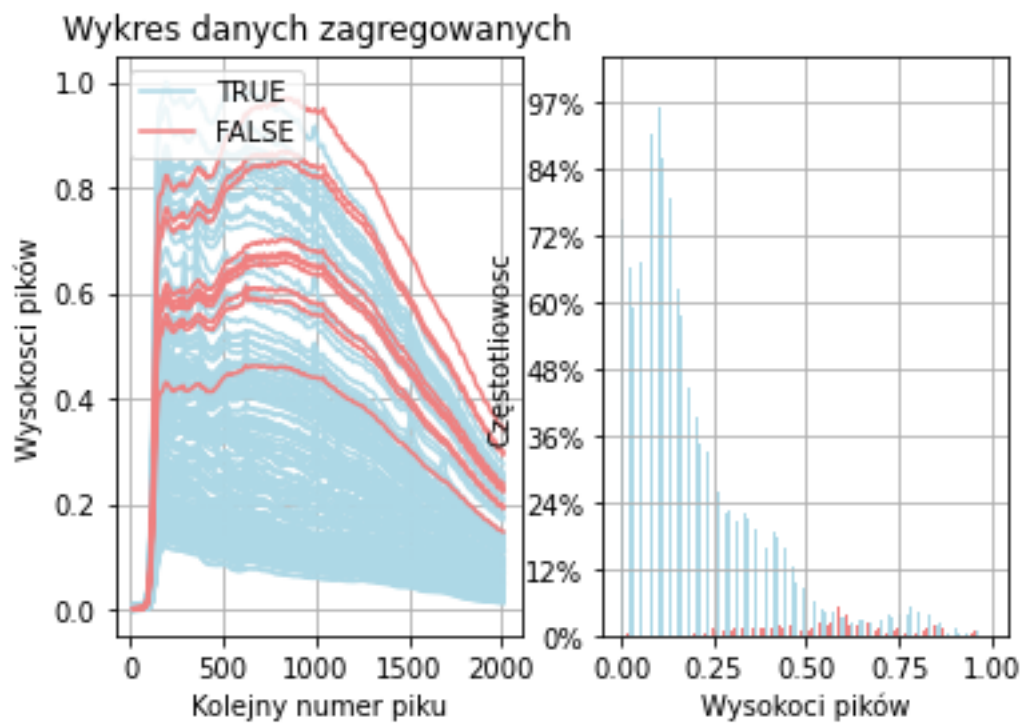
Próbka testowa : D:/ParzenApp/jablko/captan/True/captan_jablko_450_1_plus.csv



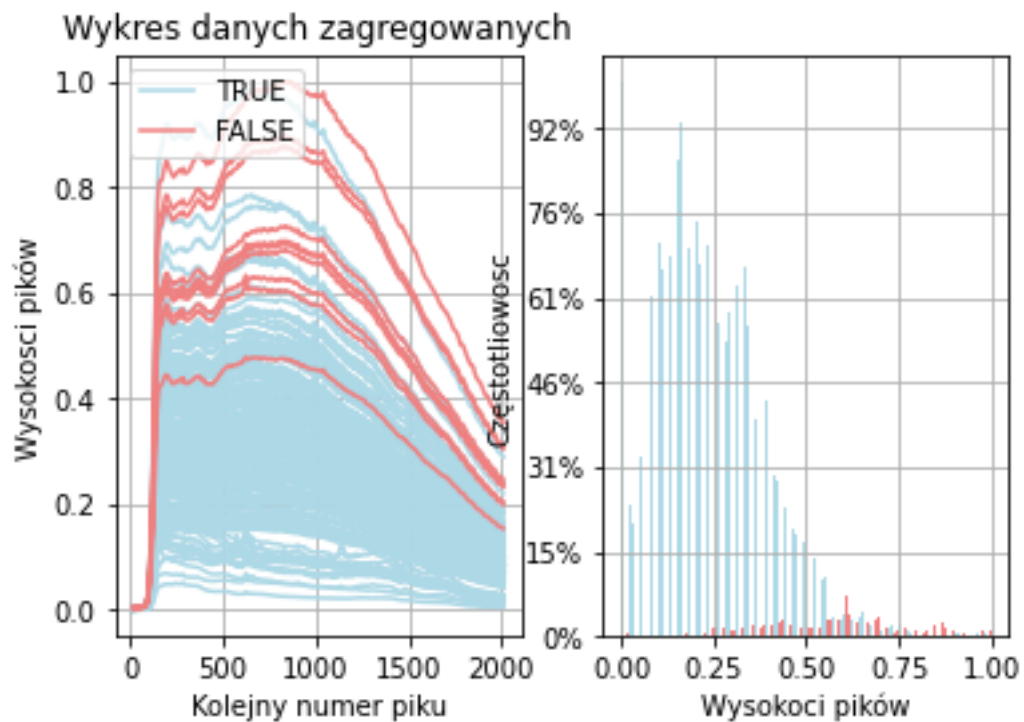
Dane zagregowane dla xeroximethyl uzyskane ze spektrometrii Ramanowskiej po transformowaniu metodą własną



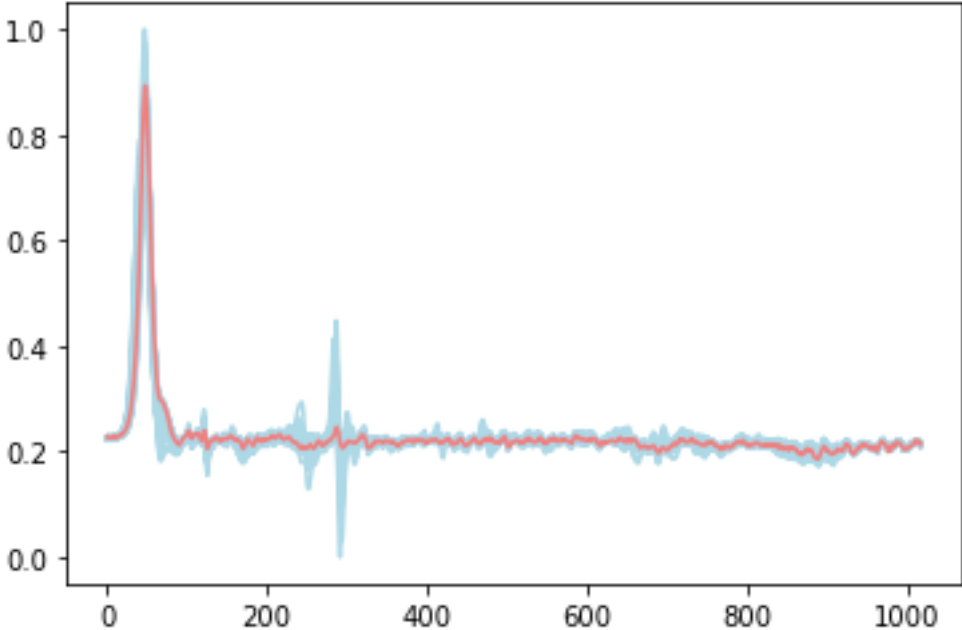
Xeroximethyl dane surowe ze spektrometrii Ramanowskiej



Pyrethrins, zagregowane surowe dane uzyskane ze spektrometrii ramanowskiej



Pyrethrins transformowane dane zagregowane ze spektrometrii Ramana



THPI - transformowane dane zagregowane ze spektrometrii LC MS

