

STRESZCZENIE

Optimalizacja metod oznaczania insektycydów w roślinach miododajnych, pszczołach i produktach pszczelich

Insektocydy powszechnie stosowane w ochronie upraw rolniczych mogą stanowić realne zagrożenie dla owadów zapylających, stąd istnieje konieczność wyjaśnienia szeregu zjawisk ich negatywnego wpływu na zdrowotność pszczół. W ostatnich latach nastąpił istotny rozwój narzędzi analitycznych stosowanych w badaniach pestycydów w pszczołach i produktach pszczelich, prowadzonych w ramach programów monitoringowych oceny zdrowotności pszczół i ich bezpośrednich zatruć oraz bezpieczeństwa żywności. Niemniej jednak badania takie nadal są wyzwaniem dla świata nauki. Związane jest to w głównej mierze ze specyfiką procedur przygotowania próbek opartych na wieloetapowych operacjach oraz wynika z charakteru badanych pestycydów, ich zróżnicowania fizyko-chemicznego, poziomów występowania i złożoności matryc, charakteryzujących się bogatym składem substancji przeszkadzających.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie precyzyjnych narzędzi analitycznych i mikro narzędzi umożliwiających oznaczenie szerokiej gamy (od 52 do 145) zróżnicowanych pod względem właściwości fizyko-chemicznych insektycydów z grup neonikotynoidów, karbaminianów, fosforanów organicznych, pyretroidów i innych w modelowych matrycach o zróżnicowanej zawartości wosku pszczelego, cukrów, lipidów, białek czy flawonoidów. Szczególną uwagę zwrócono na związki wysoce toksyczne ($LD_{50} < 2 \mu\text{g}/\text{pszczoła}$) stanowiące realne zagrożenie dla pszczół.

W badaniach optymalizacyjnych wielopozostałościowych procedur wykorzystano ekstrakcję rozpuszczalnikiem organicznym, technikę dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (d-SPE) oraz technikę chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Ze względu na unikalny charakter modelowej matrycy cieczy gutacyjnej i jej ograniczoną dostępność dokonano miniaturyzacji metody.

W toku prowadzonych badań optymalizacji i modyfikacji poddano kluczowe etapy przygotowania próbki do badań, analizując wpływ: masy naważki analitycznej, polarności ekstrahenta, warunków ekstrakcji oraz właściwości sorpcyjnych sorbentów użytych do oczyszczania ekstraktów. W przypadku każdej modelowej matrycy zastosowano indywidualne podejście, przeprowadzając pełny proces walidacyjny i oceniając wyniki na podstawie badań odzysków i efektów matrycy. Spośród testowanych różnych naważek próbek najwyższą efektywność procesu ekstrakcji analitów odnotowano przy zastosowaniu 5 gramowej naważki dla matrycy pszczół, miodu i roślin miododajnych, a 1 gramowej naważki dla matrycy cieczy gutacyjnej. Ekstrakcję acetonitrylem przeprowadzono w roślinach miododajnych (142 związki), a ekstrakcję acetonitrylem z dodatkiem 1% kwasu octowego lub mrówkowego w pszczołach, miodzie i cieczy gutacyjnej (odpowiednio 52, 132, 142 związki). Efektywne usunięcie substancji interferujących z modelowych matryc uzyskano przez wykorzystanie polarnych i niepolarnych pojedynczych sorbentów i nanosorbentów oraz ich kombinacji. EMR-Lipid zastosowano do oczyszczania ekstraktów pszczół, chitosan/tlenek glinu/C18 - miodu, Z-Sep - facelii i gryki, PSA/C18/ENVI-Carb/MgSO₄ - rzepaku, chabra i koniczyny, PSA/GCB/MgSO₄ - mniszka lekarskiego, tlenek grafenu - cieczy gutacyjnej.

Opracowano sześć nowatorskich procedur analitycznych dedykowanych matrycom roślinnym i biologicznym. Spełniają one kryteria protokołu walidacyjnego metod wielopozostałościowych. Charakteryzują się niskimi granicami oznaczalności (LOQ 0,001 mg/kg), szybkością, łatwością i bezpieczeństwem wykonania oraz wykazują aspekt aplikacyjny. Zostały wdrożone do rutynowych badań laboratoryjnych materiału roślinnego i biologicznego z uwzględnieniem ekotoksykologicznej oceny narażenia pszczół.

24.05.2021 Izabela Hrynko