

# Opracowanie przesiewowej metody oznaczania pyretroidów typu II w żywności z wykorzystaniem nanoprzeciwciał anty-3-PBA



Wojciech Rodzaj<sup>1\*</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>1</sup>

www.gumed.edu.pl

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny, al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk  
\* Autor korespondencyjny. Adres e-mail: wojciech.rodzaj@gumed.edu.pl

26

KONFERENCJA  
NAUKOWA  
WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO

## Wstęp

Pyretroidy to liczna i szeroko stosowana grupa insektycydów, stopniowo wypierająca bardziej toksyczne pestycydy fosforoorganiczne. Stosowane są m. in. w rolnictwie, produktach leczniczych, konserwacji drewna, czy zwalczaniu szkodników w gospodarstwach domowych. Do typu II należą pyretroidy, które posiadają ugrupowanie nitrylowe w części alkoholowej cząsteczki, np. fenpropatryna czy  $\lambda$ -cyhalotryna [1].

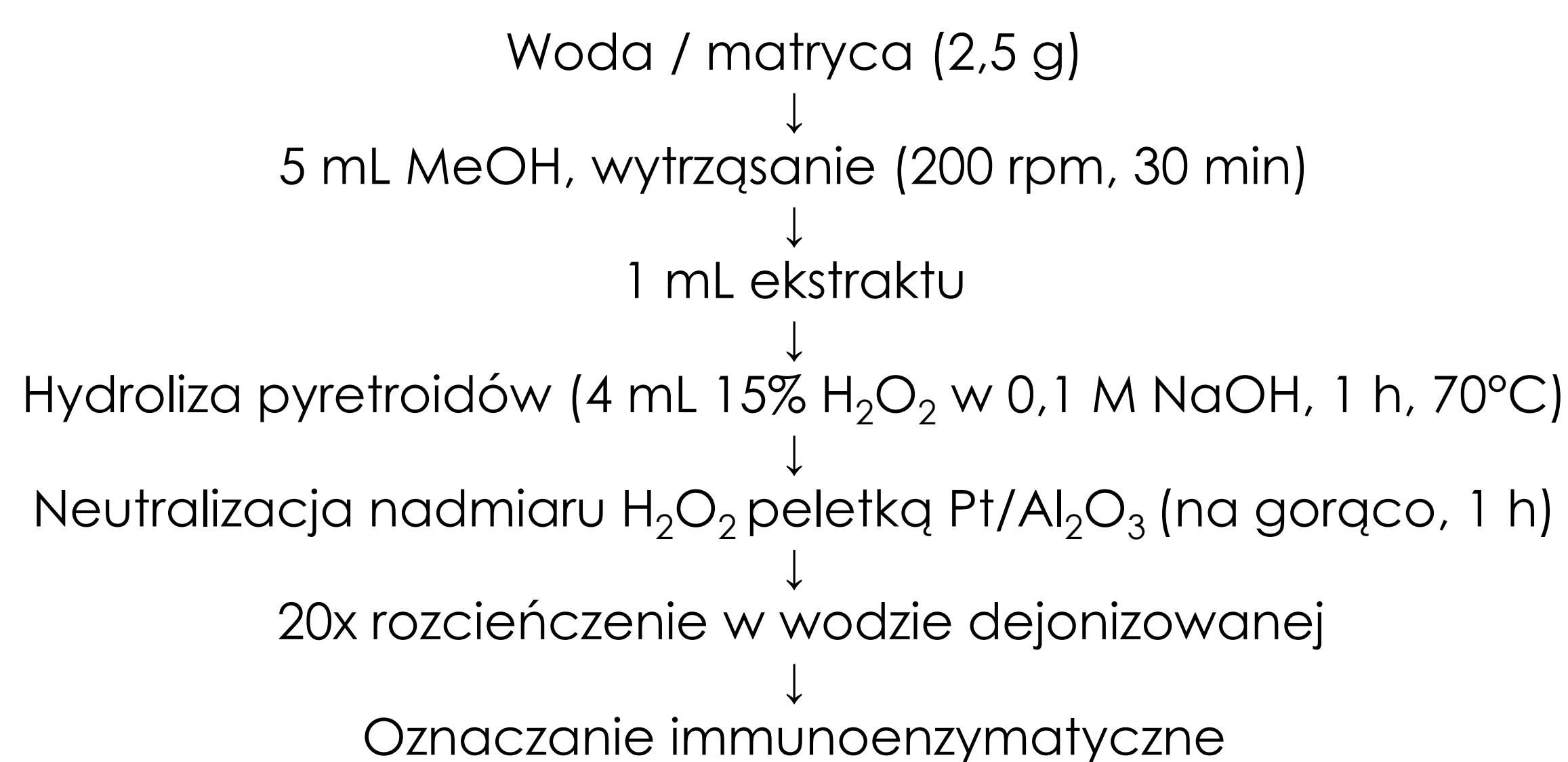
Oznaczanie pozostałości pestycydów w żywności jest istotne dla zapewnienia bezpieczeństwa konsumentów. Rutynowo wykorzystuje się w tym celu techniki chromatograficzne sprzężone z tandemową spektrometrią mas (GC- i LC-MS/MS) [2]. Wysoki koszt oraz wymogi kadrowe i aparaturowe tych analiz sprawiają, że uzasadnione jest poszukiwanie tańszych metod o podobnej granicy oznaczalności [3].

Metody immunoenzymatyczne wykorzystują specyficzne wiązanie przeciwciała z ligandem. Jedną z nowszych technologii w tej dziedzinie stanowią nanoprzeciwciała (ang. *nanobodies*, VHH), które składają się tylko z fragmentu łańcucha ciężkiego wiążącego antygen. Dzięki temu są one znacznie bardziej stabilne i łatwiejsze w manipulacji i powtarzalnej produkcji niż tradycyjne przeciwciała poliklonalne [4].

W niniejszej pracy podjęto próbę adaptacji wcześniej opracowanej metody degradacji pyretroidów typu II [5] i immunoenzymatycznego oznaczenia jej produktu, kwasu 3-fenoksybenzoowego (3-PBA) do zastosowania z wykorzystaniem nanoprzeciwciał anty-3-PBA [6]. Metoda pozwoli na przesiewowe oznaczanie pyretroidów typu II w żywności.

## Metody

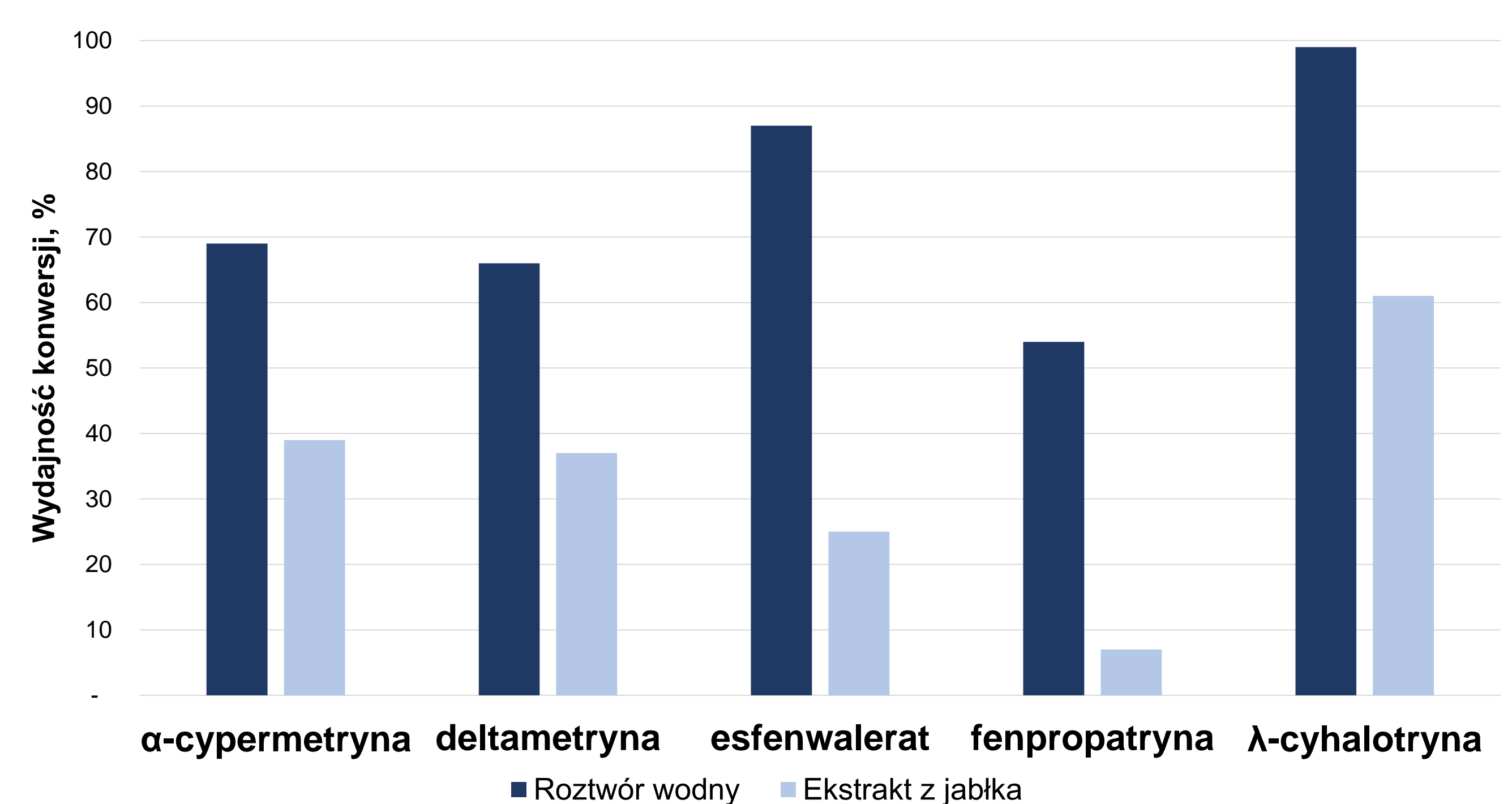
Procedurę przygotowania próbek do analizy opracowano w oparciu o publikację McCoy'a i wsp. [5]. Przeskalowana metoda została przedstawiona na poniższym schemacie (ryc. 1). Próby wstępne przeprowadzono w roztworze wodnym, w dalszych etapach jako przykładową matrycę wykorzystano ekstrakt z jabłka.



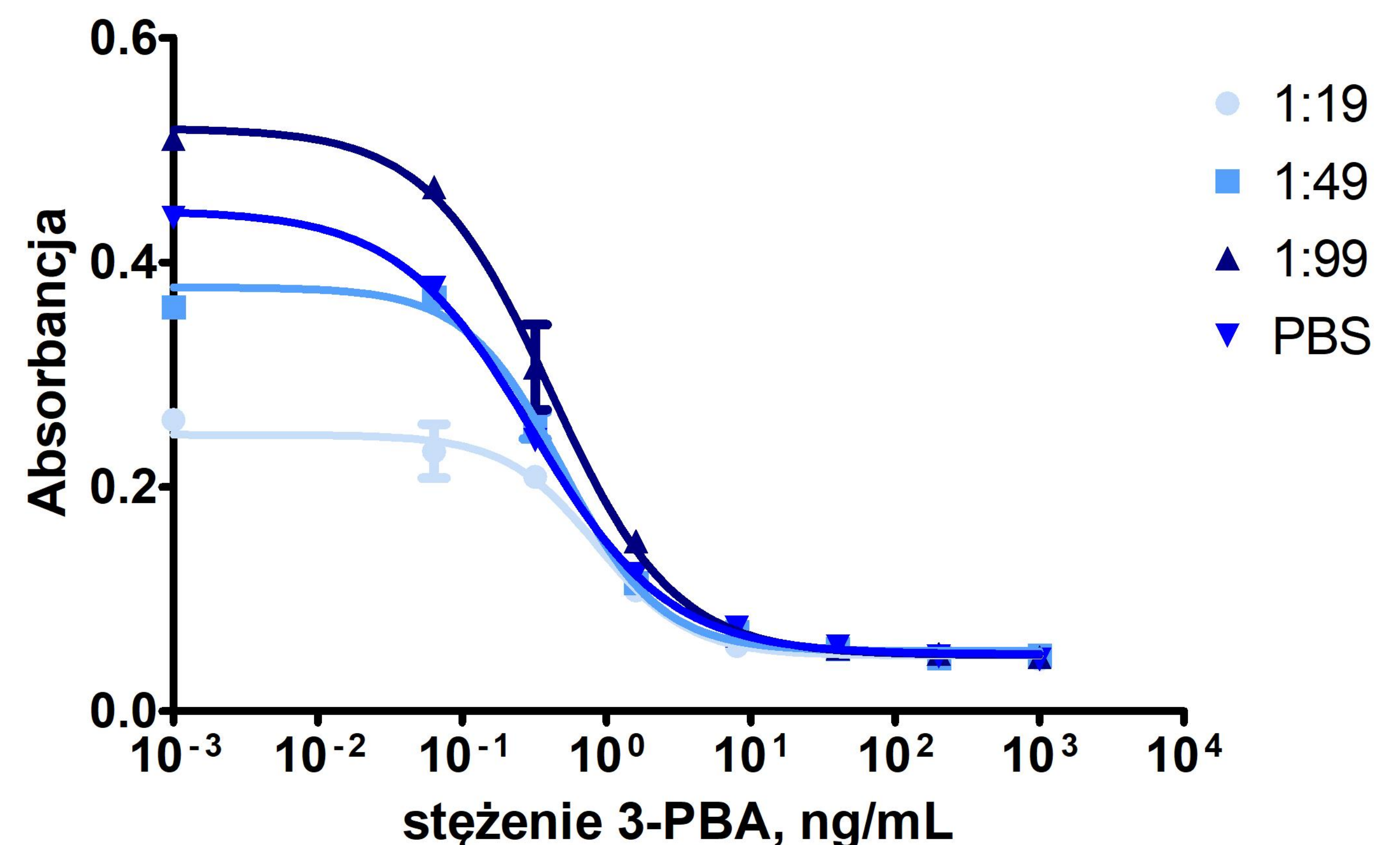
Ryc. 1 Przygotowanie próbek do analizy.

## Wyniki

Po przeskalowaniu metody opisanej w artykule McCoy'a i wsp. [1] dalsze etapy pracy badawczej obejmowały głównie optymalizację konwersji pyretroidów typu II do 3-PBA (ryc. 2) oraz minimalizację efektu matrycowego (ryc. 3).



Ryc. 2 Wydajność konwersji pyretroidów typu II do 3-PBA w roztworze wodnym i przykładowej matrycy – ekstrakcie z jabłka.



Ryc. 3 Krzywe kalibracyjne uzyskane przy różnych rozcieńczeniach próbki (roztwór wodny).

## Wnioski

- Metoda immunoenzymatycznego oznaczania 3-PBA stanowi obiecującą alternatywę dla metod chromatograficznych;
- Składniki matrycy wpływały negatywnie zarówno na wydajność konwersji, jak i liniowość oraz granicę oznaczalności metody;
- Przed aplikacją metody w warunkach rzeczywistych niezbędna jest dalsza optymalizacja procesu przygotowania próbek.

## Podziękowania

Wojciech Rodzaj składa serdeczne podziękowania Bruce'owi Hammockowi oraz Natalii Vasilyeviej za możliwość realizacji stażu na Uniwersytecie Kalifornijskim w Davis i pomoc w przeprowadzeniu badań.

## Finansowanie

Przedstawione badania wykonano podczas stażu naukowego na Uniwersytecie Kalifornijskim w Davis, który zrealizowano w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020 (nr projektu: POWR.03.02.00-00-1035/16-00) współfinansowanego przez Unię Europejską poprzez Europejski Fundusz Społeczny. Wojciech Rodzaj w ramach tego samego projektu otrzymuje również stypendium.

## Skróty

GC Chromatografia gazowa 3-PBA Kwas 3-fenoksybenzoowy  
IC 20 Stężenie hamujące aktywność enzymu w 20% PBS Sól fizjologiczna buforowana fosforanem  
LC Chromatografia cieczowa VHH Domena zmienna łańcucha ciężkiego  
MS/MS Tandemowa spektrometria mas

## Bibliografia

- M. Saillenfait et al., Int. J. Hyg. Environ. Health, vol. 218, [4] C. S. Bever et al., Anal. Bioanal. Chem., vol. 408, no. 22, no. 3, pp. 281-292, 2015.
- S. J. Lehotay et al., TrAC - Trends Anal. Chem., vol. 27, [5] M. R. McCoy et al., J. Agric. Food Chem., vol. 60, no. 20, no. 11, pp. 1070-1090, 2008.
- B. Wielgomas et al., Handbook of Environmental Chemistry: [6] H. J. Kim et al., Anal. Chem., vol. 84, no. 2, pp. 1165-1171, Pyrethroid Insecticides, vol. 92, 2020, pp. 47-80.