

## **OGGETTO:**

Richiesta di acquisizione di uno Spettrometro di Massa ibrido a Quadrupolo-FTMS ad alta risoluzione, tecnologia Orbitrap “Exploris 120” equipaggiato con UHPLC per la determinazione di residui di farmaci veterinari negli alimenti destinato al Reparto Chimica Alimenti e Mangimi di Brescia, Laboratorio Chimica Applicata alle Tecnologie Alimentari

## **ANALISI DEL CONTESTO**

Sono presenti in IZSLER dal 2017 due spettrometri di massa ibridi a quadrupolo-FTMS con tecnologia Orbitrap, uno destinato all’analisi dei pesticidi polari presso il reparto chimico della sede e l’altro all’analisi di residui di farmaci negli alimenti presso il reparto chimico di Bologna. Nel 2021 sono stati acquisiti due strumenti dello stesso tipo (con configurazione aggiornata) per far fronte alle sempre più numerose richieste da parte delle autorità competenti di poter disporre di risultati ad ampio spettro, con la ricerca simultanea di più analiti in uno stesso campione ai fini di una più ampia tutela della sicurezza alimentare nelle filiere di carne, latte, uova e miele. Tale risultato può essere raggiunto solo mediante l’utilizzo di tecniche ibride, volte all’identificazione univoca della molecola presente mediante la valutazione della massa esatta e ad una sua quantificazione.

La necessità di analizzare contemporaneamente più classi di molecole che inevitabilmente hanno caratteristiche chimico fisiche anche molto diverse fra loro richiede che lo stadio di purificazione del campione sia molto blando favorendo indirettamente la presenza di interferenti di matrice, soprattutto nel caso di matrici molto complesse quali possono essere gli alimenti di origine animale o vegetale. La possibilità di lavorare ad una risoluzione molto elevata con una accuratezza di massa uguale o superiore a quanto previsto dalle norme vigenti, riduce al minimo la presenza di tali interferenti favorendo la determinazione univoca delle sostanze presenti.

Vi è una forte richiesta da parte dell’utenza esterna per eseguire questa tipologia di analisi anche nei campioni che vengono conferiti nell’ambito dell’attività di tipo privatistico: tale attività è piuttosto complessa, nonché costosa e difficilmente viene soddisfatta da laboratori privati che, a tale scopo dovrebbero fare un investimento molto ingente. In Istituto Zooprofilattico la separazione delle attività fra quelle di tipo ufficiale e quelle di tipo privatistico è iniziata nel 2020 ed è volta alla separazione completa delle fasi analitiche, comprese quelle strumentali. Da qui l’esigenza di acquisire un altro sistema ad alta risoluzione di tipo Orbitrap dedicato esclusivamente all’analisi nell’ambito autocontrollo e delle richieste su interesse del proprietario.

Lo strumento che si propone di acquistare risponde alle esigenze espresse dalla Direzione Generale, di ampliare l'offerta di analisi multiresiduo multiclasse anche per i conferimenti consegnati da privati. La necessità di separare le analisi ufficiali da quelle eseguite nell'ambito dell'attività privatistica richiede l'utilizzo di una strumentazione separata afferente ad un laboratorio separato che è stato identificato nel Laboratorio Chimica Applicata alle Tecnologie Alimentari. Il trasferimento dei metodi dal Laboratorio Residui al laboratorio Chimica Applicata sarebbe molto rapido con tempi tecnici, necessari all'abilitazione ed alla formazione del personale, molto ridotti. Tale strumento potrà, in condizioni di emergenza (sovraccarico dei sistemi presenti oppure fermi macchina prolungati), anche sopperire alle esigenze del Reparto Residui sostituendo temporaneamente le strumentazioni utilizzate per le analisi ufficiali.

#### **DEFINIZIONE DELLA STRUMENTAZIONE**

Si richiede l'acquisizione di uno spettrometro di massa ibrido con tecnologia a quadrupolo (FTMS) e tecnologia Orbitrap ad alta risoluzione tipo "Exploris 120" con le seguenti caratteristiche:

- possibilità di acquisizione simultanea della massa esatta e dei frammenti molecolari a risoluzione diverse per una piena conformità alle disposizioni legislative vigenti, ove presenti (Reg 808/2021 Reg 401/2006 e s.m.i e altro).

- possibilità di eseguire indagini retrospettive delle analisi effettuate in modo da poter valutare in maniera qualitativa la presenza eventuale di analiti e metaboliti non identificati in prima battuta.

Al momento gli strumenti che possiedono alcune delle caratteristiche peculiari del sistema ibrido a quadrupolo-Orbitrap quali la possibilità di lavorare in alta risoluzione, sono gli spettrometri a tempo di volo (TOF). Tali strumenti si rivelano però poco adatti alle esigenze di un laboratorio di controllo degli alimenti. Infatti la maggior parte delle molecole di interesse alimentare hanno un peso molecolare piuttosto basso (mediamente non raggiungono valori superiori a 300-400 a.m.u) In questo range di massa l'Orbitrap garantisce una risoluzione decisamente più elevata che è fondamentale per una selettività sufficiente all'identificazione univoca delle molecole. Tale risoluzione non è raggiungibile dai TOF alle stesse condizioni (20.000 circa a fronte di almeno 70.000). Inoltre il TOF presenta alcune limitazioni legate all'accuratezza di massa degli ioni prodotto quando si acquisisce in modalità MS/MS mentre l'Orbitrap è in grado di acquisire con un'accuratezza di massa di 3 ppm anche gli ioni prodotto.

#### **CARATTERISTICHE TECNICHE**

-Le caratteristiche tecniche dello strumento devono permettere un'acquisizione "full scan" con una risoluzione di oltre 80.000 in tutto il range di massa con la possibilità di acquisire teoricamente un numero illimitato di molecole con una sola corsa cromatografica. Il range di massa previsto deve essere compreso fra 40 e 3000 m/z. L'elevata risoluzione deve permettere di differenziare gli analiti di interesse dagli interferenti isobarici della matrice rendendo sicura la conferma strumentale della molecola con una accuratezza di massa di almeno 5 ppm.

Lo strumento Orbitrap ad alta risoluzione tipo "Exploris 120" dovrà inoltre essere equipaggiato come di seguito descritto.

Il sistema dovrà essere dotato di tutte le attrezzature necessarie per un'installazione completa e funzionante. Dovrà essere equipaggiato con sistema UHPLC capace di raggiungere una pressione di almeno 1500 bar, dotato di due PC completi per l'acquisizione e l'archiviazione dei dati in grado di collegarsi alla rete aziendale, di un software di gestione e di analisi dei dati (Tracefinder) ed essere interamente gestito da un'unica piattaforma software.

Dovranno essere previsti:

-un periodo di almeno 3 giorni di familiarizzazione, introduzione all'utilizzo e, laddove necessario, trasferimento metodo.

-un periodo di training di almeno 3 giorni successivo al primo periodo di utilizzo dello strumento al fine di migliorare le prestazioni e le capacità del personale.

#### **DATI SCIENTIFICI A SUPPORTO**

Nei campi di utilizzo oggetto di questa richiesta è presente un numero di pubblicazioni scientifiche sempre crescente che utilizzano questa tecnica analitica come metodo di screening o di conferma: nella sezione dedicata ne sono elencate alcune fra le più recenti ed autorevoli.

Il regolamento UE 808/2021 inserisce la tecnologia Orbitrap fra le tecniche analitiche di elezione per la ricerca di residui di farmaci in screening ed in conferma.

#### **Bibliografia**

-Hird SJ et al "Liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of chemical contaminants in food" Trends in Analytical chemistry 59 (2014) 59-72.

-Sollic M, Roy-Lachapelle A, Sauvé S "Quantitative performance of liquid chromatography coupled to Q-Exactive high resolution mass spectrometry (HRMS) for the analysis of tetracyclines in a complex matrix" Analytica Chimica Acta 853 (2015) 415-424

- Chiesa L, Panseri S, Pasquale E, Malandra R, Pavlovic R, Arioli F “Validated multiclass targeted determination of antibiotics in fish with high performance liquid chromatography–benchtop quadrupole orbitrap hybrid mass spectrometry” *Food Chemistry* 258 (2018) 222–230
- Izzo L, Rodríguez-Carrasco Y, Tolosa J, Graziani G, Gaspari L, and Ritieni A “Target analysis and retrospective screening of mycotoxins and pharmacologically active substances in milk using an ultra-high-performance liquid chromatography/ high-resolution mass spectrometry approach” *Dairy Sci.* 103 (2020) 1250–1260
- Zhaoa Y, Yuana YC, Lin Baia X, Liua Y, Wua G, Yangd F, Liaoa X “Multi-mycotoxins analysis in liquid milk by UHPLC-Q-Exactive HRMS after magnetic solid-phase extraction based on PEGylated multi-walled carbon nanotubes” *Food Chemistry* 305 (2020)
- Picardo M, Sanchís J, Núñez O, Farr M “Suspect screening of natural toxins in surface and drinking water by high performance liquid chromatography and high-resolution mass spectrometry” *Chemosphere* 261 (2020)
- Kaufmann A, Butcher P, Maden K, Walker A, Widmer M “Comprehensive comparison of liquid chromatography selectivity as provided by two types of liquid chromatography detectors (high resolution mass spectrometry and tandem mass spectrometry): where is the crossover point? *Analytica Chimica Acta* 673 (2010) 60-72

L’acquisizione rientra nel piano acquisti 2022 del Dipartimento Sicurezza Alimentare: costo complessivo presunto € 400.000, RDA 1622/2021 CdC 4540

Il Responsabile Laboratorio Chimica Applicata alle Tecnologie Alimentari

Dr Emanuele Sangiorgi

Il Responsabile Reparto Chimica Alimenti e Mangimi

Dr.ssa Simonetta Menotta

Il Responsabile Dipartimento Sicurezza Alimentare

Dr Giorgio Fedrizzi