

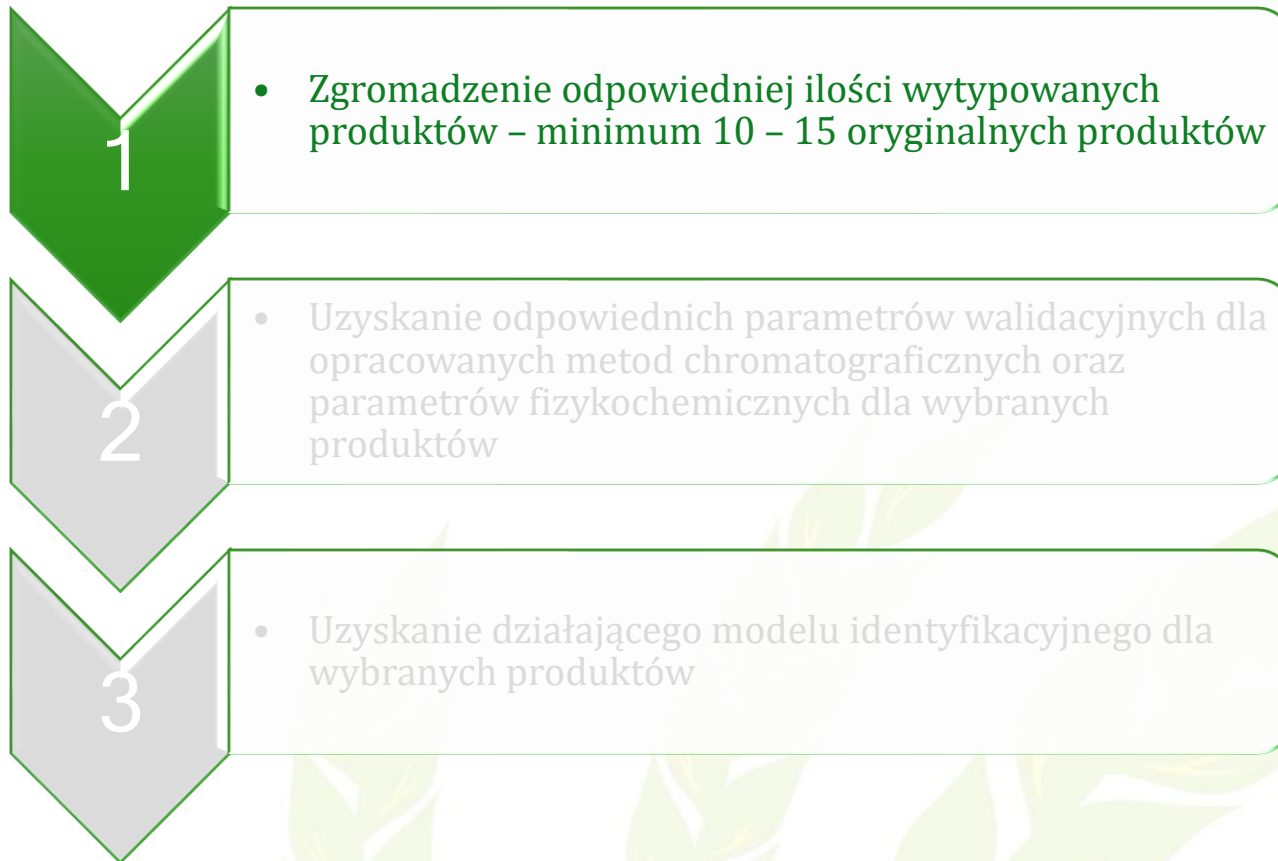


# INSTYTUT OCHRONY ROŚLIN – PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

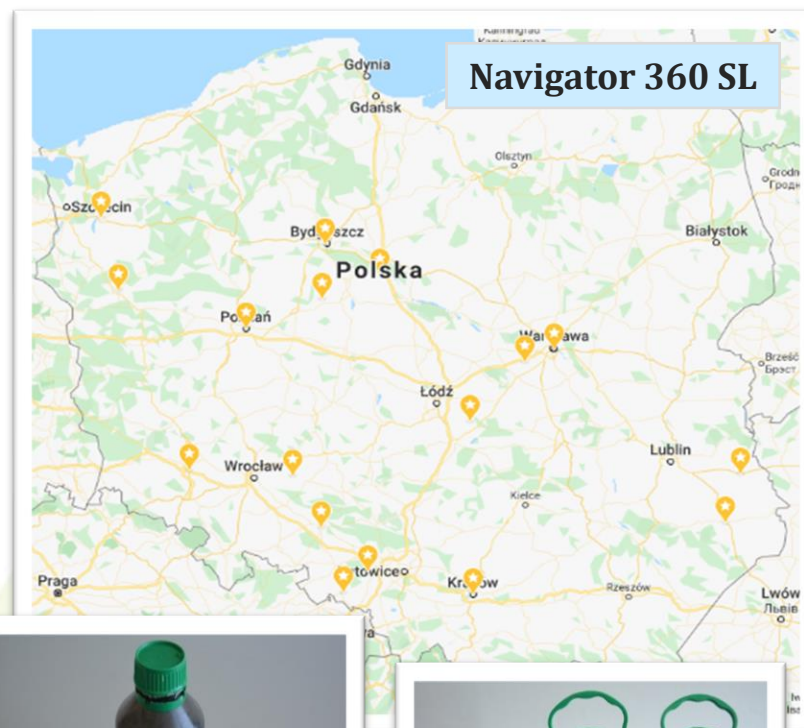
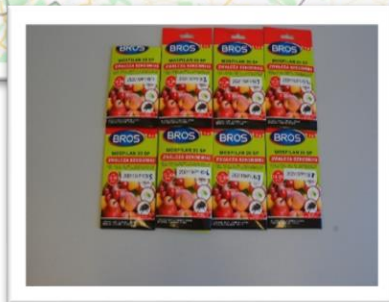
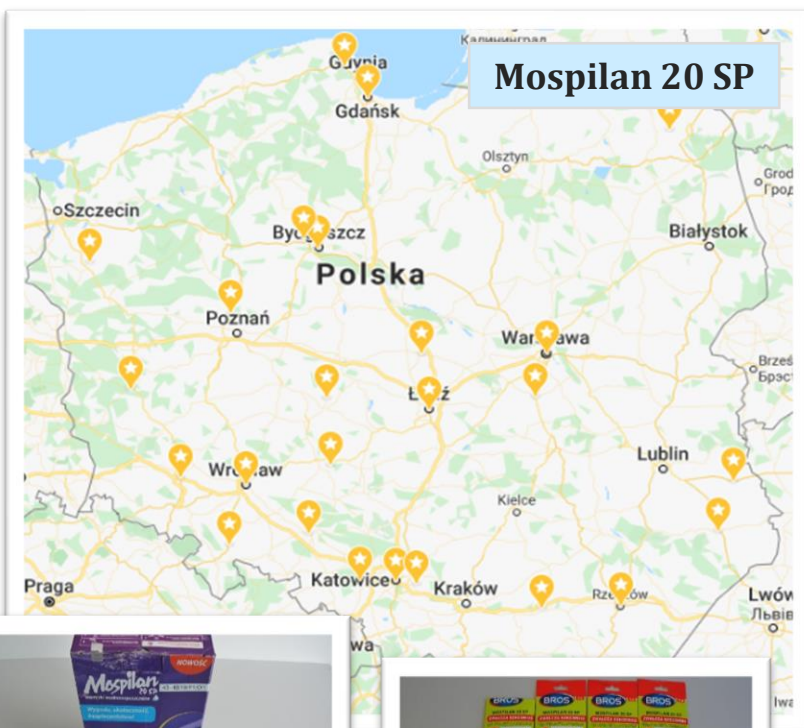
## **Kontrola jakości środków ochrony roślin z wykorzystaniem modelowania chemometrycznego**

Patrycja Marczevska - Kierownik Zadania  
Dr Tomasz Stobiecki - Koordynator Zadania

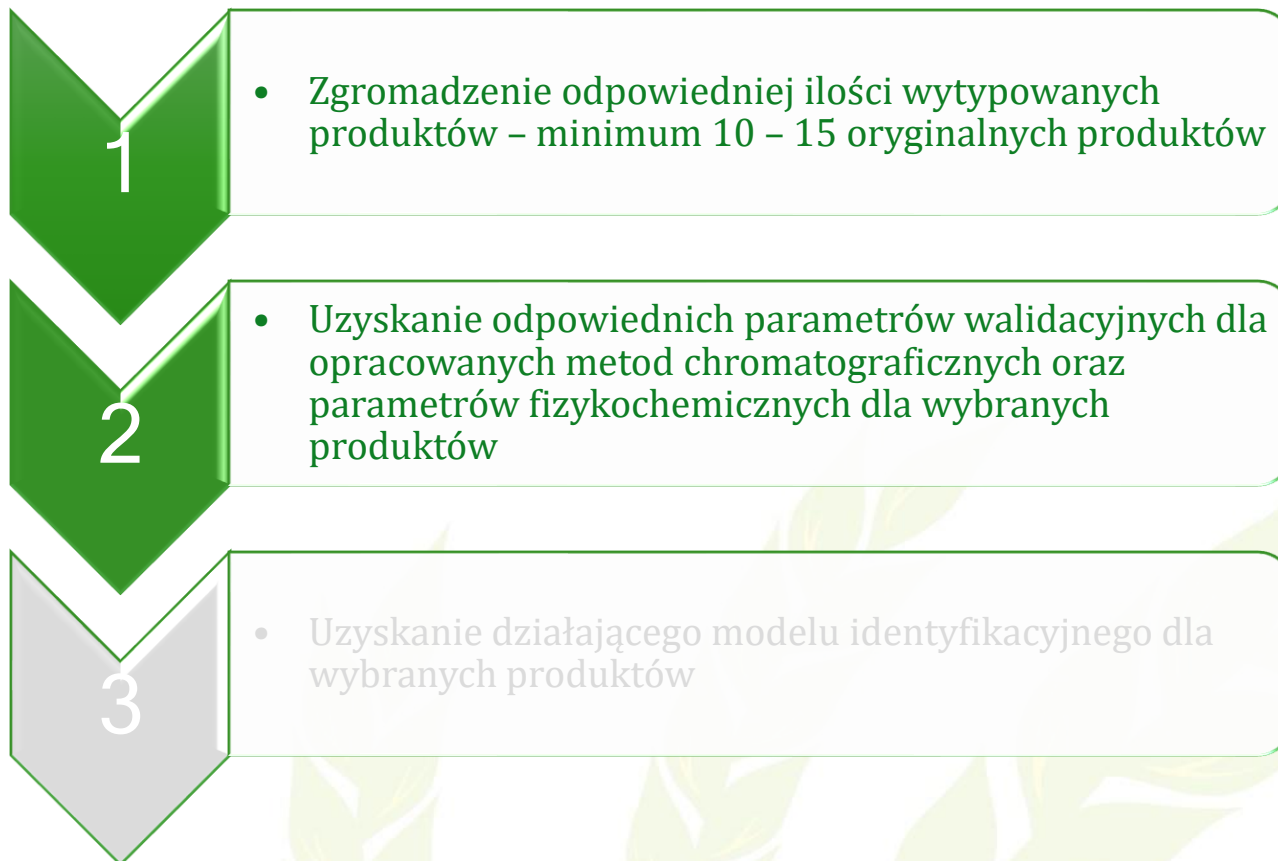
# Kamienie milowe



# Pozyskanie preparatów do badań



# Kamienie milowe



# Opracowanie i walidacja\* dwóch metod chromatograficznych



## Procedura nr 1

Procedura analityczna umożliwiająca uzyskanie specyficznych profili chromatograficznych z równoczesnym oznaczaniem substancji czynnej acetamiprydu w preparacie Mospilan 20 SP z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii ciekłowej z detektorem z matrycą diodową

## Procedura nr 2

Procedura analityczna umożliwiająca uzyskanie specyficznych profili chromatograficznych z równoczesnym oznaczaniem substancji czynnych aminopyralidu, chlopyralidu, pikloramu w preparacie Navigator 360 SL z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii ciekłowej z detektorem z matrycą diodową

*\*Walidację przeprowadzono zgodnie z procedurą SPO-16/J – Walidacja metod badawczych, która opiera się na wytycznych zawartych w przewodniku SANCO/3030/99 rev. 5 – Technical Active Substance and Plant protection products: Guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre- and post-registration data requirements for Annex (Section 4) of Regulation (EU) No 283/2013 and Annex (Section 5) of Regulation (EU) No 284/2013, European Commission, Directorate Health and Consumer Protection oraz przewodnikach Collaborative International Pesticides Analytical Council (CIPAC): "Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations," i "Guideline for analytical methods for the determination of relevant impurities referred to in FAO and/or WHO specifications for pesticide technical grade active ingredients and formulations".*

# Oznaczenie charakterystycznych parametrów fizykochemicznych



## Oznaczenie parametrów fizycznych, chemicznych i technicznych badanego materiału:

- Manual on development and use of FAO and WHO Specifications for Pesticides (FAO/WHO)
- „Reference document illustrating best practices on analytical strategies and interpretation of results for the formulation analysis of plant protection products obtained during official market control” (KE)
- Dokumentacja rejestracyjna środków ochrony roślin

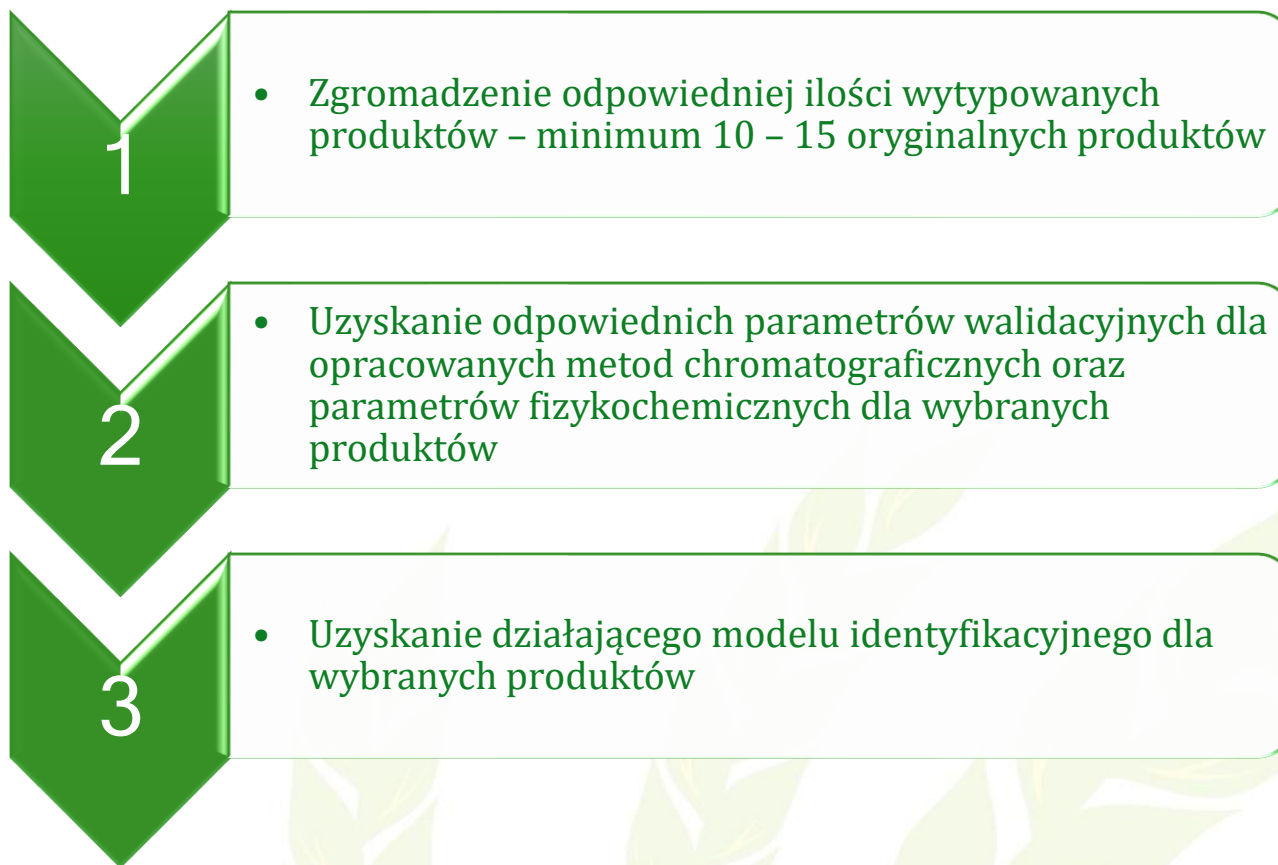
Dla preparatu **Mospilan 20 SP** wykonano:

- trwałość piany
- czas zwilżania
- stabilność roztworu
- pH 1% roztworu preparatu

Dla preparatu **Navigator 360 SL** wykonano:

- trwałość piany
- gęstość
- stabilność rozcieńczenia
- pH 1% roztworu preparatu pomiarów.
- lepkość

# Kamienie milowe



# Metody chemometryczne wykorzystane w budowie modeli identyfikujących



Metody eksploracji danych (metody uczenia bez nadzoru):

- analiza czynników głównych (ang. Principal Component Analysis, PCA)
- analiza hierarchiczna (ang. Hierarchical Clustering Analysis, HCA).

Metody modelowania danych (metody uczenia z nadzorem):

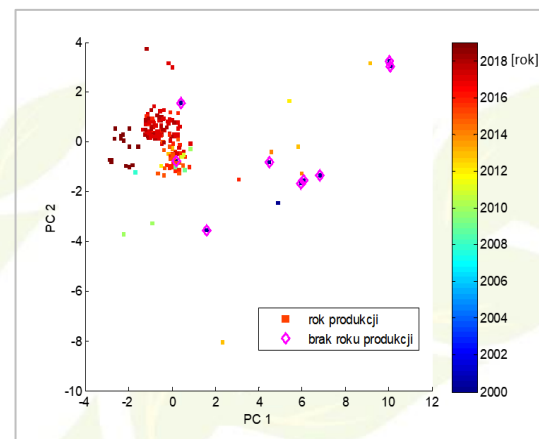
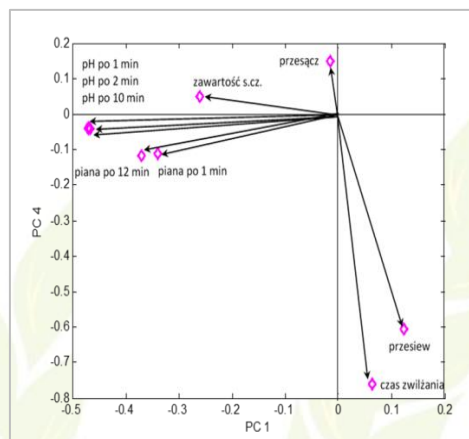
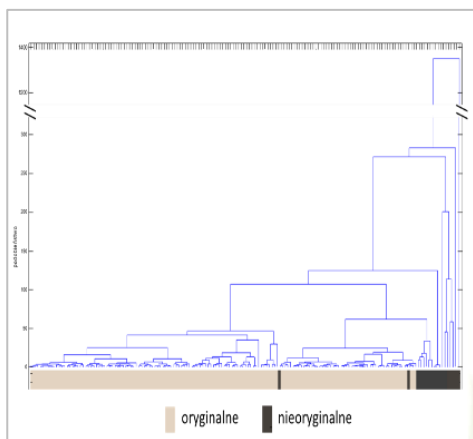
- dyskryminacyjny wariant regresji częściowych najmniejszych kwadratów (ang. Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA)
- metoda modelowania indywidualnych grup próbek (ang. soft independent modeling of class analogy, SIMCA)



# Metody uczenia bez nadzoru

Zastosowanie tych metod dla otrzymanych wyników pozwoliło na eksplorację struktury danych:

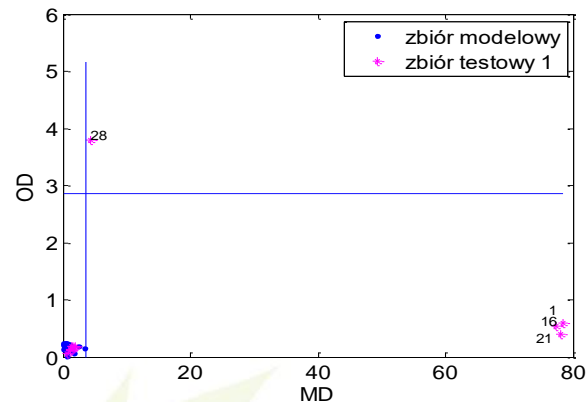
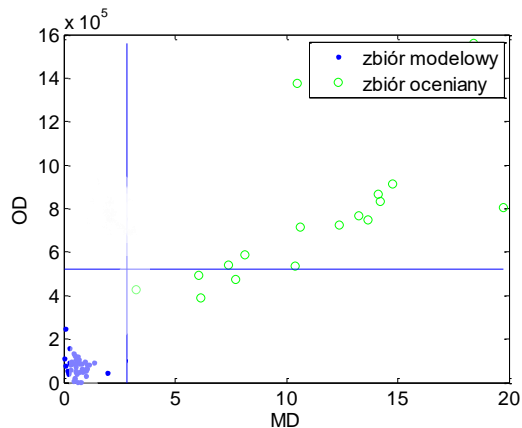
- identyfikację obiektów o odmiennej charakterystyce,
- ocenę wpływu poszczególnych parametrów w konstrukcję danych czynników,
- określenie występujących zależności.



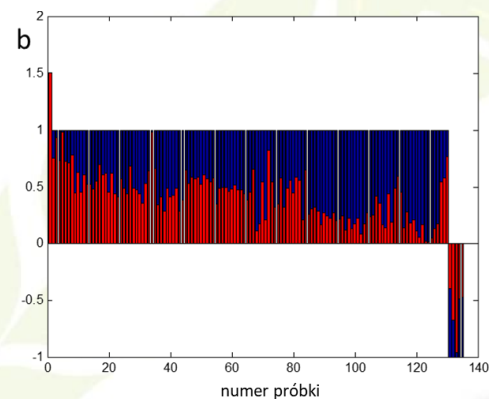
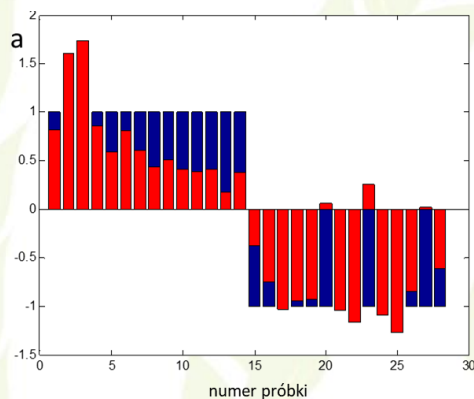
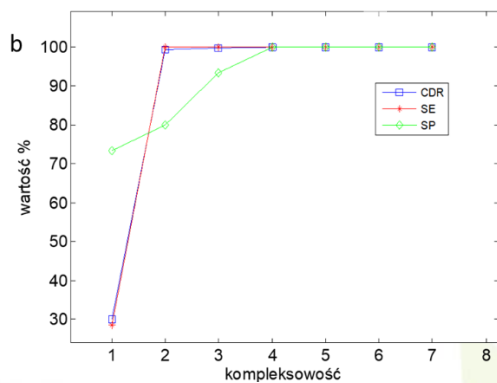
Przykłady otrzymanych wyników dla danych fizykochemicznych preparatu Mospilan 20 SP z zastosowaniem metod uczenia bez nadzoru: a-analiza hierarchiczna, b,c-analiza czynników głównych

# Metody uczenia z nadzorem

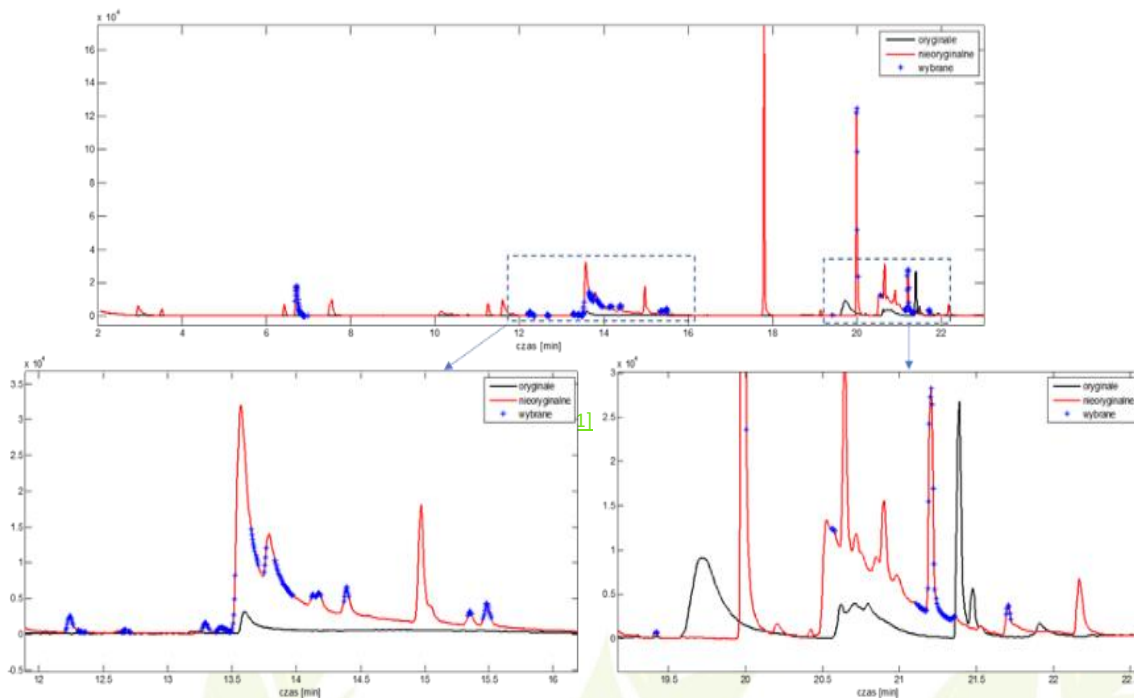
## Metoda modelowania indywidualnych grup próbek - SIMCA



## Dyskryminacyjny wariant regresji częściowych najmniejszych kwadratów - PLS-DA



# Metoda eliminacji zmiennych nieistotnych - UVE



Uśrednione sygnały chromatograficzne zarejestrowane techniką HS-GC-MS dla próbek „oryginalnych” i „nieoryginalnych” preparatu Navigator 360 SL z zaznaczonymi fragmentami sygnałów

# Zastosowanie modeli identyfikacyjnych

Procedura nr 1 – zastosowanie modelu identyfikującego wykorzystującego w ocenie jakości środków ochrony roślin metody chemometryczne bez nadzoru

Procedura nr 2 – zastosowanie modelu identyfikującego wykorzystującego w ocenie jakości środków ochrony roślin metody chemometryczne z nadzorem

Opracowane procedury zawierają opis działań jakie należy podjąć w celu wdrożenia innowacyjnego sposobu kontroli jakości środków ochrony roślin:

1. sposób wytypowania środków ochrony roślin do badań, określenie ilości niezbędnych próbek do badań oraz sposobu pozyskiwania środków ochrony roślin,
2. wymagany stopnia zróżnicowania próbek do badań,
3. sposób doboru oznaczanych parametrów fizykochemicznych oraz opracowania metod analitycznych oznaczania składników formulacji
4. sposób doboru rodzaju metod chemometrycznych jakie można zastosować w poszczególnych przypadkach.

# DZIAŁANIA W FAZIE B

1. Wybór dwóch środków ochrony roślin szczególnie narażonych na nieprawidłowości związane z fałszerstwami oraz pozyskanie dla wybranych do badań środków (minimum 10 – 15) próbek oryginalnych

Rodzaj preparatu	Coragen 200 SC	Moddus 250 EC
oryginalny (referencyjny)	14	14
pochodzący z rynku (badany)	18	30

Informacja z WIORiN o stwierdzeniu w obrocie ś.o.r. Coragen 200 SC i Moddus 250 EC

- Gdańsk
- Gorzów
- Katowice
- Lublin
- Olsztyn
- Opole
- Poznań
- Rzeszów
- Warszawa
- Wrocław

# DZIAŁANIA W FAZIE B

## 2. Zapewnienie odpowiedniego zróżnicowania próbek



## DZIAŁANIA W FAZIE B

3. Oznaczenie parametrów fizycznych, chemicznych i technicznych badanego materiału:

### Coragen 200 SC

- ✓ 1% pH roztworu preparatu (CIPAC MT 75.3)
- ✓ gęstość (OECD 109)
- ✓ lepkość dynamiczna (OECD 114)
- ✓ pozostałość na sicie mokrym (CIPAC MT 185)
- ✓ trwałość piany (CIPAC MT 47.2)
- ✓ trwałość zawiesiny (CIPAC MT 184)

### Moddus 250 EC

- ✓ 1% pH roztworu preparatu (CIPAC MT 75.3)
- ✓ gęstość (OECD 109)
- ✓ lepkość dynamiczna (OECD 114)
- ✓ kwasowość/zasadowość (CIPAC MT 191)
- ✓ trwałość emulsji (CIPAC MT 36.6)
- ✓ trwałość piany (CIPAC MT 47.2)
- ✓ zawartość wody (CIPAC MT 30.6)

### Procedura nr 1

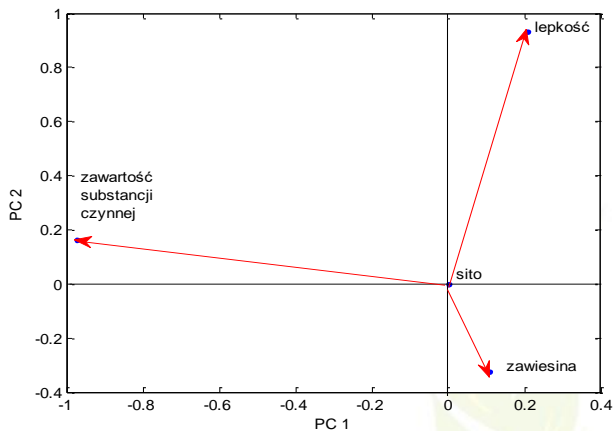
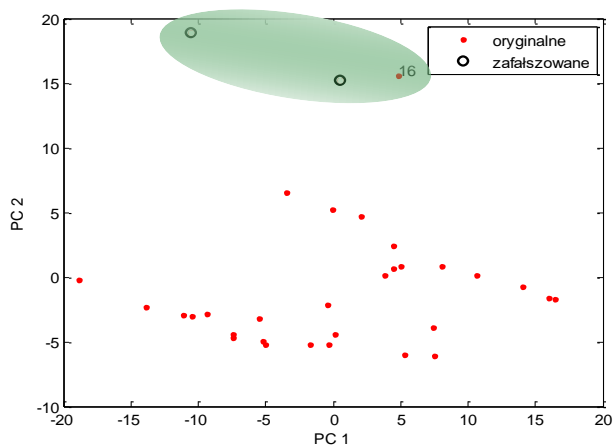
Procedura analityczna umożliwiająca uzyskanie specyficznych profili chromatograficznych z równoczesnym oznaczaniem substancji czynnej trineksapaku etylu w preparacie Moddus 250 EC z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem z matrycą diodową

### Procedura nr 2

Procedura analityczna umożliwiająca uzyskanie specyficznych profili chromatograficznych z równoczesnym oznaczaniem substancji chrantraniliprolu w preparacie Coragen 200 SC z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem z matrycą diodową

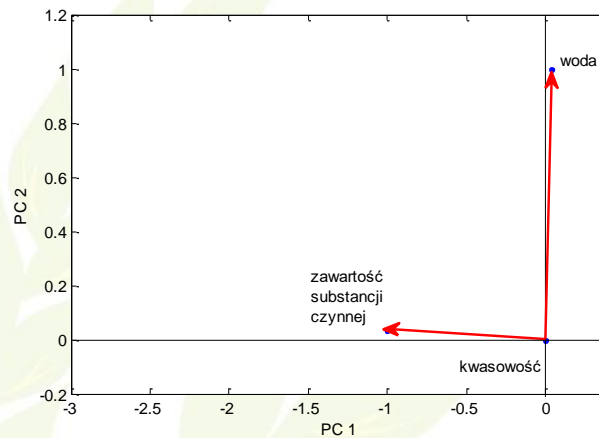
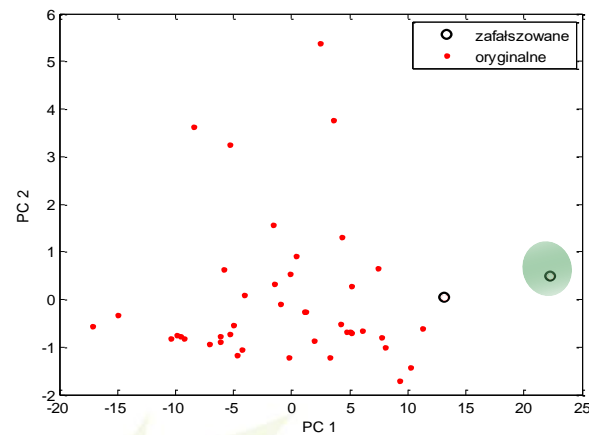
# Metody uczenia bez nadzoru – PCA

## Coragen 200 SC



PC 1 vs. PC 2

## Moddus 250 EC

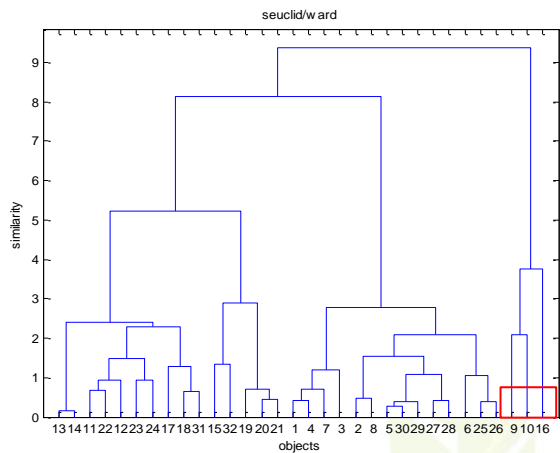
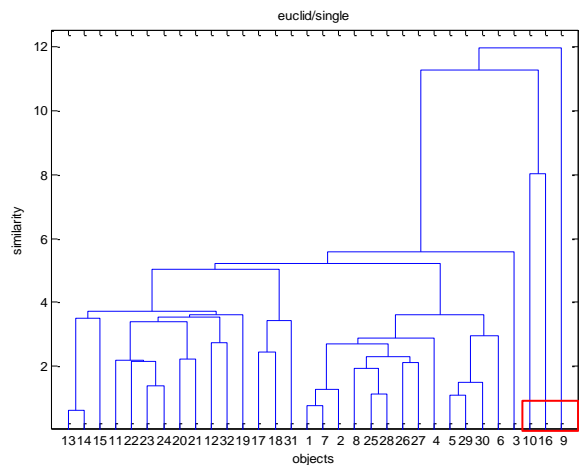


PC 1 vs. PC 2

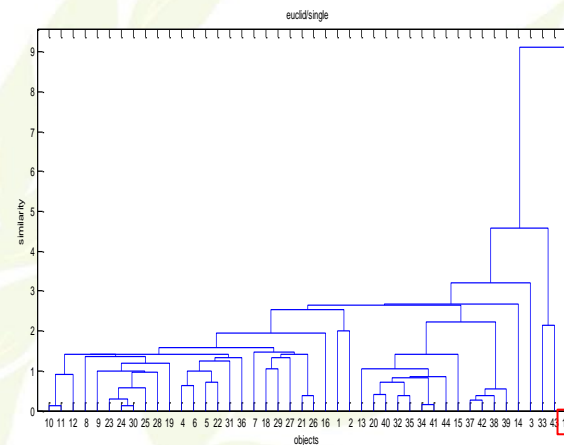
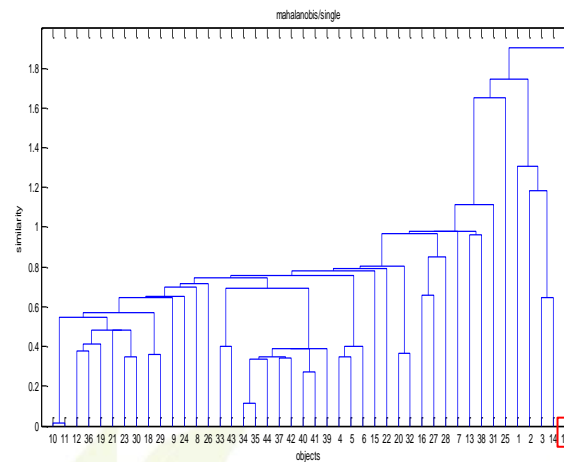


# Metody uczenia bez nadzoru – HCA

## Coragen 200 SC



## Moddus 250 EC



# Wnioski

Zastosowanie metod chemometrycznych w kontroli jakości środków ochrony roślin wymaga spełnienia następujących reguł:

- skompletowania do badań minimum 20-30 próbek tego samego preparatu w tym:
  - preparatów referencyjnych (posiadających różną datę produkcji, numery partii oraz gramaturę) -> wymagana współpraca
  - preparatów testowych pochodzących z rynku z różnych terenów Polski w tym preparatów z handlu równoległego, dla których badany preparat w dokumentacji rejestracyjnej podany jest jako preparat referencyjny (uwzględniając różne wielkości opakowania, daty produkcji i numery partii)
  - grupę preparatów nieoryginalnych
- przeprowadzenia oznaczenia charakterystycznych parametrów fizykochemicznych dla badanego środka ochrony roślin ze szczególnym uwzględnieniem zaleceń wobec formulacji preparatu oraz uzyskanie „chemicznych odcisków palca” technikami instrumentalnymi