



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



BORSE DI STUDIO DI DOTTORATO DI RICERCA SU TEMATICHE INNOVAZIONE E GREEN

(AZIONI IV.4 e IV.5) D.M. 10 agosto 2021, n. 1061

Anno Accademico 2021/2022

Research Methods in Science and Technology (ReMeST)

Dottorato di Ricerca in _____ - Ciclo XXXVII

Tematica Vincolata “Safe and effective products for a sustainable crop protection”

(NOME e COGNOME DEL CANDIDATO) Grasselli Genny	
TITOLO DEL PROGETTO Establish a robust technology for complex matrices and challenging agrochemical compounds.	
TEMATICA:	<input type="checkbox"/> INNOVAZIONE <input checked="" type="checkbox"/> GREEN
<p>RICERCA PROPOSTA breve descrizione della ricerca proposta dal candidato strutturata nel seguente modo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - introduzione della problematica nel contesto scientifico internazionale, - rilevanza del problema, - metodo attraverso il quale il problema verrà affrontato, - obiettivi e risultati attesi, - bibliografia. 	<p>State of the art: The EU Sixth Environment Action Programme (6th EAP) is a program of Community action on the environment with key objectives covering a period of ten years. The priorities of the 6th EAP are climate change, nature and biodiversity, environment, health and quality of life, and natural resources and waste. Within these key priorities, the 6th EAP calls for developing seven thematic strategies, including a coherent and integrated strategy on the sustainable use of pesticides. The Thematic Strategy on the Sustainable Use of Pesticides is a coherent and integrated policy on the use-phase of pesticides. Its objectives are:</p> <ul style="list-style-type: none"> (i) to minimize the hazards and risks to health and the environment stemming from the use of pesticides; (ii) to improve controls on the use and distribution of pesticides; (iii) to reduce the levels of harmful active substances used, in particular by substituting the most dangerous with safer alternatives; (iv) to encourage low-input or pesticide-free cultivation; (v) to establish a transparent system for reporting and monitoring the progress made in achieving the Strategy's objectives. <p>This project is focused on point iii and is organized as follows:</p> <p>Project Aim: To explore the concept of Liquid Electron Ionisation (LEI) as a solution for detection of new, sustainable agrochemical compounds not ionized by atmospheric pressure sources and investigate characterisation of environmental samples by high energy EI mass spectrometry.</p> <p>Project background: Existing HPLC approaches for mass spectrometric detection of eluting component's use atmospheric ionization sources (e.g. ESI, APCI, APPI) were detection sensitivity is high but signal response is influenced by polarity of the analytes, dependency on the LC composition in a gradient run and is affected by matrix suppression. In addition, higher fragmentation voltages are required for structural information to support characterisation of</p>

unknown metabolites.

An alternative mass spectrometric source for ionizing chromatographic eluting components is electron ionization (EI) which is currently used in gas chromatography. EI is known to avoid all of the above problems but coupling of EI to HPLC has been a major difficulty due to the high flow rates (100 μ l/min – 600 μ l/min). Nano UHPLC operates at flow rates (100 nl/min – 500 nl/min) which are compatible with the new Liquid-EI source^{1, 2}. Over the last four years, Liquid-EI (LEI) have shown the potential of the environmental analysis, ionizing components previously not detected by atmospheric pressure sources and avoiding matrix suppression issues. The Nano Liquid-EI would resolve current LC-MS problems where detection of the precursor mass has proven difficult, as the ionization process occurs in the gaseous state³. This feature has the potential to make a detector universal, especially if interfaced with a high-resolution mass spectrometer (HR-MS) which would increase sensitivity and identification and quantification capabilities^{4, 5}.

Proposed Project Schedule Timeline:

WP1: Preliminary work (12 months).

1. In this work package I will first examine well established pesticides that have previously been investigated by different ambient ionization techniques. 10 widely used pesticides from industry will be chosen as test compounds. The purpose is to compare LEI with current ionization techniques and establish the appropriate chemistry classes suitable for analysis. The addition of 10 compounds will represent a reference point for comparing LEI source through the development phase and will provide a comparison with GC-MS. In parallel on a second system, the aim will be to develop and improve the LEI source to chemical ionisation.

2. Secondly, to investigate chemical ionisation (CI) for compounds not detected by electron ionization (EI). The purpose is to maximize compound coverage and provide details of when LEI/CI is suitable for use.

3. Finally, I will study key application areas for complex matrix (insect, formulation, crop and wastewater). The purpose will be to establish optimum ultra-pressure chromatography electron / chemical ionization conditions to develop a robust source for routine use.

Success criteria: to have the appropriate ionisation (EI/CI) for the chemistry classes and position relative to atmospheric pressure ionisation techniques, a robust LEI/CI source and optimum conditions for LEI/CI with a minimum of two key application areas covered.

WP2: Analysis of unknown compounds (18 months).

1. A central question in the proposed project is how useful LEI/CI in the analysis of unknowns is. On delivery twelve monthly milestones from WP1 to apply knowledge resulting from work package 1 to analysis of unknown compounds in selected matrix (insect, formulation, crop, wastewater). Purpose is to investigate structure elucidation with electron ionization and chemical ionization.

2. The work package will be extended to investigate capability for quantifying unknowns without a standard this will be performed by using closely related compounds as reference standards.

3. To have in place a high-resolution accurate mass spectrometer for WP3.

Success criteria: to have a practical understanding of LEI/CI for structure elucidation compared to atmospheric ionization techniques, practicality of quantifying unknown and have high resolution accurate mass in position.

WP3: Implementing the detection and quantification of unknown analytes utilizing High-Resolution Mass Spectrometry (HR-MS) (6 months)

1. Analysis of real complex samples with LEI/CI installed on a high-resolution mass spectrometer to enhance detection limits and specificity towards unknowns analytes. Matrices can span from soil, water, and biological samples to identify pesticides and/or their metabolites.

Success criteria: to have a powerful technology ready for real applications and capable to follow the fate of new, sustainable

	<p>pesticides in the environment and in the living organisms.</p> <p><u>References:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. V. Termopoli, G. Famiglioni, P. Palma, M. Piergiovanni, A. Cappiello “Atmospheric Pressure Vaporization Mechanism for Coupling a Liquid Phase with Electron Ionization Mass Spectrometry” <i>Anal. Chem.</i> 89(3), 2017, 2049-2056. 2. V. Termopoli, G. Famiglioni, P. Palma, M. Piergiovanni, P. Rocio-Bautista, M.F. Ottaviani, A. Cappiello, M. Saeed, S. Perry “Evaluation of a liquid electron ionization liquid chromatography–mass spectrometry interface” <i>J. Chromatogr. A</i> 1591, 2019, 120-130. 3. V. Termopoli, G. Famiglioni, P. Vocale, G.L. Morini, P. Palma, P. Rocio-Bautista, M. Saeed, S. Perry, A. Cappiello “Microfluidic water-assisted trap focusing method for ultra-large volume injection in reversed-phase nano-liquid chromatography coupled to electron ionization tandem-mass spectrometry” <i>J. Chromatogr. A</i> 1627, 2020, 461421. 4. J. Liigand, T. Wang, J. Kellogg, J. Smedsgaard, N. Cech, A. Krueve “Quantification for non-targeted LC/MS screening without standard substances” <i>Sci. Rep.</i> 10, 2020, 5808. 5. A.M. Knolhoff, J.H. Premo, C.M. Fisher “A Proposed Quality Control Standard Mixture and Its Uses for Evaluating Nontargeted and Suspect Screening LC/HR-MS Method Performance” <i>Anal. Chem.</i> 93, 2021, 1596-1603.
<p><i>Evidenziare sinteticamente i caratteri di coerenza tra il progetto, la SNSI ed il PNR con riferimento anche alla capacità di favorire l’innovazione e l’interscambio tra mondo della ricerca e mondo produttivo nei settori dell’innovazione, del digitale e delle tecnologie abilitanti, nonché le potenziali ricadute scientifiche, economiche e sociali.</i></p>	<p>La politica ambientale europea si è evoluta significativamente a partire dagli anni '70, prestando particolare attenzione all’ambiente e sottolineando la correlazione che c’è tra la nostra salute e l’inquinamento ambientale. Le strategie adottate tra il 2002 e il 2012, nel “Sixth Environmental Action Programme” (6th EAP), riguardano quattro principali priorità: cambiamenti climatici, biodiversità, qualità della vita e l’uso di risorse. Tra le strategie messe in atto per raggiungere gli obiettivi prefissati, ritroviamo l’uso sostenibile dei pesticidi; lo scopo di tale strategia è quello di¹:</p> <ol style="list-style-type: none"> I. Minimizzare i danni che i pesticidi possono avere sulla salute e sull’ambiente; II. Migliorare il controllo sull’uso di quest’ultimi e la loro distribuzione; III. Ridurre i livelli di sostanze pericolose, sostituendole con altre più sicure; IV. Incoraggiare la riduzione dell’uso di pesticidi nelle coltivazioni; V. Stabilire un sistema trasparente per riferire e monitorare i progressi compiuti nel raggiungimento degli obiettivi della strategia. <p>Tuttavia, le quantità e varietà di pesticidi utilizzati in agricoltura sono aumentate enormemente, con lo scopo di aumentare la resa e migliorare l’efficienza del raccolto e della lavorazione. L’organizzazione delle Nazioni Unite per l’alimentazione e l’agricoltura (FAO) segnala 4,1 milioni di tonnellate di sostanze utilizzate a livello globale nel 2015, ovvero il 35% in più rispetto al 2000; prevedendo che nel 2050 la popolazione mondiale arriverà a 9,77 miliardi di persone, è probabile che le applicazioni globali di pesticidi aumenteranno. Le autorità di regolamentazione approvano i pesticidi che non comportano rischi tossicologici per la salute, tuttavia, ci sono varie prove che evidenziano la presenza di residui di pesticidi nell’ambiente, determinando un declino della biodiversità e cambiamenti della composizione del suolo, come l’aumento di inquinanti².</p> <p>Dato che l’utilizzo di pesticidi è destinato ad aumentare nel tempo, lo sviluppo di metodi efficaci, volti all’identificazione di pesticidi nel suolo, nelle acque, nel cibo e in campioni biologici, potrebbe diventare prioritario per comprendere l’impatto ambientale che quest’ultimi hanno. Il presente progetto mira proprio allo sviluppo di metodi, altamente sensibili e specifici, per l’identificazione di pesticidi in matrici complesse, con lo scopo di incentivare l’uso e lo sviluppo di pesticidi sostenibili e limitare la dispersione di quest’ultimi, collocandosi perfettamente nel concetto di “Green technology”; in questo modo possono essere fornite le basi per lo sviluppo di tecnologie di purificazione</p>

	<p>di acque e aria contaminate, laddove sarà necessario. Inoltre, il metodo è sviluppato in modo da consumare la minor quantità di solvente e campione, riducendo notevolmente gli scarti prodotti, rendendo quindi la tecnica altamente sostenibile e soddisfacendo i principi della “Green Chemistry”. Oltre all’identificazione di pesticidi nel suolo e nelle acque, la tecnica LEI/CI-MS può rivelarsi utile per l’identificazione di queste sostanze anche nel cibo, contribuendo alla distribuzione di prodotti alimentari sicuri. Questa tecnica rende possibile l’ottimizzazione della qualità del prodotto finito, in modo da soddisfare i requisiti di sicurezza, punto fondamentale delle “Tecnologie Alimentari”.</p> <p>BIBLIOGRAFIA</p> <ol style="list-style-type: none">1. EUROPEAN COMMISSION. EU Policy for a Sustainable Use of Pesticides. <i>Story Behind Strateg</i>. Published online 2007. http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:EU+Policy+for+a+sustainable+use+of+pesticides#52. Maggi F, Tang FHM, la Cecilia D, McBratney A. PEST-CHEMGRIDS, global gridded maps of the top 20 crop-specific pesticide application rates from 2015 to 2025. <i>Sci Data</i>. 2019;6(1):1-20. doi:10.1038/s41597-019-0169-4
--	---