

## **RAPORT DE ACTIVITATE 2020**

Pentru implementarea Proiectului Postdoctoral PD 90/2020

### **Metode chemometrice avansate aplicate pentru autentificarea și trasabilitatea agroproduselor din Transilvania - AGRICHEM**

#### **Etapa 1. Evaluarea profilului elemental și izotopic al ciupercilor, prin utilizarea ICP-MS și IRMS, și prelucrarea experimentală a datelor folosind tehnici chemometrice clasice și avansate**

(septembrie - decembrie 2020)

#### **Rezumatul etapei**

În această primă etapă a proiectului, au fost analizate din punct de vedere izotopic și multielemental, 57 de probe de ciuperci (29 de probe de gălbiori și 28 de probe de hrube). Rezultatele obținute au fost prelucrate folosind metode chemometrice clasice (ANOVA - analiza de varianță și analiză liniară discriminantă - LDA) și metode chemometrice avansate (rețele neuronale artificiale - ANN). Analiza ANOVA a arătat elementele care pot diferenția cele două specii de ciuperci studiate. Mai mult, LDA a condus la un model, validat, pe baza a trei predictorii. ANN a evidențiat predictorii cu cea mai mare contribuție la model, care oferă o rată de predicție de 94,4% ( $\delta^{13}\text{C}$ , Ag și Ni).

#### **Conținutul raportului științific și tehnic (RST)**

1. Colectarea probelor de ciuperci din flora spontană, pregătirea probelor pentru analiza IRMS și ICP-MS.
2. Fuziunea și pretratarea datelor experimentale.
3. Prelucrare chemometrică clasică și avansată a datelor.
4. Diseminarea rezultatelor.

În această etapă a proiectului au fost colectate 57 de probe de ciuperci, din două specii diferite. Probele de ciuperci au fost colectate în pungi individuale, etichetate cu specia corespunzătoare, zona și data prelevării și transportate la laborator cât mai curând posibil.

Pregătirea probelor pentru analiza multielementală folosind tehnica ICP-MS s-a efectuat astfel: probele de ciuperci au fost spălate cu apă distilată și apoi uscate în cuptor la 105° timp de 24 de ore. Probele obținute au fost măcinate într-o pulbere foarte fină și s-a folosit o cantitate de 0,2 g din această pulbere în etapa de digestie. Această etapă a fost efectuată după metoda prezentată în literatura de specialitate Dospatliev L. (Dospatliev & Ivanova, 2017). Probele au fost digerate folosind un amestec de  $\text{HNO}_3$  (65%) și  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%), 6:1, (v/v).

Pregătirea probelor pentru analiza conținutului izotopic prin tehnica IRMS a fost efectuată astfel: apa din ciupercile proaspete a fost extrasă prin distilare criogenică, fără fracționare izotopică. Valorile  $\delta^{18}\text{O}$  și  $\delta^2\text{H}$  în apa extrasă din ciuperci au fost determinate folosind un

analizor elementar DLT-100 Los Gatos Research. Pentru a determina  $\delta^{13}\text{C}$ , probele au fost uscate la 55 °C timp de 24 de ore și analizate utilizând un spectrometru de masă Delta V Advantage cu operare duală (Thermo Scientific).

Valorile sunt exprimate ca  $\delta$  (‰), pentru  $\delta^{13}\text{C}$  față de Vienna Pee Dee Belemite, pentru  $\delta^{18}\text{O}$  față de Vienna Standard Mean Ocean Water și pentru  $\delta^2\text{H}$ , folosind expresia:

$$\delta X = (R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}$$

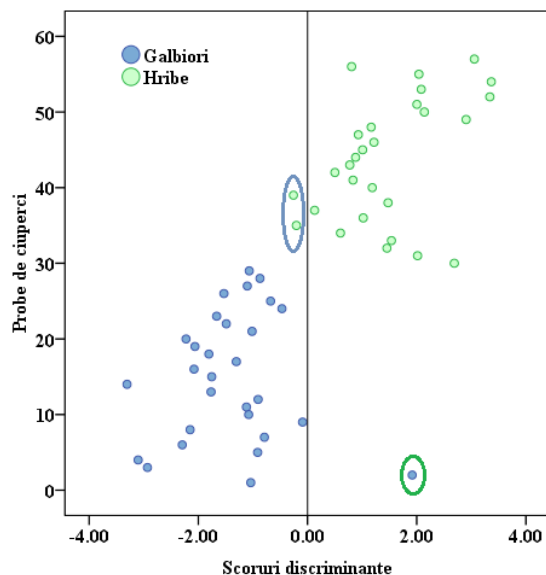
unde  $R_{\text{sample}}$  este raportul izotopic al probei, iar  $R_{\text{standard}}$  este raportul izotopic al standardului.

Valorile medii ale macroelementelor P și Na au prezentat valori mai mari la probele de hribe, spre deosebire de K și Mg care au prezentat valori medii mai mari la gălbiori. În ceea ce privește elementele toxice, As, Hg, Cd și Pb au avut valori medii mai mari în probele de hribe comparativ cu cele de gălbiori. Celelalte elemente au avut variații diferite la cele două specii de ciuperci analizate, de exemplu valoarea medie a Cu și Mn a fost mai mare în probele de gălbiori, comparativ cu Zn și Mn, care au avut valori medii mai mari la hribe.

Compoziția izotopică oferă în general informații despre condițiile climatice și geografice (temperatură, umiditate, precipitații, altitudine) ale probei analizate. Valorile deuteriului au variat între -84,20 ‰ și -1,20 ‰, pentru  $\delta^{13}\text{C}$  intervalul a fost -27,30 ‰ și -22,30 ‰, iar pentru  $\delta^{18}\text{O}$  intervalul de variație a fost între -12,10 ‰ și 3,00 ‰.

Rezultatele experimentale obținute din analiza IRMS și ICP-MS au fost transferate într-un singur fișier de date, care a constituit matricea de lucru pentru prelucrarea chemometrică ulterioară. Prelucrarea inițială a constat în eliminarea unor elemente care se aflau sub limita de detecție pentru mai mult de jumătate din probele analizate și care altfel ar fi putut duce la rezultate statistice eronate.

După aplicarea ANOVA, următorii markeri au fost evidențiați:  $\delta^{13}\text{C}$  ( $p=0,001$ ), P ( $p=0,016$ ), Zn ( $p=0,010$ ), As ( $p=0,001$ ), Ag ( $p=0,001$ ), Cd ( $p=0,001$ ), Hg ( $p=0,001$ ). Analiza discriminantă liniară (LDA) a oferit un model care a condus la o clasificare inițială, precum și la validarea încrucișată de 94,7%. Diferență față de o clasificare ideală se datorează eşantioanelor atribuite greșit (o probă de gălbiori și două de hribe). Distribuția probelor poate fi observată în Figura 1.



**Figura 1** Distribuția ciupercilor obținută după LDA, pe baza  $\delta^{13}\text{C}$ , P și K

Predictorii pe baza cărora a fost obținută această distribuție sunt:  $\delta^{13}\text{C}$ , P și K. Se poate observa că valorile medii pentru hribe ( $\delta^{13}\text{C}=-24,4821\text{ ‰}$ ,  $P=12297,39\text{ }\mu\text{g/g}$ ,  $K=45665,71\text{ }\mu\text{g/g}$ ) sunt mai mari pentru toți cei trei predictorii, comparativ cu valorile medii pentru galbiori ( $\delta^{13}\text{C}=-26,0448\text{ ‰}$ ,  $P=7233,01\text{ }\mu\text{g/g}$  și  $K=65047,81\text{ }\mu\text{g/g}$ ).

**Diseminarea rezultatelor** pentru această etapă a proiectului a constat în:

- ✓ Inițierea paginii web a proiectului <https://www.itim-cj.ro/PNCIDI/agrichem/>
- ✓ Set de date experimentale, cu date izotopice și multielementale, pentru mostre de ciuperci autentice
- ✓ Model chemometric dezvoltat pe baza unor markeri specifici pentru trasabilitatea ciupercilor
- ✓ Articol științific ISI: Ioana Feher, Dana Alina Magdas, Cezara Voica, Gabriela Cristea, Costel Sârbu, Fuzzy Divisive Hierarchical Associative-Clustering Applied to Different Varieties of White Wines Conform Their Multi-Elemental Profiles, *Molecules*, 2020, 25(), 4955-4965 (ISI = 3.267)
- ✓ Raport de activitate

Data

03.12.2020

Director de proiect

Dr. Ioana Feher