

# Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

Αγγελική Κ. Χαραλάμπους<sup>1,2</sup>, Γεώργιος Ε. Μηλιάδης<sup>2</sup>, Μιχαήλ Α. Κουπάρης<sup>1</sup>

1) Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15771, Ελλάδα

2) Εργαστήριο Υπολειμμάτων, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, 14561 Κηφισιά,  
Ελλάδα

e-mail: [a.charalampous@bpi.gr](mailto:a.charalampous@bpi.gr)

## Περίληψη

Η εκτεταμένη χρήση φυτοφαρμάκων στη γεωργία, με σκοπό την αύξηση της παραγωγής και των κερδών, έχει ως αναπόφευκτο αποτέλεσμα την επιμόλυνση των υπόγειων και των επιφανειακών νερών, κυρίως σε περιοχές με έντονη γεωργική δραστηριότητα. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων προσδιορίζονται τα τελευταία χρόνια κυρίως με μεθόδους φασματομετρίας μάζας. Συγκεκριμένα η υγρή χρωματογραφία συνδεδεμένη με αναλυτή μάζας τριπλού τετραπόλου χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε νερά και τρόφιμα. Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μια πολυδύναμη μέθοδος για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων 227 φυτοφαρμάκων σε νερά σύμφωνα με την οδηγία SANCO/10684/2009. Η μέθοδος περιλαμβάνει απομόνωση των αναλυτών με εκχύλιση στερεής φάσης (SPE) σε φυσίγγια Oasis HLB και ακολουθεί προσδιορισμός τους με τις τεχνικές υγρής και αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή μάζας τριπλού τετραπόλου (LC-MS/MS, GC-MS/MS). Η μέθοδος επικυρώθηκε σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων (0.01, 0.1, 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), με αξιολόγηση των παραμέτρων ορθότητας, πιστότητας, ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης. Για όλους τους αναλύτες κατασκευάστηκαν καμπύλες βαθμονόμησης και μελετήθηκε η ανάλυση παλινδρόμησης. Η μέθοδος για την πλειονότητα των αναλυτών κρίθηκε κατάλληλη δίνοντας αποδεκτές τιμές ορθότητας, πιστότητας και ορίων ανίχνευσης.

*Λέξεις κλειδιά: Φυτοφάρμακα, Νερά, SPE, LC-MS/MS, GC-MS/MS*

Α. Χαραλάμπους<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012

## Abstract

The extensive use of pesticides in agriculture in order to increase production and profits has as an inevitable result the contamination of underground and surface water, mainly around areas where intensive agricultural practices are followed. Throughout years a big variety of pesticides has been produced and disposed in market; pesticides with different mode of action and pesticides of different chemical categories and physicochemical properties. Pesticides are analyzed in the recent years by means of mass spectrometry. In particular, liquid chromatography coupled to triple quadruple mass spectrometer is an invaluable technique for the control of pesticide residues to ensure food and water safety. In the present study a multiresidue method for the determination of 227 pesticides in water was developed and validated according to SANCO/10684/2009 guideline. Solid Phase Extraction (SPE) using Oasis HLB cartridges was used for the quantitative extraction of pesticides from low to high polarities followed by tandem mass spectroscopy coupled to Liquid and Gas Chromatography. The technique used was the multiple reaction monitoring mode (MRM) in order to have higher degree of selectivity. The method was validated at three concentration levels (0.01, 0.1, 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) by assessing the following parameters: accuracy, precision, limit of quantification. Calibration curves were established for all analytes and regression analysis was performed at 95% confidence level. The method was found suitable for the detection of the analytes having acceptable values of the assessed parameters in most cases.

*Keywords: Pesticides, Water, SPE, LC-MS/MS, GC-MS/MS*

Α. Χαραλάμπος<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012

## 1. Εισαγωγή

Οι εντατικές γεωργικές πρακτικές και η χρήση γεωργικών φαρμάκων με στόχο την προστασία των καλλιεργειών και την αύξηση της παραγωγής, έχουν ως αποτέλεσμα την εισροή στο φυσικό περιβάλλον σημαντικών ποσοτήτων γεωργικών φαρμάκων που επηρεάζουν αρνητικά τους φυσικούς πόρους, και επιβαρύνουν τόσο τα επιφανειακά όσο και τα υπόγεια ύδατα. Αυτό οφείλεται κυρίως στην κίνηση των γεωργικών φαρμάκων είτε κατά τη διάρκεια της εφαρμογής τους, είτε μεταγενέστερα, και σε άλλα σημεία, πέραν του αρχικού στόχου. Η κατανομή και η τύχη των γεωργικών φαρμάκων στο περιβάλλον περιγράφεται αναλυτικά από τους Leonard et al. το 1976 [1]. Μέχρι και σήμερα οι κύριοι τρόποι μεταφοράς των φυτοφαρμάκων είναι: 1) η απορροή προς υπόγεια και επιφανειακά ύδατα, 2) η πλάγια κίνηση κατά τη διάρκεια του ψεκασμού σε μεγάλες αποστάσεις, 3) η απορροή παράλληλα με τη διάβρωση του εδάφους, και 4) η εξάτμιση από τις επιφάνειες εφαρμογής, η μετακίνηση μέσω της ατμόσφαιρας και η επαναφορά στο έδαφος μέσω της βροχής ή του χιονιού. Το παγκόσμιο ενδιαφέρον για τη μετακίνηση των γεωργικών φαρμάκων προς τα υπόγεια και τα επιφανειακά ύδατα, υπερβαίνει τις τρεις δεκαετίες, όταν στις Ηνωμένες Πολιτείες, μελέτες έδειξαν πως τα φυτοφάρμακα aldicarb και DBCP είχαν ήδη επιμολύνει υπόγεια ύδατα που προορίζονταν για ανθρώπινη κατανάλωση [2,3]. Η συνειδητοποίηση αυτή οδήγησε σε ευρύτερες έρευνες για την παρουσία φυτοφαρμάκων σε υδάτινους πόρους τόσο στην Αμερική όσο και σε ευρωπαϊκές χώρες. Το 1998 με την οδηγία 98/83/EK της ευρωπαϊκής ένωσης καθορίζεται η ποιότητα των νερών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση και θεσπίζονται ανώτατες επιτρεπτές συγκεντρώσεις για την παρουσία χημικών ουσιών, ανάμεσα στις οποίες και γεωργικών φαρμάκων. Όσον αφορά στα γεωργικά φάρμακα, η ανώτατη επιτρεπτή συγκέντρωση για μεμονωμένη παρουσία ορίζεται στα  $0,1 \mu\text{gL}^{-1}$ , ενώ σε περίπτωση παρουσίας περισσότερων της μίας ουσιών, η συνολική συγκέντρωσή τους δεν πρέπει να ξεπερνάει τα  $0,5 \mu\text{gL}^{-1}$  [4]. Το 2001 με την οδηγία 2455/2001/EK καθορίζεται ένα σύνολο 33 ουσιών προτεραιότητας (priority substances), λαμβάνοντας υπόψη την επικινδυνότητά τους, για τις οποίες προβλέπεται η σταδιακή απαγόρευση ή η παύση των απορρίψεων, εκπομπών και διαρροών σε διεθνείς συμφωνίες. Ανάμεσα στις ουσίες αυτές συμπεριλαμβάνονται και τα εξής 12 φυτοφάρμακα:alachlor, atrazine, chlorfenvinphos, chlorpyrifos, diuron, alpha endosulfan, hexachlorobenzene, HCH, lindane, isoproturon, simazine και trifluralin [5]. Κι ενώ μέχρι τότε όλες οι οδηγίες αφορούσαν στα πόσιμα νερά, το 2008 με την οδηγία 2008/105/EK, καθορίζονται πρότυπα ποιότητας του περιβάλλοντος σε σχέση με ουσίες προτεραιότητας και ορισμένους άλλους ρύπους, με στόχο την επίτευξη καλής χημικής σύστασης των επιφανειακών υδάτων[6].

Στη διάρκεια των χρόνων πολλές μέθοδοι έχουν δημοσιευτεί όσον αφορά στον προσδιορισμό γεωργικών φαρμάκων σε νερά. Η προετοιμασία των δειγμάτων και η απομόνωση των αναλυτών πραγματοποιείται συνήθως με εκχύλιση και κατανομή

Α. Χαράλαμπος<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012

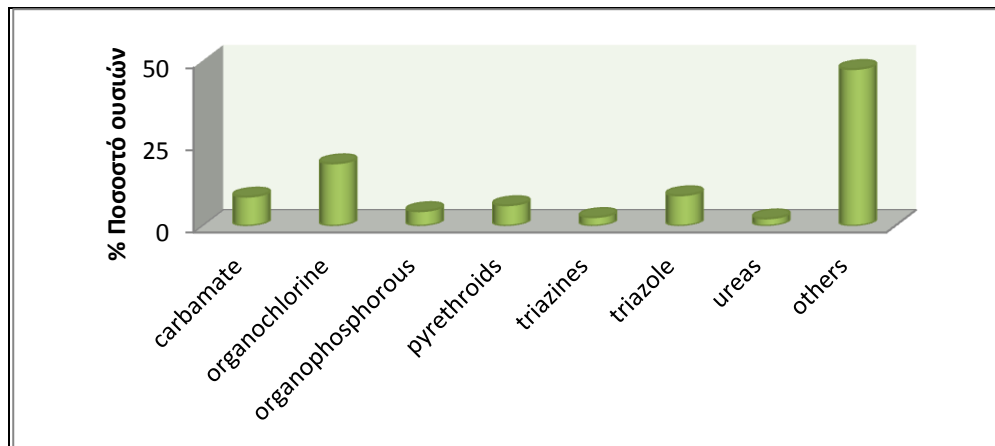
μεταξύ 2 υγρών (LLE) [7-9], ή με εκχύλιση στερεής φάσης (SPE) [10-13]. Η εκχύλιση LLE είναι χρονοβόρα και κοστίζει γιατί απαιτεί τη χρήση μεγάλου όγκου οργανικών διαλυτών. Επιπλέον κρίνεται ακατάλληλη ως τεχνική για την παραλαβή από το νερό πολικών φυτοφαρμάκων και των μεταβολιτών τους. Με την εκχύλιση στερεής φάσης απαιτείται μικρός όγκος διαλυτών και δείγματος και η πληθώρα προσροφητικών υλικών καθιστά ικανή την εκχύλιση και απομόνωση πολλών κατηγοριών φυτοφαρμάκων. Επίσης ο μικρός όγκος διαλυτών που απαιτείται για την έκλυση διατηρεί τη συγκέντρωση του αναλύτη υψηλή και δίνει έτσι τη δυνατότητα προσδιορισμού μικρών συγκεντρώσεων. Επιπλέον, επειδή δεν υπάρχει ανάγκη διαχωρισμού των φάσεων, το συνολικό κλάσμα του αναλύτη συλλέγεται εύκολα, ελαχιστοποιώντας τα σφάλματα που συνδέονται με μεταβαλλόμενους ή ανακριβώς μετρημένους εκχυλιζόμενους όγκους. Τέλος τα αιωρούμενα στο νερό σωματίδια κατακρατώνται από το πορώδες υλικό του φυσιγγίου και έτσι απομακρύνονται από το κλάσμα του αναλύτη. Ανάμεσα στα εμπορικά διαθέσιμα προσροφητικά μεγαλύτερη συχνότητα χρήσης παρουσιάζει το αντίστροφης φάσης δεκαοκτυλοσιλοξάνιο (C18), το οποίο όμως κρίνεται κατάλληλο κυρίως για αναλύτες χαμηλής έως μέτριας πολικότητας. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν μια τάση για χρήση πιο υδρόφιλων πολυμερών υλικών κατάλληλων για μη πολικούς έως μετρίως πολικούς αναλύτες [14-17], ενώ για πολύ πολικούς ή όξινους αναλύτες χρησιμοποιούνται κυρίως συμπολυμερή στυρενίου-διβινυλοβενζολίου [14-16]. Ένας μεγάλος αριθμός τεχνικών χρησιμοποιείται μετά την κατεργασία του δείγματος για τον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων στα νερά, όπως αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD) [18-21], ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου (NPD) [21-22], αναλυτή μάζας απλού ή τριπλού τετραπόλου καθώς και τεχνικές υγρής χρωματογραφίας με ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων (DAD), φθορισμομετρικό ανιχνευτή και αναλυτή μάζας τριπλού τετραπόλου [21-26]. Η τάση για τη χρήση ολοένα και πιο πολικών φυτοφαρμάκων τείνει να καθιερώσει την υγρή χρωματογραφία κυρίως σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας ως την κύρια επιλογή χρωματογραφικού συστήματος για την ανάλυση δειγμάτων νερού.

## 2. Μεθοδολογία

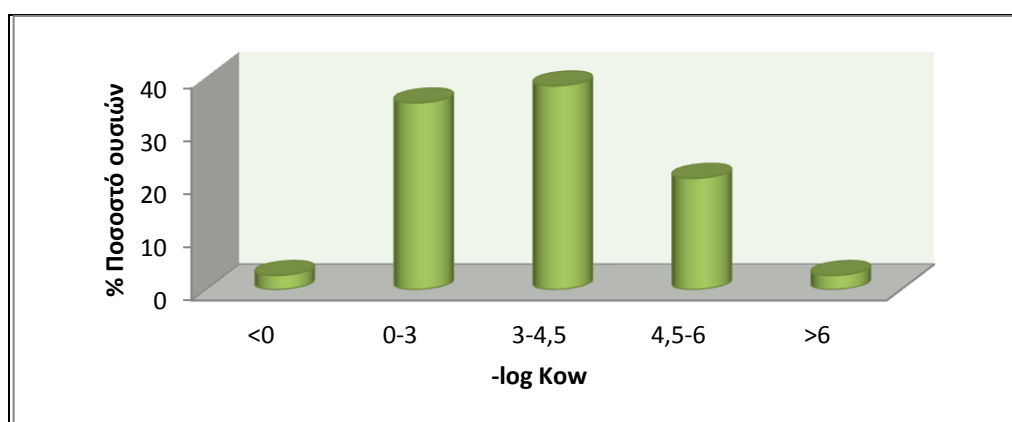
Επιλέχθηκαν 227 αναλύτες με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες. Περιλαμβάνονται πολικές και μη, ενώσεις, με διάφορες μοριακές μάζες οι οποίες ανήκουν σε διαφορετικές χημικές κατηγορίες και έχουν διαφορετικό τρόπο δράσης (μυκητοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, κλπ). Στα σχήματα 1α και 1β παρουσιάζονται αντίστοιχα η κατανομή των επιλεχθέντων αναλυτών α) με βάση τη χημική κατηγορία στην οποία ανήκουν και β) την πολικότητά τους, εκφρασμένη ως  $\log K_{ow}$ .

Α. Χαραλάμπους<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012



Σχήμα 1α: Κατανομή των αναλυτών βάσει χημικής κατηγορίας



Σχήμα 1β: Κατανομή των αναλυτών βάσει της πολικότητας (-log Kow )

## 2.1 Σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας- Φασματομετρία μάζας

Χρησιμοποιήθηκε υγροχρωματογράφος Agilent 1200 Series Quaternary system και ο διαχωρισμός επιτεύχθηκε με στήλη Eclipse XDB C18, (μήκους 15 cm, εσωτερικής διαμέτρου 2,1 mm και μεγέθους σωματιδίων 3,5 μm). Η ροή του διαλύτη διατηρήθηκε σταθερή και ίση με 0,3 mL/min. Η κινητή φάση αποτελείται από νερό- 5 mM μυρμηγκικό αμμώνιο-0,1% μυρμηγκικό οξύ-0,02 % ακετονιτρίλιο (διαλύτης Α) και μεθανόλη- 5 mM μυρμηγκικό αμμώνιο-0,1% μυρμηγκικό οξύ-0,02 % (διαλύτης Β). Το πρόγραμμα έκλουσης για την % περιεκτικότητα του διαλύτη Β είναι: 30% από 0 έως 2 min, άνοδος σε 60 % έως τα 12 min, άνοδος σε 100 % έως τα 30 min, ισοκρατικά έως τα 35 min και μείωση σε 30 % στα 35,1 min. Μετά η στήλη εξισορροπείται ξανά επί 10 min με την αρχική σύσταση της κινητής φάσης κι έτσι ο συνολικός χρόνος που απαιτείται για κάθε έγχυση είναι 45 min. Εγχύονται 5 μL για να αποφεύγονται φαινόμενα επιμόλυνσης λόγω υπερφόρτωσης (carry-over), ενώ ο αυτόματος εγχυτής μετά την έγχυση ξεπλένεται με μίγμα μεθανόλης νερού σε

Α. Χαράλαμπος<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

αναλογία ένα προς ένα. Για τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε αναλυτής μάζας τριπλού τετραπόλου (Agilent model 6400) με πηγή ιονισμού ηλεκτροδιάχυσης σε θετικό δυναμικό λειτουργίας (ESI+). Οι τιμές δυναμικού τριχοειδούς (capillary voltage) και οι τιμές για την ενέργεια σύγκρουσης (collision cell energy) στο δεύτερο «τετράπολο» εξαρτήθηκαν από το πρόδρομο ιόν κάθε περίπτωσης. Η θερμοκρασία της πηγής ιονισμού ορίστηκε στους 250 °C, η ταχύτητα ροής του αερίου ξήρανσης στα 11 Lmin<sup>-1</sup>, η πίεση του αερίου εκνέφωσης στα 45 psi και το δυναμικό τριχοειδούς (capillary voltage) στα 3000 V. Όλοι οι προσδιορισμοί έγιναν σε λειτουργία πολλαπλής παρακολούθησης μεταπτώσεων (multiple reaction monitoring mode - MRM), με στόχο καλύτερες τιμές λόγου σήματος προς θόρυβο.

## 2.2 Σύστημα Αέριας Χρωματογραφίας - Φασματομετρία μάζας

Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας αποτελείτο από αεριοχρωματογράφο Varian 1200 και ο διαχωρισμός επιτεύχθηκε με στήλη τύπου DB-5-MS (30 m, 0,32 mm και πάχος υμένα 0,25 μm). Το σύστημα είχε εγχυτή PTV με πρόγραμμα έγχυσης 90 °C (0,75 min), άνοδος στους 280 °C με ρυθμό ανόδου 200°C/ min και κάθοδο στους 90 °C με ρυθμό 200°C/ min. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα διαχωρισμού είχε ως εξέλιξη: από 70 °C (2 min), άνοδος στους 180 °C με ρυθμό ανόδου 30°C/ min, άνοδος στους 230 °C με ρυθμό ανόδου 1,8°C/ min, άνοδος στους 280 °C με ρυθμό ανόδου 30°C/ min. Εγχύονται 5 μL του τελικού εκχυλίσματος του δείγματος σε λειτουργία split. Για τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε αναλυτής μάζας τριπλού τετραπόλου με ιονισμό πρόσκρουσης ηλεκτρονίων (EI) σε θετικό δυναμικό λειτουργίας. Η θερμοκρασία του διασυνδετή ορίστηκε στους 280 °C και της πηγής ιονισμού στους 250 °C. Όγκος έγχυσης 5 μL.

## 2.3 Προετοιμασία δείγματος

Οι αναλύτες κατακρατούνται με εκχύλιση στερεάς φάσης σε φυσίγγια Water Oasis<sup>®</sup> HLB. Τα φυσίγγια φέρουν ως προσροφητικό το συμπολυμερές polydivinylbenzene-co-N-vinylpyrrolidone, το οποίο παρουσιάζει μια ισορροπία μεταξύ υδρόφιλου και λιπόφιλου χαρακτήρα και είναι κατάλληλο τόσο για ουδέτερες όσο και για όξινες ή βασικές ενώσεις. Τα φυσίγγια ενεργοποιούνται με 5 mL οξικού αιθυλεστέρα και 5 mL μεθανόλης και εξισορροπούνται με 5 mL νερού καθαρότητας HPLC. Στη συνέχεια διαβιβάζονται με τη βοήθεια αντλίας 500 mL δείγματος με ταχύτητα ροής 15 mLmin<sup>-1</sup>. Τα φυσίγγια αφήνονται να στεγνώσουν με τη διαβίβαση αέρα για 45 min. Το σύνολο των αναλυτών που κατακρατήθηκαν στο φυσίγγιο εκλούνται με τη διαδοχική διαβίβαση από το φυσίγγιο 5 mL οξικού αιθυλεστέρα και 5 mL μεθανόλης. Το έκλουσμα οδηγείται σε συσκευή περιστρεφόμενης απόσταξης κενού όπου και εξατμίζεται μέχρι ξηρού. Το ξηρό υπόλειμμα παραλαμβάνεται σε 1 mL ακετονιτριλίου και το διάλυμα που προκύπτει εγχύεται στα δύο χρωματογραφικά συστήματα.

Α. Χαράλαμπος<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

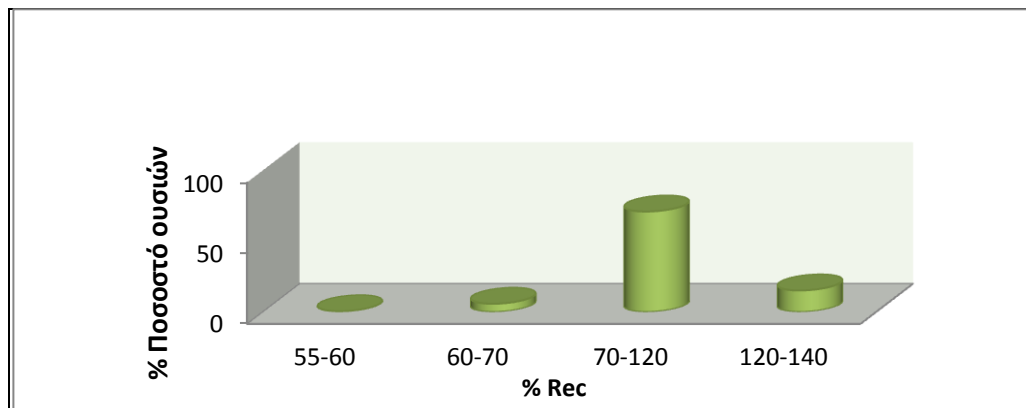
4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012

### 3. Επικύρωση μεθόδου

Η μέθοδος επικυρώθηκε σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων (0,01, 0,1, 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) με προσδιορισμό των ακόλουθων παραμέτρων: ορθότητα, πιστότητα, όριο ποσοτικοποίησης και εκτίμηση της αβεβαιότητας. Για όλους τους αναλύτες έγιναν καμπύλες βαθμονόμησης και ανάλυση παλινδρόμησης σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%.

#### 3.1 Ορθότητα

Η ορθότητα της μεθόδου εκτιμήθηκε για κάθε ένα από τα επίπεδα εμβολιασμού, βάσει των ανακτήσεων που έδωσαν τα πειράματα ανάκτησης, για κάθε έναν αναλύτη. Στο Σχήμα 2 που ακολουθεί δίνεται η κατανομή των αναλυτών βάσει των ανακτήσεων που έδωσαν στο χαμηλότερο επίπεδο επικύρωσης για κάθε αναλύτη.



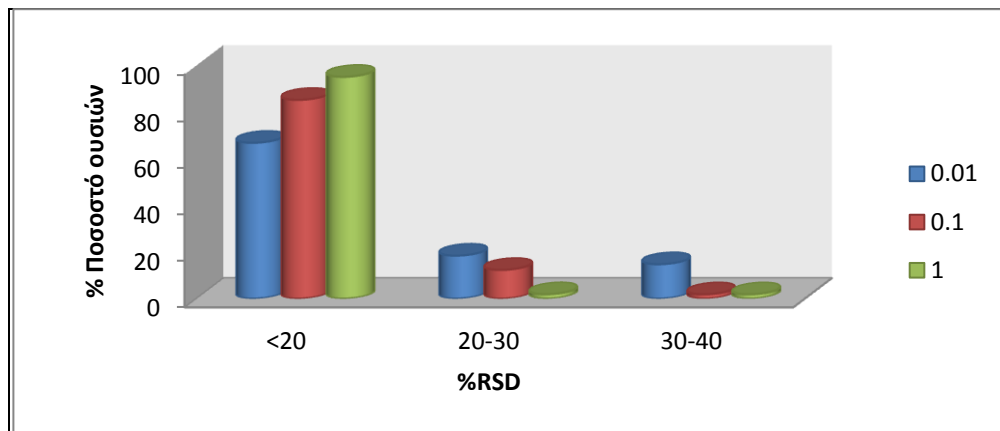
Σχήμα 2: Κατανομή των αναλυτών βάσει των τιμών της % ανάκτησης

#### 3.2 Πιστότητα

Τα αποτελέσματα από τα πειράματα ανάκτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της πιστότητας της μεθόδου ή αλλιώς επαναληψιμότητας. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ανάκτησης, τα δείγματα περνούν απ όλα τα στάδια της αναλυτικής διαδικασίας κι έτσι αντανακλούν όλες τις παραμέτρους που συμβάλλουν στην αβεβαιότητα της μεθόδου (αβεβαιότητα λόγω προετοιμασίας δείγματος και αβεβαιότητα λόγω χρωματογραφικού συστήματος). Γενικώς η πιστότητα μιας μεθόδου είναι συνάρτηση του επιπέδου συγκέντρωσης του αναλύτη, κι έτσι οι τιμές RSD για έναν συγκεκριμένο αναλύτη μπορεί να διαφέρουν για τα διάφορα επίπεδα μελέτης.

Α. Χαραλάμπους<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012



Σχήμα 3: Κατανομή τιμών % RSD στα διάφορα επίπεδα συγκέντρωσης για μελέτη της πιστότητας

### 3.3 Όριο ποσοτικοποίησης

Ως όριο ποσοτικοποίησης ορίστηκε το χαμηλότερο επίπεδο εμβολιασμού για το οποίο τα πειράματα έδωσαν αποδεκτές τιμές ορθότητας και πιστότητας, σύμφωνα με τις απαιτήσεις του SANCO/Document/10684/2009. Έτσι για όσους αναλύτες ο προσδιορισμός έγινε με υγρή χρωματογραφία, το όριο ποσοτικοποίησης ορίζεται στα  $0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$ , ενώ για όσους έγινε με αέρια χρωματογραφία το όριο ποσοτικοποίησης ορίζεται στα  $0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Το όριο ανίχνευσης για κάθε αναλύτη ορίζεται στο ένα τρίτο του ορίου ποσοτικοποίησης.

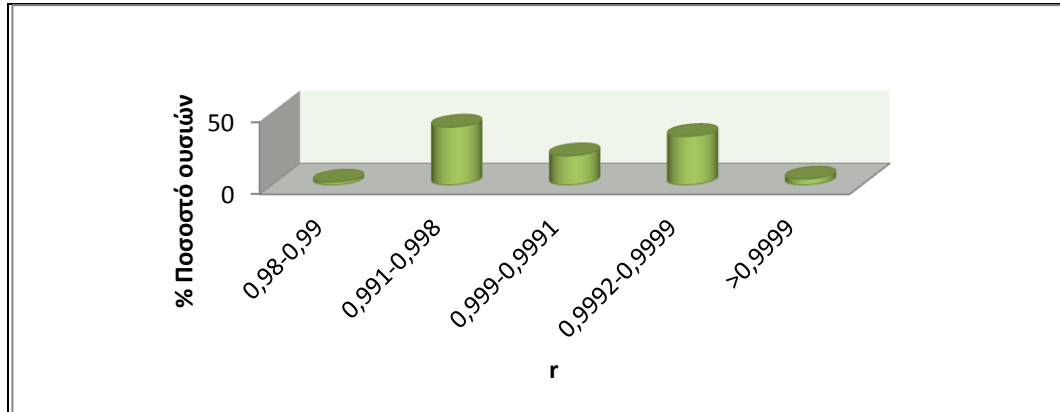
### 3.4 Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα της μεθόδου για κάθε αναλύτη, εκτιμήθηκε σε εύρος συγκεντρώσεων από  $0,0035-0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ , σε 9 επίπεδα συγκεντρώσεων για όσους αναλύτες ο προσδιορισμός έγινε με υγρή χρωματογραφία. Στην περίπτωση της αέριας χρωματογραφίας η μελέτη γραμμικότητας έγινε σε εύρος συγκεντρώσεων  $0,01-0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ , σε 6 επίπεδα συγκεντρώσεων. Στο Σχήμα 4 δίνεται η κατανομή του συνόλου των ουσιών με βάση τις τιμές του συντελεστή συσχέτισης r.

Α. Χαραλάμπους<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012





Σχήμα 4: Κατανομή τιμών του συντελεστή συσχέτισης (r) για έλεγχο της γραμμικότητας

#### 4. Βιβλιογραφία

- 1) R.A. Leonard, G.W. Bailey and R.R. Swank, Transport, detoxification, fate and effects of pesticides in soil and water environments. In Land Application of Waste materials, pp 48-78. Soil Conservation Society of America (1976).
- 2) M.H. Zaki, D.Moran and D.Harris. Pesticides in ground water: the aldicarb story in Suffolk Country, NY, Am. J. Public health, 72:1391-5, 1982.
- 3) P.W. Holden. Pesticides and ground water quality. Issues and problems in four states. National Academy press, Washington DC, (1986).
- 4) Council Directive 98/83/EC of the European Council of 3<sup>rd</sup> November 1998. On the quality of water intended for human consumption. Official Journal of the European Communities L330, 5.12.1998, p. 32-54.
- 5) Decision No 2455/2001/ EC of the European Parliament and the Council of 20<sup>th</sup> November 2001. Establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending Directive 200/60/EC. Official Journal of the European Communities L331,15.12.2001, p. 1-5.
- 6) Council Directive 2008/105/EC of the European Parliament and the Council of 16<sup>th</sup> December 2008, on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Communities L348, 24.12.2001, p. 84-97.
- 7) R. Jeannot, H. Sabik, E. Sauvard, E. Genin, J. Chromatogr. A 879 (2000) 51.
- 8) L. Sun, H. K. Lee, J. Chromatogr. A 1014 (2003) 153.
- 9) F. Liu, G. Bischoff, W. Pestemer, W. Xu, A. Kofoet, Chromatographia 63 (2006) 233.

Α. Χαράλαμπος<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

- 10) F. Hernandez, J.V. Sancho, O. Pozo, A. Lara, E. Pitarch, *J. Chromatogr. A* 939 (2001) 1.
- 11) R.A. Yokley, L.C. Mayer, S.B. Huang, J.D. Vargo, *Anal. Chem.* 74 (2002) 3754.
- 12) L.L.E. Atrache, S. Sabbah, J.P. Morizur, *Talanta* 65 (2005) 603.
- 13) L. Di Donna, F. Mazzotti, G. Sindona, A. Tagarelli, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19 (2005) 1575.
- 14) A.C. Hogenboom, M.P. Hofman, D.A. Jolly, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 885 (2000) 377.
- 15) A.A. Campiotti, A.C. Borba da Cunha, M.J. Lopez de Alda, D. Barceló, *Anal. Bioanal. Chem.* 382 (2005) 1815.
- 16) A.C. Borba da Cunha, M.J. Lopez de Alda, D. Barceló, T.M. Pizzolato, J.H.Z. dos Santos, *Anal. Bioanal. Chem.* 378 (2004) 940.
- 17) R.B. Geerdink, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 970 (2002) 65.
- 18) Y. Picó, M. Fernández, M.J. Ruiz, G. Font, *J. Biochem. Biophys. Methods* 70 (2007) 117.
- 19) G.E. Miliadis, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 50 (1993) 247.
- 20) G.E. Miliadis, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61 (1998) 255.
- 21) T. Lekkas, G. Kolokythas, A. Nikolaou, M. Kostopoulou, A. Kotrikla, G. Gatidou, N.S. Thomaidis, S. Goulinopoulos, C. Makri, D. Babos, M. Vagi, A. Stasinakis, A. Petsas, D.F. Lekkas, *Environ. Int.* 30 (2004) 995.
- 22) T.A. Albanis, D.G. Hela, T.M. Sakellarides, I.K. Konstantinou, *J. Chromatogr. A* 823 (1998) 59.
- 23) R. Bossi, K.V. Vejrup, B.B. Mogensen, W.A.H. Asman, *J. Chromatogr. A* 957 (2002) 27.
- 24) F. Liu, G. Bischoff, W. Pestemer, W. Xu, A. Kofoet, *Chromatographia* 63 (2006) 233.
- 25) M. Kuster, M. López de Alda, D. Barceló, *Mass Spectrom. Rev.* 25 (2006) 900.
- 26) M. Kuster, M. López de Alda, D. Barceló, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 520.

Α. Χαραλάμπους<sup>1,2</sup>, Γ. Μηλιάδης<sup>1</sup>, Μ. Κουπάρης<sup>2</sup> Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο<sup>1</sup>, Τμήμα Χημείας - Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
 Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε νερά με τεχνικές LC-MS/MS και GC-MS/MS

4<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας  
 Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου  
 Αθήνα, 3-4 Φεβρουαρίου 2012