ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ-ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ ΤΡΙΠΛΟΥ ΤΕΤΡΑΠΟΛΟΥ

Γιώργος Μηλιάδης, Πέτρος Τσιάντας και Γιώργος Σειραγάκης
Food Allergens Laboratory, Αθήνα, Ρέθυμνο, Λάρνακα
E-mail: info@foodallergenslab.com

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήθηκαν τα πιο κοινά προβλήματα που παρουσιάζονται στις αναλύσεις τροφίμων με τη χρήση της υγρής χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας τριπλού τετραπόλου (LC-MS/MS). Αφορούσαν σε ενώσεις με χαμηλές ανακτήσεις, χαμηλή ευαισθησία στη μια από τις δυο μεταπτώσεις, κοινή μετάπτωση με το υπόστρωμα ή με άλλους αναλύτες, καθώς επίσης και με τον διαλύτη. Επιπλέον, μελετήθηκε το φαινόμενο επίδρασης του υποστρώματος στη μέτρηση (matrix effect). Η σημαντικότητα του κάθε προβλήματος μελετήθηκε πειραματικά με τη χρήση αντιπροσωπευτικών ενώσεων. Για την εκχύλιση των φυτοφαρμάκων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος QuEChERS [1]. Η μελέτη περιλαμβάνει 128 αναλύτες που αντιπροσωπεύουν διάφορες κατηγορίες χημικών ομάδων, πολικότητας και μοριακής μάζας σε 8 προϊόντα τροφίμων που αντιπροσωπεύουν διάφορες κατηγορίες υποστρωμάτων. Λευκά υποστρώματα φορτίστηκαν στα 33.3 μg/kg και 167 μg/kg, τα οποία και αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας διαφορετικές συνθήκες LC-MS/MS προκειμένου να αξιολογηθεί η σημαντικότητα τις κάθε παραμέτρου. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν μακροπρόθεσμα δεδομένα (18 μηνών) καταλληλότητας του συστήματος LC-MS/MS, προκειμένου να αξιολογηθούν η μεταβλητότητα του χρόνου κατακράτησης των αναλυτών καθώς και η αναλογία ιόντων στο όριο ανίχνευσης. Η αξιολόγηση αυτή έγινε με χρήση 6 αντιπροσωπευτικών ενώσεων και με τα αντίστοιχα διαγράμματα ελέγχου.

Λέξεις-Κλειδιά: LC-MS/MS, τρόφιμα, φυτοφάρμακα

ABSTRACT

The most common problems encountered in LC-MS/MS analysis of food are cases of compounds with low recovery, low sensitivity in one transition, common transition with matrix or other analytes, as well as solvent and matrix effects. The significance of each case was experimentally investigated in this study by the use of representative compounds. The QuEChERS method was used for the extraction of pesticides. The study involved analysis of 128 pesticides representing various chemical classes, polarities and molecular masses, in 8 products representing different commodities of food matrices. Blank matrices fortified at 33.3 and 167 μg/kg, were analysed using different LC-MS/MS conditions in order to evaluate the significance of each parameter. Additionally long term LC-MS/MS system suitability data of

18 months were used to evaluate the variability of retention time and ion ratio at the limit of detection. This was assessed by the use of 6 representative compounds and the respective control charts.

Keywords: LC-MS/MS, food, pesticides.

1. Εισαγωγή

Η μέθοδος QuEChERS είναι μια από τις πιο κοινά εφαρμοζόμενες μεθόδους για αναλύσεις φυτοπροστατευτικών προϊόντων και άλλων ρυπαντών τροφίμων, η οποία παρέχει ανακτήσεις μεταξύ 70 και 120% για την πλειονότητα συνδυασμού αναλυτών/υποστρωμάτων. Η μέθοδος περιλαμβάνει χλωριούχο νάτριο για να μειώσει τις πολικές ουσίες-παρεμποδίσεις καθώς και ρυθμιστικά διαλύματα για τους ευαίσθητους σε αλκαλικό περιβάλλον αναλύτες. Για υποστρώματα με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, η Ευρωπαϊκή εκδοχή της μεθόδου χρησιμοποιεί εκχύλιση με ακετονιτρίλο παρουσία κιτρικών αλάτων για διατήρηση των τιμών pH μεταξύ 5 και 5,5. Ωστόσο για προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά η εκχύλιση πραγματοποιείται χωρίς χρήση των κιτρικών αλάτων [2]. Η κατάψυξη είναι ένα κρίσιμο στάδιο της διαδικασίας εκχύλισης των προϊόντων με υψηλή λιποπεριεκτικότητα, καθώς βοηθά στην καθίζηση συνεκχυλισμάτων με μικρή διαλυτότητα στο ακετονιτρίλιο, ενώ το μεγαλύτερο μέρος του λίπους και των κηρών στεροποιειούνται και καθιζάνουν. Παράλληλα, η απομάκρυνση της χλωροφύλλης από τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε αυτήν γίνεται με προσθήκη ενεργού άνθρακα, η οποία όμως οδηγεί σε μείωση κατά 25% της ανάκτησης ορισμένων φυτοφαρμάκων επίπεδης δομής.

Η υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μάζας τριπλού τετραπόλου (LC-MS/MS) επιτρέπει τον ταυτόχρονο, σύντομα και αποτελεσματικό προσδιορισμό πολλών ενώσεων. Η εκλεκτικότητα και η ευαισθησία είναι σημαντικά βελτιωμένες σε σύγκριση με τις παραδοσιακές τεχνικές χρωματογραφίας, επιτρέποντας να ελαχιστοποιηθούν τα στάδια προετοιμασίας του δείγματος και την εύκολη και αξιόπιστη ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση στα χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης που απαιτεί η ανάλυση υπολειμμάτων. Ωστόσο, υφίστανται περιορισμοί σε ορισμένες ενώσεις, όπως χαμηλή ευαισθησία σε μια ή και τις δύο μεταπτώσεις, κοινές μεταπτώσεις με ενώσεις του υποστρώματος, επιδράσεις του διαλύτη, κ.ά.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι μέσω επικύρωσης με 128 αντιπροσωπευτικούς αναλύτες να βρεθούν: α) το ποσοστό επίδρασης του υποστρώματος και η ανάγκη χρήσης προτύπων που περιέχουν το υπόστρωμα, β) το ποσοστό των χαμηλών ανακτήσεων ακόμη και όταν γίνεται αναίρεση του υποστρώματος στη μέτρηση, γ) ουσίες με χαμηλή ευαισθησία και δ) επίδραση διαλυτών και τρόποι αντιμετώπισης αυτών των προβλημάτων. Επιπλέον, από δεδομένα 18 μηνών ελέγχου καταλληλότητας του LC-MS/MS, έγινε αξιολόγηση της μεταβλητότητας του χρόνου κατακράτησης και της αναλογίας ιόντων σε επίπεδο συγκέντρωσης 0.01mg/kg, που είναι και το όριο ανίχνευσης (L.O.D). Αυτό έγινε εφικτό με 6 αντιπροσωπευτικούς αναλύτες και τα αντίστοιχα διαγράμματα ελέγχου.

2. Υλικά και μέθοδοι

Πρότυπα αναφοράς φυτοφαρμάκων, καθαρότητας >98% αγοράστηκαν από τις εταιρίες

Ehrenstorfer GmbH, Sigma-Aldrich and ChemService. Οι διαλύτες ακετονιτρίλιο, μεθανόλη και νερό ήταν καθαρότητας HPLC. Το υλικό PSA, 40 μm Bondesil (Primary secondary amine) ήταν από την Varian Inc.,USA, το θειικό μαγνήσιο από την Acros Organics και ο ενεργός άνθρακας (GCB) από την Sigma-Aldrich Chemie GmbH. Παρασκευάστηκαν πυκνά διαλύματα 1000 μg/mL κυρίως σε ακετόνη. Παρασκευάστηκε μίγμα των 128 αναλυτών σε ακετονιτρίλιο, συγκέντρωσης 1 μg/ml. Όλα τα διαλύματα αποθηκεύτηκαν στους -20 ^{o}C.

Η εκχύλιση των φυτοφαρμάκων έγινε με τη μέθοδο EN 15668. Για τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό ζυγίστηκαν 10 g δείγμα, ενώ για τα δημητριακά, τις ελιές και το λάδι 5 g. Για την εκχύλιση με ακετονιτρίλιο χρησιμοποιήθηκαν κιτρικά άλατα, και πρωτοταγής-δευτεροταγής αμίνη (PSA) για τον καθαρισμό του δείγματος με εκχύλιση διασποράς στερεής φάσης. Δε χρησιμοποιήθηκαν κιτρικά άλατα στις ελιές και στα λάδια.

Για τον προσδιορισμό των αναλυτών χρησιμοποιήθηκε υγροχρωματογράφος Agilent 1200 συνδεδεμένος με φασματόμετρο μάζας τριπλού τετραπόλου (Waters Quattro Premier) σε θετικό ιονισμό ESI^{+}, στήλη Eclipse XDB C-18, 2.1x150mm. Η βαθμιδωτή έκλουση είχε ως διαλύτη A 0.1% HCOOH, 5 mM $HCOONH_4$, 20% MeOH σε νερό και ως διαλύτη B 0.1% HCOOH, 5 mM $HCOONH_4$ σε μεθανόλη όπως φαίνεται στον παρακάτω Πίνακα 1. Η θερμοκρασία της στήλης ήταν 40 ^{o}C. Η ροή ήταν 0.250 mL/min. Πριν την κάθε ένεση 5 μL από το δείγμα αραιώνονταν με 20 μL νερό έτσι ώστε ο διαλύτης έγχυσης να προσομοιάζει με τη σύσταση της αρχικής κινητής φάσης. Το MS/MS ήταν σε λειτουργία MRM.

Πίνακας 1: Η βαθμιδωτή έκλουση που χρησιμοποιήθηκε

Time (min)	% Solvent A	% Solvent B
0,00	100,0	0,0
2,00	100,0	0,0
12,00	50,0	50,0
30,00	0	100,0
40,00	0	100,0
40,50	100,0	0,0

Για την επικύρωση χρησιμοποιήθηκαν αντιπροσωπευτικά υποστρώματα για να καλύψουν ένα ευρύ φάσμα προϊόντων. Η επιλογή αντιπροσωπευτικών προϊόντων έγινε με βάση τις οδηγίες της SANCO 12571/2013 [3]. Χρησιμοποιήθηκαν οκτώ προϊόντα από διάφορες κατηγορίες τροφίμων. Από τα δημητριακά το αλεύρι, από τα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά το λάδι, από τα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και ενδιάμεσης περιεκτικότητας σε νερό τρόφιμα οι ελιές, από τα υψηλής περιεκτικότητας σε νερό τρόφιμα 4 διαφορετικές κατηγορίες φρούτων και λαχανικών (μήλα, λάχανο, πιπεριές και πατάτες) και από τα όξινα και υψηλής περιεκτικότητας σε νερό προϊόντα τα πορτοκάλια. Δείγματα μάρτυρα επιλέχθηκαν από ήδη αναλυμένα στο εργαστήριο δείγματα, στα οποία δεν είχαν ανιχνευθεί υπολείμματα των αναλυτών.

3. Αποτελέσματα και συζήτηση

Η ακρίβεια, το όριο ανίχνευσης, η επίδραση του διαλύτη και του υποστρώματος αξιολογήθηκαν με σκοπό τον εντοπισμό αναλυτών που παρουσιάζουν προβλήματα στην

ταυτοποίηση ή στην ποσοτικοποίησή τους. Η παρούσα εργασία περιλαμβάνει δεδομένα από 128 αναλύτες και 8 υποστρώματα. Ως δείγματα μάρτυρα χρησιμοποιήθηκαν βιολογικά προϊόντα τα οποία ήταν γνωστό πως δεν είχαν υποστεί επεξεργασία με φυτοφάρμακα. Τα δείγματα μάρτυρα αναλύθηκαν για να επιβεβαιωθεί η απουσία αναλυτών και ύστερα έγιναν φορτίσεις σε δύο διαφορετικά επίπεδα αναλυτών 0.0333mg/kg και 0.167mg/kg. Τα υπό μελέτη φυτοφάρμακα ήταν αντιπροσωπευτικά από μια σημαντική ποικιλία χημικών κατηγοριών και φυσικοχημικών ιδιοτήτων όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Ο αριθμός των αναλυτών που μελετήθηκαν σε κάθε χημική κατηγορία και το εύρος των φυσικοχημικών ιδιοτήτων εντός της κατηγορίας.

Χημική ομάδα	Αριθμός αναλυτών που μελετήθηκαν	Διακύμανση τιμών		
		Διαλυτότητα H_2O, mg/L	$logk_{ow}$	Τάση ατμών, mPa
Amides	5	$0.9 – 26x10^3$	0.67 - 2.17	$2x10^{-4} – 3.3x10^{-3}$
Esters	2	0.05-7.9	4-4.5	$5.5x10^{-2}$
Benzoylureas	3	0.004 - 111	2.28 - 4	$6.52x10^{-12} – 1.2x10^{-4}$
Bendimidazoles	3	8 - 30	1.5 - 2.4	$8.8x10^{-6} – 1.5x10^{-4}$
Carbamates	14	$7.74 – 28x10^4$	-0.44 – 4.6	$7.7x10^{-8} – 1.3x10^{-2}$
Neonicotinoids	4	185 - 4250	-0.13 - 1.26	$4x10^{-10} – 1x10^{-6}$
Organophosphorous	20	$1 – 10^6$	-0.9 - 3.85	$1.03x10^{-5} – 0.123$
Pyretrhins (natural)	6	0.35 - 1038	2.85 - 5.62	$4.6x10^{-7} – 2.02x10^{-5}$
Sulfonylureas	8	3.7 - 3293	-0.78 – 0.646	$4.2x10^{-11} – 2.8x10^{-6}$
Strobylurines	3	1.9 - 6	2.5 – 3.99	$1.1x10^{-10} – 2.3x10^{-6}$
Triazines	5	$6.2 – 13x10^3$	-0.1 – 3.21	$4.48x10^{-7} – 1.5x10^{-4}$
Triazoles	8	0.2 - 156	3.08 – 4.1	$2.2x10^{-10} – 0.056$
Phenylureas	8	0.06 - 735	1.6 – 5.76	$5x10^{-6} – 4.3x10^{-3}$
Various	39	$0.075 – 2x10^5$	-0.5 – 5.6	$7.9x10^{-7} – 0.267$

3.1 Ανακτήσεις και επίδραση υποστρώματος

Οι ανακτήσεις που υπολογίστηκαν ήταν εντός του αποδεκτού εύρους 70-120% για 114 από τους 128 αναλύτες. Εξαίρεση αποτέλεσαν 9 σουλφονυλουρίες και πέντε άλλοι αναλύτες όπως περιγράφεται παρακάτω. Ωστόσο, στο ελαιόλαδο, 34 από τους 128 αναλύτες που μελετήθηκαν παρουσίασαν μη αποδεκτές ανακτήσεις, δείχνοντας ότι η εκχύλιση που ακολουθήθηκε δεν ήταν αποτελεσματική για το 27% των υπό μελέτη αναλυτών. Όσον αφορά τα υπόλοιπα επτά υποστρώματα, οι σουλφονυλουρίες οι οποίες είναι ευαίσθητες ανάλογα με την περιοχή pH, παρουσίασαν από χαμηλές έως πολύ χαμηλές τιμές ανάκτησεις (10-60%), ακόμα και όταν στο εκχύλισμα δεν έγινε οξίνηση ή ακόμα και όταν η ποσοτικοποίηση έγινε με σύγκριση προτύπων που περιείχαν και το υπόστρωμα (matrix matching). Επίσης, το benfuracarb από την ομάδα των καρβαμιδικών παρουσίασε σημαντική καταστολή σήματος όταν ήταν στο υπόστρωμα, ενώ το dichlofluanid από την ομάδα των δουλφαμιδίων παρουσίασε σημαντική ενίσχυση σήματος όταν βρισκόταν σε υπόστρωμα. Και οι δύο αυτές ουσίες είχαν χαμηλές ανακτήσεις στα περισσότερα υποστρώματα, ακόμη και όταν η

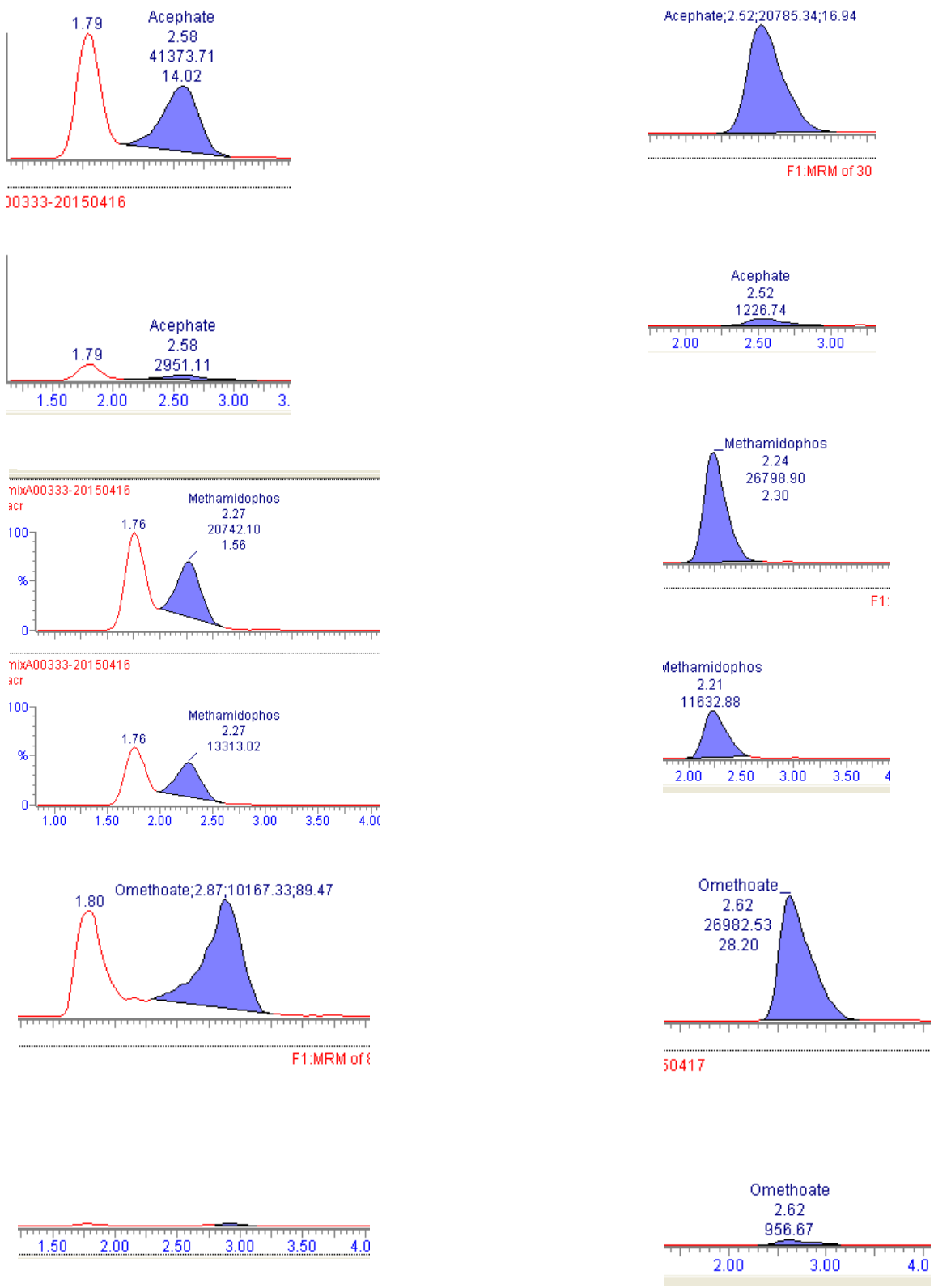
ποσοτικοποίησή τους έγινε με χρήση προτύπων που περιείχαν το υπόστρωμα, με εξαίρεση το dichlofluanid στα μήλα και στα πορτοκάλια, όπου οι ανακτήσεις ήταν αποδεκτές. Επιπλέον το diafenthiuron παρουσίασε πολύ χαμηλές ανακτήσεις σε όλα τα υποστρώματα, με εξαίρεση τα πορτοκάλια, ενώ το ethoxyquin είχε χαμηλές ανακτήσεις (20%) στις πατάτες, στα μήλα, στο αλεύρι και στο λάχανο αλλά όχι στα υπόλοιπα προϊόντα στα οποία η ποσοτικοποίηση έγινε ικανοποιητικά με χρήση προτύπων στο υπόστρωμα. Τέλος, το tolyfluanid παρουσίασε πολύ χαμηλές ανακτήσεις στις πατάτες και στο λάχανο ενώ στα υπόλοιπα προϊόντα η μέτρησή του έγινε με ακρίβεια με τη χρήση προτύπων που περιείχαν υπόστρωμα. Ανάμεσα στους αναλύτες που μελετήθηκαν, το anziphos methyl και το phosmet παρουσίασαν το ίδιο χρόνο έκλουσης, την ίδια κύρια μετάπτωση και μια δευτερέουσα με διαφορά 1 amu. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε λαναθασμένα αρνητικά αποτελέσματα αφού η αναλογία ιόντων των δύο μεταπτώσεων εξαρτάται από την ταυτόχρονη ή μη παρουσία των δύο ουσιών στο δείγμα ή στο μίγμα των προτύπων διαλυμάτων. Για παράδειγμα η αναλογία ιόντων για το anziphos methyl είναι 0.8 όταν βρίσκεται μόνο του και 0.08 όταν βρίσκεται στο ίδιο διάλυμα με το phosmet.

3.2 Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Δεδομένου ότι στο επίπεδο 0.0333 mg/kg επιτεύχθηκαν αποδεκτές τιμές ορθότητας και πιστότητας για τους περισσότερους αναλύτες, το επίπεδο αυτό θεωρήθηκε ως το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ). Επομένως δεδομένου ότι το όριο ανίχνευσης (LOD) και το LOQ συνδέονται με τη σχέση LOQ=3.3xLOD ως LOD είναι το 0.01 mg/kg. Χαμηλή ευαισθησία και στις δύο μεταπτώσεις, πέραν των πυρεθρινοειδών, παρουσιάστηκε στα aclonifen, fenitrothion, parathion και parathion methyl, ενώ χαμηλή ευαισθησία σε μια μόνο μετάπτωση παρουσιάστηκε στα florasulam, pendimethalin και pyrifenox. Ενώσεις με σημαντική ενίσχυση σήματος στο υπόστρωμα, όπως το dichlofluanid, μπορούν να προσδιοριστούν σε επίπεδο 0.01 mg/kg μόνον όταν χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα που περιέχουν το υπόστρωμα.

3.3 Επιδράσεις των διαλυτών και αντιδραστηρίων

Οι πολύ πολικές ενώσεις όπως τα acephate, aldicarb sulfoxide, formetanate, methamidophos, omethoate και propamocarb, που εκλούονται νωρίς, παρουσίασαν όλες δύο κορυφές σε κάθε μετάπτωση, μια κύρια όμοια για όλες τις ενώσεις, περίπου στα 1.8 λεπτά και μια δεύτερη κορυφή σε διαφορετικό χρόνο ανάλογα με την ουσία. Αυτό συνέβη όταν τα εγχυόμενα διαλύματα ήταν σε ακετονιτρίλιο, το διαλύτη εκχύλισης της μεθόδου QuEChERS. Αυτό το φαινόμενο είχε ως αποτέλεσμα την κακή χρωματογραφία των πολικών αναλυτών, επηρεάζοντας την ποσοτικοποίηση τους. Όπως φαίνεται στο σχήμα 1, η κοινή κορυφή δεν εμφανίστηκε όταν τα εγχυόμενα διαλύματα ήταν σε διαλύτη όμοιο σε σύσταση με την αρχική κινητή φάση, γεγονός που υποδηλώνει ότι το εγχυόμενο ακετονιτρίλο μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση του στη λιγότερο πολική αρχική κινητή φάση (20% μεθανόλη-νερό) δημιουργεί μια «στοιβάδα» που μετακινεί πιο γρήγορα από αυτήν μέσα στη στήλη τους πολύ πολικούς και ουσιαστικά μη χρωματογραφούμενους αναλύτες. Μια άλλη πιθανή επίδραση προερχόμενη από τα αντιδραστήρια, είναι η δεύτερη μετάπτωση του malathion (m/z 331>99) η οποία παρατηρήθηκε σε όλα τα εξεταζόμενα δείγματα. Ακόμα το thiophanate methyl βρέθηκε ότι είναι ασταθές σε αραιά διαλύματα και απαιτείται να παρασκευάζεται φρέσκο.



Σχήμα 1: Χρωματογραφήματα στο LC-MS/MS πολύ πολικών αναλυτών σε διάλυμα ακετονιτρίλιου (αριστερά) ή σε διάλυμα 20% MeOH : 80% H_2O, όπως η αρχική κινητή φάση (δεξιά).

3.4 Έλεγχος καταλληλότητας του συστήματος

Το σύστημα LC-MS/MS αξιολογήθηκε ως προς την καταλληλότητά του σε καθημερινή χρήση με την έγχυση έξι αντιπροσωπευτικών αναλυτών συγκέντρωσης ο καθένας 0.01μg/mL, δηλαδή στο LOD. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν για τον χρόνο έκλουσης (RT) και την αναλογία ιόντων (IR) επί 18 μήνες αναλύθηκαν στατιστικά, ώστε να αξιολογηθεί η διακύμανση των τιμών των 2 παραμέτρων. Καθ' όλη την περίοδο των 18 μηνών χρησιμοποιήθηκε η ίδια στήλη, ενώ παρακολουθούνταν ο λόγος σήματος κορυφής προς θόρυβο (Signal/Noise) και το σχήμα των κορυφών, προκειμένου να διαπιστωθούν τυχόν δεισλειτουργίες της στήλης και να γίνουν οι κατάλληλες διορθωτικές ενέργειες, όπως καθαρισμός φίλτρου της στήλης, ξέπλυμα (flush) ή αναστροφή της στήλης και ξέπλυμα (back flush) με κατάλληλους διαλύτες. Κάθ' όλη τη διάρκεια των 18 μηνών το S/N στα 0.01 mg/L,όπως και το σχήμα και το εύρος των κορυφών δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές. Η επί τοις εκατό σχετική τυπική απόκλιση (%RSD) του χρόνου κατακράτησης (RT), όπως φαίνεται στον Πίνακα 3, ήταν από 1.01 ως 2.59%, με εξαίρεση την πολύ πολική ένωση oxamyl που εκλούεται πολύ νωρίς, με αποτέλεσμα η χρωματογραφία της να μην είναι ικανοποιητική, με RSD 7.26%. Επίσης προκύπτει ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος κατακράτησης οι τιμές του %RSD μειώνονται.

Πίνακας 3: Τιμές %RSD για τον χρόνο κατακράτησης ορισμένων αναλυτών.

	oxamyl	acetamiprid	pirimicarb	metalaxyl	diazinon	etoxazol
RT_{aver}, min	4.13	10.9	14.7	17.9	24.2	29.0
s	0.30	0.26	0.38	0.18	0.27	0.18
%RSD	7.26	2.39	2.59	1.01	1.12	0.62

Όσον αφορά στην αναλογία ιόντων των κορυφών που είναι το δεύτερο κρίσιμο κριτήριο ταυτοποίησης στο LC-MS/MS, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 4, οι τιμές %RSD στη διάρκεια των 18 μηνών βρέθηκαν μεταξύ 19.8% και 45.7%, και δε φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση με τη σχετική ένταση του παραγόμενου ιόντος, ένα κριτήριο που καθορίζεται στην οδηγία 96/23/EC και στο έγγραφο N° SANCO/12495/2011.

Πίνακας 4: Τιμές RSD για την αναλογία ιόντων ορισμένων αναλυτών.

	oxamyl	acetamiprid	pirimicarb	metalaxyl	diazinon	etoxazol
IR (aver)	0.951	0.242	0.460	0.245	0.258	0.189
s	0.261	0.048	0.177	0.053	0.118	0.042
RSD	27.4	19.8	38.5	21.6	45.7	22.2

4. Βιβλιογραφία

[1] EN 15662, Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method

[2] C. Anagnostopoulos, and G.E. Miliadis (2013). Development and validation of an easy multiresidue method for the determination of multiclass pesticide residues using GC-MS/MS and LC-MS/MS in olive oil and olives. Talanta, 112: 1-10.

[3] SANCO/12571/2013. Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/guidance_documents/docs/qualcontrol_en.pdf

[4] John Dolan (2001). Attacking carryover problems. LC-GC, Volume 19, Number 10, 1050-1054.