



TEKNIikka JA LIIKENNE

Laboratorioalan koulutusohjelma

OPINNÄYTETYÖ

**KASVINSUOJELUAINOIDEN JÄÄMIEN MÄÄRITYS GC-MS-TEKNIIKKALLA
PTV-INJEKTIOTA KÄYTTÄEN - MENETELMÄN VALIDOINTI**

**Työn tekijä: Satu Virtanen
Työn ohjaaja: Kalevi Siivinen
Työn valvoja: Mia Ruismäki**

Työ hyväksytty: __. __. 2008

Mia Ruismäki
lehtori



ALKUSANAT

Tämä opinnäytetyö tehtiin Tullilaboratoriossa Espoossa. Haluan kiittää työn ohjaajaa tutkimuspäällikkö Kalevi Siivistä mahdollisuudesta suorittaa tämä työ Kemia I -jaostossa. Lämpimät kiitokset myös jaoston henkilökunnalle tuesta ja ohjauksesta. Erityiskiitos tullitarkastaja Jouni Lipastille kärsivällisyydestä ja ohjauksesta koko opinnäytetyöprojektin ajan.

Helsingissä marraskuun 25. päivänä 2008

Satu Virtanen

OPINNÄYTETYÖN TIIVISTELMÄ

Työn tekijä: Satu Virtanen	
Työn nimi: Kasvinsuojeluaineiden jäämien määrittäminen GC-MS-tekniikalla PTV-injektiota käyttäen - menetelmän validointi	
Päivämäärä: 25.11.2008	Sivumäärä: 37 s. + 2 liitettä
Koulutusohjelma: Laboratorioala	
Työn ohjaaja: tutkimuspäällikkö, FM Kalevi Siivinen Työn valvoja: lehtori, FM Mia Ruismäki	
<p>Kasvinsuojelutarkoituksiin käytetään maailmanlaajuisesti satoja erilaisia yhdisteitä. Tämän vuoksi kasvinsuojeluaineiden jäämien analytiikassa käytetään monijäämämenetelmiä, joilla saadaan analysoitua samanaikaisesti useita yhdisteitä.</p> <p>Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida Tullilaboratorion Kemia I:ssä (pestisidija-ostossa) käytössä olevaan QuEChERS-monijäämämenetelmään lisää yhdisteitä, jotta akkreditointia voitaisiin tulevaisuudessa laajentaa. Lisäksi tutkittiin PTV-injektointitekniikan (<i>Programmable Temperature Vaporizing Injection</i>) vaikutusta menetelmän suorituskykyyn.</p> <p>Opinnäytetyössä tarkasteltiin SIM-tekniikalla kvantitoitujen yhdisteiden saantoprosentteja, rinnakkaismäärittysten toistettavuutta ja mittausepävarmuutta. Validointi tehtiin lisäyskokeilla kolmeen eri matriisiin kahdella eri lisäystasyöllä. Matriisit olivat jääsalaatti, appelsiini ja vehnäjauho. Lisäystasyöt olivat 0,01 mg/kg ja 0,10 mg/kg. Lisäyskokeet tehtiin yhteensä 42 kasvinsuojeluainetta sisältävillä lisäysliuoksilla. Mittaukset suoritettiin kaasukromatografilla massaselektiivistä detektoria käyttäen.</p> <p>PTV-injektointitekniikan vaikutusta menetelmän suorituskykyyn arvioitiin vertailemalla viiden kasvinsuojeluaineen mittaustuloksia <i>splitless</i>-injektointitekniikalla saatuihin tuloksiin. Arviointi suoritettiin yhdistekohtaisesti vertailemalla keskimääräisiä saantoprosentteja ja suhteellista keskihajontaa.</p> <p>Tulosten perusteella 41 testatusta yhdisteestä yhdeksän täytti validointivaatimukset täysin. 11 yhdisteen kohdalla oli yksittäisiä arvoja, jotka eivät täyttäneet validointivaatimuksia. Näiden 11 yhdisteen kohdalla akkreditointi jää harkinnanvaraiseksi. Loppujen 21 yhdisteen kohdalla menetelmää täytyy vielä optimoida.</p> <p>Matriisien liikaavalle vaikutukselle herkän PTV-injektointitekniikan todettiin lisäävän rinnakkaismäärittysten suhteellista keskihajontaa ja mittausepävarmuutta. <i>Splitless</i> -injektointitekniikan todettiin olevan toistettavampi.</p>	
Avainsanat: QuEChERS, kasvinsuojeluaineet, validointi, GC-MS, PTV-injektointi	

ABSTRACT

Name: Satu Virtanen

Title: Determination of Pesticides by GC-MS with PTV injection: Validation of Multi-residue Method

Date: 25 November 2008

Number of pages: 37 pp. + 2 appendices

Department:
Laboratory Sciences

Instructor: Kalevi Siivinen M. Sc.

Supervisor: Mia Ruismäki M. Sc.

Due to hundreds of different pesticides used worldwide every day, multi-residue methods are used for the analysis of pesticide residues.

The aim of this graduate study was to validate a QuEChERS multi-residue method for determination of 41 pesticides by using GC-MS with PTV injection. Another objective was to find out how the PTV injection technique was going to affect the efficiency of the method.

Experimental work was carried out by adding liquid mixtures of 42 different pesticides into three sample matrices comprising lettuce, orange and wheat flour. The samples were analyzed in two different concentration levels: 0.01 mg/kg and 0.1 mg/kg. For both concentration levels there were six parallel samples in each sample matrix. The following parameters were determined from spiked samples: recovery, (relative) standard deviation and uncertainty of the measurement. The quantitative measurements were performed with a mass selective detector using SIM technique.

The evaluation of the effect of the PTV injection technique on the efficiency of the method was carried out by comparing recoveries and (relative) standard deviation of two different injection techniques, i.e. PTV injection and splitless injection.

The results show that the method worked well for nine compounds and fairly well for 11 compounds. Further research and optimization is needed for the remaining 21 compounds. It was also found that repeatability seemed to be better if the injection was made using the splitless injection technique.

Keywords: QuEChERS, pesticides, validation, GC-MS, PTV injection

SISÄLLYS

TIIVISTELMÄ

ABSTRACT

LYHENTEITÄ JA MÄÄRITELMIÄ

1	JOHDANTO	1
2	KASVINSUOJELUAINHEET	2
3	QUECHERS-MONIJÄÄMÄMENETELMÄ	3
3.1	QuEChERS-menetelmän periaate	4
3.2	Ekstraktin puhdistus	4
3.3	Näytteiden kromatografinen analysointi	4
4	MENETELMÄN VALIDOINTI	5
4.1	Saantokokeet	6
4.2	Toistettavuus	6
4.3	Mittausepävarmuus	7
5	KAASUKROMATOGRAFI-MASSASPEKTROMETRI	7
5.1	Kaasukromatografia	8
5.2	Massaspektrometri	8
5.3	PTV-injektori	8
5.3.1	<i>PTV-injektointitekniikan ja solvent vent -menetelmän periaate</i>	9
5.3.2	<i>PTV-injektointitekniikan hyödyt</i>	10
5.3.3	<i>PTV-injektointitekniikan haasteet</i>	11
6	TYÖN TARKOITUS	12
7	TYÖSSÄ KÄYTETYT MATERIAALIT JA LAITTEET	12
7.1	Reagenssit	12
7.2	Välineet ja tarvikkeet	13
7.3	Laitteet	13
8	TYÖN SUORITUS	15
8.1	Kaasukromatografi-massaspektrometrin ajomenetelmä	15
8.1.1	<i>Menetelmän ajoparametrit</i>	15
8.1.2	<i>Menetelmän kalibrointi</i>	15

8.1.3	<i>Näytteiden kvantitointi ja tulosten laskeminen</i>	16
8.2	Validointiin valitut kasvinsuojeluaineet	18
8.3	Validointiin valitut matriisit	19
8.4	Alkuvalmistelut	19
8.5	Näytesarjat	20
8.6	Näytteiden punnitus	20
8.7	Analyysin kulku	20
8.8	Näytesarjojen ajaminen GC-MS:lla	23
9	TULOKSET	24
9.1	Yhdistekohtaiset kvantitatiiviset tulokset	24
9.2	PTV-injektointitekniikan vaikutus menetelmän suorituskykyyn	28
9.2.1	<i>Jääsalaattimatriisi</i>	28
9.2.2	<i>Appelsiinimatriisi</i>	29
9.2.3	<i>Vehnäjauhomatriisi</i>	30
10	TULOSTEN POHDINTA	31
11	YHTEENVETO	34
	VIITELUETTELO	36
	LIITTEET	

Liite 1. Yhdistekohtaiset saantoprosentit matriiseittain

Liite 2. Kokonaishajonta eli variaatiokerroin neliöllisenä keskiarvona eri li-säystasyöillä saaduista toistettavuuksista sekä mittausepävarmuudet yhdis-teittäin esitettyinä

LYHENTEITÄ JA MÄÄRITELMIÄ

ADI-arvo	<i>Acceptable Daily Intake.</i> Hyväksyttävä päiväsaanti.
CEN	<i>European Committee for Standardization.</i> Eurooppalainen, kaikki muut paitsi sähkö- ja telealan kattava standardisoimisjärjestö.
ECD	<i>Electron Capture Detector.</i> Elektroninsieppausdetektori.
GC-MS	<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry.</i> Kaasukromatografia-massaspektrometria.
NPD	<i>Nitrogen Phosphorous Detector.</i> Typpifosforidetektori.
PSA	<i>Primary Secondary Amine.</i> Anioninvaihtosorbentti, joka puhdistaa näytteistä rasvahappoja sekä sokereita ja pigmenttejä muodostamalla vetysidoksia niiden kanssa.
PTV <i>Injection</i>	<i>Programmed Temperature Vaporizing Injection.</i> Lämpötilaohjelmoitu höyrystävä injektointi.
<i>Qualifier</i> -ionit	Yhdisteiden kvalitatiiviseen tunnistamiseen käytettävät ionit.
SIM	<i>Selected Ion Monitoring.</i> Selektiivinen ionimonitorointi.
<i>Solvent vent mode</i>	PTV-injektointitekniikassa käytetty menetelmä, jossa näyte injektoidaan kylmään injektoriin ja liuotin haihdutetaan pois näytteestä ennen kun se päästetään etenemään kolonniin.
<i>Target</i> -ioni	Kvantitointiin käytettävä ioni.

1 JOHDANTO

Kasvinsuojelutarkoituksiin käytetään maailmanlaajuisesti satoja erilaisia yhdisteitä. Nämä torjunta-aineet ovat valvonnan alaisia useimmissa Euroopan jäsenvaltioissa. 70-luvun loppupuolelta alkaen Tullilaboratorio on määrittänyt maahantuotujen kasviperäisten elintarvikkeiden kasvinsuojeluainejäämien pitoisuuksia. Tämä Tullilaitoksen suorittama valvonta on lakisääteinen tehtävä, ja sillä pyritään estämään elintarvikkeiden maahantuonti ja kaupanpito, mikäli niissä on todettu jäämille asetettujen enimmäismäärien ylityksiä. [8.]

Käytettävien kasvinsuojeluaineiden jäämien enimmäismäärät elintarvikkeissa on määrätty EU:n asetuksissa ja direktiiveissä, ja siksi niiden noudattamista valvotaan. Valvonta on kohdistettu sellaisiin elintarvikkeisiin, jotka ovat ruokavaliolla kannalta keskeisiä ja joissa on aiemmin havaittu jäämäongelmia. [8; 2, s. 6.]

Kasvinsuojeluaineiden jäämien määrittämistä varten on Tullilaboratoriossa vuonna 2007 otettu käyttöön uusi QuEChERS-monijäämämenetelmä (TLAB-PE058). Menetelmällä korvattiin vanha Luke-menetelmä (TLAB-PE001), jonka heikkouksia olivat liuottimien suuri kulutus ja työläys. [16.] QuEChERS-menetelmän etuja ovat nopeus ja suorituksen helppous ja vähäinen liuottimien kulutus. Nämä yhdessä tekevät menetelmästä edullisen käyttää.

Tullilaboratoriossa kaasukromatografista QuEChERS-menetelmää on testattu ja validoitu vuodesta 2005 lähtien 21 yhdisteen ja viiden matriisin osalta. Tällä hetkellä kasvinsuojeluaineiden jäämien detektointiin käytetään pääasiallisesti typpi-fosfori (NPD)- sekä elektroninsieppausdetektoreja (ECD), mutta Tullilaboratoriossa ollaan siirtymässä yhä enemmän massaselektiivisten detektorien käyttöön kasvinsuojeluaineanalytiikassa. Tulevaisuuden tavoitteena on luopua kokonaan muista detektointimenetelmistä. Tämä opinnäytetyö on osa QuEChERS-menetelmän testaamista ja validointia kaasukromatografia-massaspektrometristä (GC-MS) analyysia varten.

Opinnäytetyön aiheena oli testata QuEChERS-menetelmää 41 kasvinsuojeluaineelle sekä tutkia PTV-injektointitekniikan (*Programmable Temperature Vaporizing Injection*) vaikutusta menetelmän suorituskykyyn. Työ suoritettiin kaasukromatografilla massaselektiivistä detektoria käyttäen.

2 KASVINSUOJELUAINHEET

Kasvinsuojeluaineilla tarkoitetaan tehoainetta sekä yhtä tai useampaa tehoainetta sisältävää valmistetta, joita käytetään maa-, puutarha- ja metsätaloudessa, kotitalouksissa ja tuotantotiloissa esiintyvien tuhoeläinten, kasvitautien ja rikkakasvien torjuntaan, viljelykasvien kasvunsäätelyyn sekä hyönteisten karkottamiseen. [6; 5, s. 240.]

Kasvinsuojeluaineet voidaan luokitella käyttötarkoituksen mukaisesti:

- rikkakasvien torjunta-aineisiin (herbisidit), joilla pyritään tuhoamaan haitallisia kasveja tai kasvin osia, sekä estämään kasvien haitallista kasvua
- kasvitautien torjunta-aineisiin (fungisidit), joilla pyritään vaikuttamaan kasvituotteiden säilyvyyteen
- tuhoeläintein torjunta-aineisiin (insektisidit, akarisidit, nematisidit, molluskisidit, rodentisidit), joilla pyritään suojelemaan kasveja tai kasvituotteita haitallisilta eliöiltä tai estämään sellaisten eliöiden vaikutus
- kasvunsääteläisiin, joilla pyritään vaikuttamaan kasvien elintoimintoihin muulla tavoin kuin ravinteina [9, s. 2].

Suomessa on käytössä 185 kasvinsuojelutarkoitukseen rekisteröityä tehoainetta, jolla tarkoitetaan torjunta-ainevalmisteen vaikuttavaa aineosaa [12.]. Määrällisesti eniten käytetään rikkakasvien (herbisidit) ja kasvitautien (fungisidit) torjunta-aineita. Yhteensä kasvinsuojeluaineita käytetään Suomessa tehoaineiksi laskettuna noin 1700 tonnia vuodessa, mikä on kansainvälisesti tarkasteltuna huomattavasti vähemmän kuin muissa EU-maissa. Kasvinsuojeluaineita käyttää eniten maatalous, ja käytön voidaan ennustaa lisääntyvän tulevaisuudessa viljelymenetelmien muuttuessa. Myös ilmastonmuutos voi vaikuttaa kasvinsuojeluaineiden käytön lisääntymiseen. [5, s. 240 - 241, 244.]

Kasvinsuojeluaineiden käytön tärkeimpiä tavoitteita ovat erilaisten puutarha- ja viljelykasvien sadon parantaminen ja ihmisten kannalta haitallisten tautien torjuminen sekä hyötykasveista saatavan taloudellisen voiton lisääminen [18, s. 10].

Koska kasvisuojeluaineita käytetään kasvintuotannossa yleisesti ympäri maailmaa, on erittäin mahdollista, että kasvituotteista ja elintarvikkeista löytyy niiden jäämiä. Jäämien sallitut enimmäismäärät on määrätty EU:ssa. Enimmäismäärät on asetettu turvallisuusarvioinnin perusteella. Tulos ilmoitetaan aineen ADI-arvona (*Acceptable Daily Intake*), jolla tarkoitetaan sellaista määrää torjunta-ainetta, mille ihminen voi vaarattomasti altistua päivittäin koko elämänsä ajan. Jäämien määrä ilmoitetaan milligrammoina torjunta-ainetta elintarvikekiloa kohti (mg/kg). [2, s. 3 - 5.]

Koska kasvisuojeluaineita on satoja erilaisia, käytetään niiden analytiikassa niin kutsuttuja monijäämämenetelmiä, joilla voidaan määrittää useita eri yhdisteitä yhdellä analyysillä. Monijäämämenetelmät perustuvat torjunta-aineiden uuttamiseen näytteistä orgaanisella liuottimella. Raakauute puhdistetaan esimerkiksi neste-nestepartitiolla, geelipermeaatiokromatografialla tai adsorptiokromatografialla. Puhdistusmenetelmillä pyritään saamaan kaikki pestisidit talteen näyte-ekstraktista ja näytematriisi erotettua pestisideistä sekä poistamaan kaikki näytteen analyysiä häiritsevät komponentit. Puhdistettu ekstrakti analysoidaan kaasui- tai nestekromatografisesti. Detektoinnissa voidaan käyttää esimerkiksi elektronisieppausdetektoria (ECD), typpifosforidetektoria (NPD) tai massaselektiivistä detektoria (MSD), jonka käyttö yleistyy jatkuvasti kasvisuojeluaineiden jäämäanalytiikassa. [9; 10.]

3 QUECHERS-MONIJÄÄMÄMENETELMÄ

QuEChERS-monijäämämenetelmä on vuonna 2003 USDA:n (*United States Department of Agriculture*) ja FDA:n (*Food and Drug Administration*) yhteistyönä julkaistu kvantitatiivinen tutkimusmenetelmä, jolla voidaan analysoida kasvisuojeluaineiden jäämiä vähärasvaisista näytteistä, kuten hedelmistä, kasviksista, viljoista sekä prosessoituista tuotteista. Prosessoituja tuotteita ovat esimerkiksi lastenruoat.

Menetelmän nimi, QuEChERS, tulee sanoista *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged* ja *Safe*. Nimi kuvaa menetelmän hyviä puolia, sillä sen etuja ovat nopeus, helppous ja vähäinen materiaalien ja liuottimien kulutus, mikä tekee siitä edullisen ja ympäristöystävällisen käyttä. Menetelmä on ehdolla CENin standardimenetelmäksi.

3.1 QuEChERS-menetelmän periaate

Vesipitoista näytehomogenaattia (10 g) uutetaan asetonitrilillä, joka on tehokas liuotin erilaisille orgaanisille yhdisteille kuten pestisideille. Asetonitrili liukenee hyvin veteen, jonka kanssa uuttokyky edelleen paranee.

Kun uutokseen lisätään magnesiumsulfaattia ja natriumkloridia sekä pusku-roivia sitraattisuoloja, saadaan näytteen sisältämä vesi ja asetonitrili erotet-tua toisistaan sentrifugoimalla. Näin saadaan aikaan neste-nestepartitio. Natriumkloridin lisäys edesauttaa neste-nestepartition syntymistä, sillä se edistää analyyttien siirtymistä orgaaniseen asetonitrilifaasiin (ulosuolaus). Sitraattisuoloilla pyritään saamaan uuttoliuoksen pH välille 5 - 5,5, sillä mo-net pestisidit voivat hajota liian happamissa tai emäksissä olosuhteissa.

3.2 Ekstraktin puhdistus

Koska näytteen sisältämät rasvat voivat vahingoittaa analyysilaitteen osia ja häiritä analyyttien uutumista orgaaniseen asetonitrilifaasiin, poistetaan ne ekstraktista pakastamalla näyte-ekstrakti yön yli. Rasvaa, vahaa ja eteerisiä öljyjä sisältäviä näytteitä ovat esimerkiksi viljat ja sitrushedelmät.

Orgaaninen faasi (asetonitrilifaasi) puhdistetaan dispersiivisellä kiinteäfaasi-uutolla käyttäen PSA-sorbenttia (*Primary Secondary Amine*). Ylimääräinen jäännösvesi poistetaan kidevedettömällä magnesiumsulfaatilla. Koska PSA-puhdistus nostaa ekstraktin pH:n emäksiseksi, täytyy puhdistettu ekstrakti tehdä happamaksi pienellä määrällä muurahaishappoa, mikä parantaa emäksisissä olosuhteissa hajoavien pestisidien säilyvyyttä näytteessä.

3.3 Näytteiden kromatografinen analysointi

Näyte analysoidaan sekä neste- että kaasukromatografisilla menetelmillä. Asetonitrili sopii hyvin liuottimeksi nestekromatografia-massaspektrometriseen analyysiin. Se ei sovi käytettäväksi lainkaan typpi-fosforidetektorin yhteydessä, joten osa ekstraktin liuottimesta täytyy vaihtaa kaasukromatografiseen analyysiin sopivaksi. Koska asetonitrili on voimakas liuotin, se saattaa liuottaa myös joidenkin kolonnien alkupään faasipintaa. Tämä voidaan välttää käyttämällä kolonnia, joka mahdollisesti kestää pa-remmin asetonitriliä sekä PTV-injektoria, jolla liuotin saadaan haihdutettua ennen kolonnia automaattisesti pois. Kaasukromatografia käytettäessä de-tektointi tapahtuu NPD:lla ja ECD:lla tai MSD:lla.

4 MENETELMÄN VALIDOINTI

Analyysimenetelmän käyttökelpoisuus varmistetaan aina ennen käyttöönottoa validoinnin avulla. Validoinnissa tarkastetaan erilaisilla luotettavilla testimenetelmillä sekä puolueettomalla näytöllä, että validoitava menetelmä toimii ennalta määriteltyjen vaatimusten mukaan. Menetelmän validointi pätee vain testatuille matriiseille, parametreille ja pitoisuustasoille. [14.]

Käytössä olevaan analyysimenetelmään voidaan lisätä uusia yhdisteitä ja akkreditointia laajentaa edellyttäen, että aineiden validointi on hyväksytysti suoritettu. Aineiden tulos voidaan ilmoittaa tutkimusselosteessa akkreditoituna sen jälkeen, kun laboratorion sisäisessä auditoinnissa on todettu seuraavat validointivaatimukset täytyneiksi:

1. Analyytin saantokokeet tulee suorittaa vähintään kolmella erityyppisellä näytematriisilla. Näytematriiseista yhden tulee olla viljaa, yhden runsaasti lehtivihreää sisältävä ja yhden sitrushedelmä.
2. Saantokokeet tulee tehdä vähintään kahdella pitoisuustasolla, joista toinen on menetelmän määritysrajan (0,01 mg/kg) tasolla ja toinen kymmenkertainen siihen nähden tai tyypillisellä jäämän tasolla.
3. Saannon tulee olla keskimäärin 60 - 120 % pitoisuustasolla $\leq 0,01$ mg/kg ja 70 - 120 % suuremmilla pitoisuustasoilla.
4. Menetelmän toistettavuuden, CV:n, tulee olla ≤ 20 %.
5. Yhdisteen laajennetun mittausepävarmuuden tulee olla ≤ 50 % (95 %:n luottamustasolla). [15.]

4.1 Saantokokeet

Saantokokeissa näytteeseen lisätään tunnettu määrä analyyyttiä ja saantoprosentti lasketaan kaavalla:

$$\text{saantoprosentti } S - \% = \frac{\text{lisäys}_{\text{mitattu}}}{\text{lisäys}_{\text{laskennallinen}}} \cdot 100 \% , \text{ missä} \quad (1)$$

$\text{lisäys}_{\text{mitattu}}$ = lisätyn yhdisteen mitattu pitoisuus

$\text{lisäys}_{\text{laskennallinen}}$ = lisätyn yhdisteen laskennallinen, tunnettu pitoisuus

Mikäli menetelmä on tarkka, lähesty suhteellinen saanto sadan prosentin arvoa. Poikkeamaa tosiarvosta aiheuttavat systemaattinen virhe ja satunnaisvirhe.

4.2 Toistettavuus

Toistettavuudella tarkoitetaan rinnakkaismäärittäisiin liittyvää hajontaa. Yksittäisen pitoisuustason toistettavuutta kuvataan keskihajonnan (s) tai suhteellisen keskihajonnan (CV_i) avulla.

Keskihajonta lasketaan kaavasta:

$$\text{keskihajonta } s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} , \text{ missä} \quad (2)$$

x_i = yksittäinen mittaustulos

\bar{x} = mittaustulosten keskiarvo

n = rinnakkaisten mittausten lukumäärä

Suhteellinen keskihajonta lasketaan kaavasta:

$$\text{suhteellinen keskihajonta } CV_i = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \% \quad (3)$$

Kokonaishajonta eli variaatiokerroin (CV) lasketaan neliöllisenä keskiarvona eri lisäystasoilla saaduista suhteellisista keskihajonnoista kaavasta:

$$\text{kokonaishajonta } CV = \sqrt{\frac{\sum CV_i^2}{n}}, \text{ missä} \quad (4)$$

CV_i = suhteellinen keskihajonta i:nellä pitoisuustasolla (%)

n = lisäystasojen lukumäärä

4.3 Mittausepävarmuus

Yksinkertaisin tapa mittausepävarmuuden (suhteellinen mittausepävarmuus, u) arviointiin on laskea yhteen neliöidyt epävarmuuskomponentit ja ottaa summasta neliöjuuri. Kertomalla laskettu kokonaisepävarmuus kertoimella 2 saadaan noin 95 %:n luottamusväli. Suhteellinen mittausepävarmuus (%) lasketaan kaavasta:

$$\text{suhteellinen mittausepävarmuus } u = 2 \cdot \sqrt{(CV)^2 + (5)^2}, \text{ missä} \quad (5)$$

CV = variaatiokerroin eli kokonaishajonta (%)

5 = on näytteen esikäsittelystä ja epähomogeenisuudesta arvioitu virhe (%)

5 KAASUKROMATOGRAFI-MASSASPEKTROMETRI

Massaspektrometria soveltuu monialaisesti yhdisteiden tunnistamiseen ja yhdisteiden pitoisuuden määrittämiseen. Massaspektrometriin liitetty kaasukromatografi erottelee höyrystyneet yhdisteet kromatografisesti ennen massaspektrometrin tunnistusta. Kaasukromatografia-massaspektrometrinen kvantitatiivinen analytiikka perustuu yleensä SIM-mittaukseen (*Selected Ion Monitoring*). Tullilaboratoriossa tekniikkaa sovelletaan mm. kasvinsuojeluaikeneiden jäämien, PAH-yhdisteiden, klooripropanolien ja bentseenin määrittämiseen.

5.1 Kaasukromatografia

Kaasukromatografia soveltuu helposti haihtuvien, mutta termisesti stabiilien yhdisteiden analytiikkaan ja erottamiseen. Näyte syötetään höyrystävään injektoriin, josta yhdisteet kulkevat liikkuvan kaasufaasin mukana kolonnin kautta vuorollaan detektorille. Kolonnissa yhdisteet liikkuvat erilaisilla nopeuksilla riippuen niiden haihtuvuudesta ja vuorovaikutuksista kolonnin sisäpinnalla olevan stationäärifaasikerroksen kanssa. Detektori havaitsee kolonnissa erottuneet yhdisteet tuottaen niistä signaalin.

5.2 Massaspektrometri

Massaspektrometria on erittäin herkkä ja selektiivinen analyysimenetelmä havaitsemaan ja mittaamaan erittäin pieniä yhdisteiden pitoisuuksia. Tästä syystä tekniikka soveltuu hyvin jäämäanalytiikkaan. Massaspektrometriassa tutkittava näyte höyrystetään ja ionisoidaan. Ionit erotellaan alhaisessa paineessa toimivassa massa-analysaattorissa. Erottamisen periaatteena on ionien massan ja sähkövarauksen suhde (m/z). Erottaminen tapahtuu tavallisin sähk- ja magneettikentän avulla. Yleisin analysaattorityyppi on neljän yhdensuuntaisen sähköä johtavan pinnan omaavan sauvan muodostama kvadrupoli-analysaattori, jonka läpi tulevat ionit ohjataan detektoriin.

SIM-mittauksen periaate

Ensin mitataan analysoitavan yhdisteen massaspektri, josta valitaan 1-3 ionia, jotka ovat mahdollisimman intensiivisiä ja suurilla massaluvuilla sekä eri ioneja kuin mahdollisilla häiritsevillä yhdisteillä. Massaspektrometri mittaa vain näitä muutamaa valittua ionia koko massaspektrin mittaamisen sijasta (*scan*). SIM-mittauksella saavutetaan parempi herkkyys kuin *scan*-mittauksella.

5.3 PTV-injektori

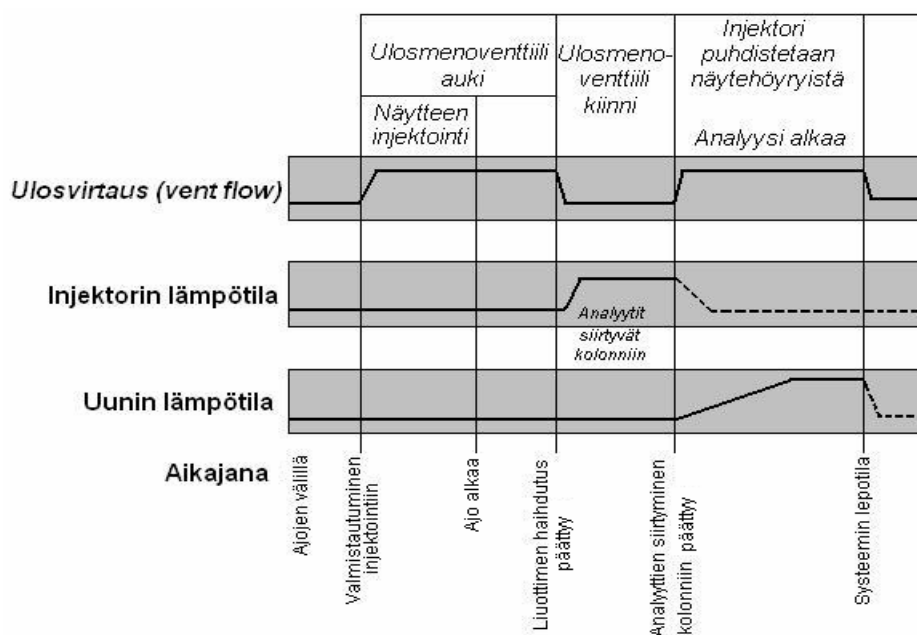
Tässä opinnäytetyössä käytettiin näytteen injektointiin PTV-injektointitekniikkaa (*Programmed Temperature Vaporizing Injection*) sekä *solvent vent* -menetelmää.

5.3.1 PTV-injektointitekniikan ja solvent vent -menetelmän periaate

Näyte injektoidaan kylmään injektoriin (40 - 60 °C), jossa se pidättäytyy injektio lasin (*liner*) seinämille sillä välin kun liuotin haihdutetaan pois matalassa lämpötilassa auki olevan ulosmenoventtiilin (*split vent*) kautta. Injektio lasin lämpötilan tulee olla hiukan liuottimen kiehumispistettä alempana, jotta haihtuminen tapahtuu riittävän hitaasti. Liian korkea lämpötila ja nopea liuottimen haihtuminen saattaa aiheuttaa esimerkiksi hävikkiä tai hajoamista analysoitavissa yhdisteissä.

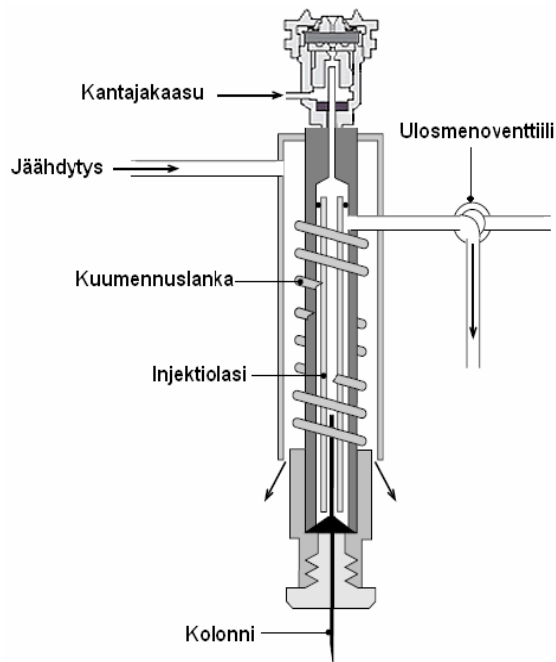
Kun liuotin on haihtunut, ulosmenoventtiili suljetaan ja injektorin lämpötilaa nostetaan nopeasti 200 - 300 °C:seen, jolloin komponentit höyrystyvät ja kantajakaasu pyyhkäisee ne viileään kolonniin (~50 °C). Viileä kolonni edesauttaa analyttien tiivistymistä (*condensation*) ja kohdistumista (*focusing*) sekä estää kolonnin tahriintumista ja liiallista häntimistä piikeissä [17.]. Kolonniuunin ja kolonnin lämpötilaa nostetaan hiljalleen, esimerkiksi 280 °C:een. Lopuksi injektorin jäähdytetään alkulämpötilaan uutta injektointia varten. Jotta injektorin lämpötilansäätelyt ja etenkin sen jäähdyttäminen eivät veisi liikaa aikaa, käytetään jäähdyttämisessä apuna esimerkiksi nestemäistä hiilidioksidia.

Kuvassa 1 on havainnollistettu laitteen toiminnot tyypillisessä analyysissä, kun käytetään *solvent vent* -menetelmää.



Kuva 1. PTV-injektorin ja kolonniuunin toiminnot tavanomaisessa analyysissä, kun käytetään *solvent vent* -menetelmää.

PTV-injektorin rakenne on esitetty kuvassa 2.



Kuva 2. PTV-injektorin rakenne

5.3.2 PTV-injektointitekniikan hyödyt

PTV-injektointitekniikka otettiin Tullilaboratoriossa käyttöön vuoden 2008 alussa. Sen tiedettiin lisäävän menetelmän herkkyyttä, koska se mahdollisti suuremman injektio-tilavuuden kuin *split/splitless* -injektointi. Näin voitiin päästä EU:n vaatimalle 0,01 mg/kg -tasolle määritysrajassa. *Split/splitless* -injektointi lisäsi näytteenkäsittelyn työläyttä, sillä näytettä ei voitu ajaa asetonitriililiuoksessa, koska se vahingoitti kolonnia. Tämän takia näytteeseen piti vaihtaa kaasukromatografista ajoa varten liuotin asetoni-heksaaniin haihduttamalla asetonitriili näytteestä ja liuottamalla näyte vastaavaan tilavuuteen asetoni-heksaania. Näyteliuoksen haihduttamisen ja uuden liuoksen pipetoinin koettiin lisäävän virheiden mahdollisuutta tuloksissa. PTV-injektointitekniikan käyttöönoton myötä tästä työvaiheesta voitiin luopua, sillä näytteet voitiin ajaa asetonitriililiuoksessa. Tähän vaikutti myös kolonnin vaihtaminen Zebron MR-1:een, joka kestää paremmin asetonitriiliä.

PTV-injektointitekniikka mahdollistaa suuret injektioilavuudet, minkä vuoksi myös pieniä pitoisuuksia voidaan analysoida. Lisäksi tekniikka vähentää analyttien häviämistä. [1.] Injektorin lämpötilojen muutokset voidaan ohjelmoida niin, että injektioilasi voidaan kuumentaa tai jäädyttää nopeasti, jopa 14,5 °C:ta sekunnissa. Koska näyte injektoidaan nestemäisessä muodossa kylmään injektoriin ja lämpötila nostetaan kontrolloidusti haluttuun lämpötilaan, jossa liuotin saadaan haihdutettua, ei näytteen komponenteissa pääse tapahtumaan äkkinäisen kuumen lämpötilan aiheuttamaa hajoamista. Tekniikka sopii hyvin näytteille, jotka sisältävät erilaisia yhdisteitä erilaisilla kiehumispisteillä. [4, s. 20.]

5.3.3 PTV-injektointitekniikan haasteet

Koska injektioilasin (*liner*) lämpötilaa pitää pystyä nostamaan ja laskemaan nopeasti lyhyessä ajassa, on PTV-injektorin injektioilasi huomattavasti pienempi (150 - 250 µl) kuin tavanomaisesti *split/splitless* -tekniikassa käytetyt injektioilasit (1000 µl). Näytteet likaavat pienemmän injektioilasin nopeammin, mikä heikentää laitteen suorituskykyä ja tihentää injektioilasin vaihtoväliä. Kuvassa 3 nähdään käytössä olleet PTV-injektorin ja *splitless* -injektorin injektioilasit. Kuvassa näkyy bufflet-injektioilasiin kertynyt musta lika. *Splitless* -injektioinnissa käytetty injektioilasi on kirkas.



Kuva 3. Vasemmalla käytetty PTV-injektorin bufflet-injektioilasi ja oikealla splitless-injektioinnissa käytetty injektioilasi.

6 TYÖN TARKOITUS

Opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida QuEChERS-monijäämämenetelmään lisää yhdisteitä, jotta akkreditointia voidaan tulevaisuudessa laajentaa. Työ oli osa Tullilaboratoriossa vuonna 2007 käyttöön otetun monijäämämenetelmän, QuEChERSin, testaamista ja validointia. Työssä oli lisäksi tarkoitus käyttää ja testata PTV-injektointitekniikkaa. Aikaisemmin menetelmää testattaessa on käytetty *splitless* -injektointia. Työhön otettiin mukaan viisi jo aiemmin *splitless* -injektointitekniikalla testattua yhdistettä. PTV-injektointitekniikan vaikutusta menetelmän suorituskykyyn oli tarkoitus arvioida vertailemalla tuloksia *splitless* -injektointitekniikalla saatuihin tuloksiin.

7 TYÖSSÄ KÄYTETYT MATERIAALIT JA LAITTEET

Kaikki työn suorituksessa käytetyt liuottimet olivat erityisesti kasvinsuojeluaineiden jäämäanalytiikkaan tarkoitettuja laatuja tai HPLC-laatuja. Ohessa on esitetty työssä käytetyt reagenssit, välineet, tarvikkeet ja laitteistot.

7.1 Reagenssit

Magnesiumsulfaatti

- FLUKA, MgSO_4 , kidevedetön, $M = 120,37 \text{ g/mol}$, $\geq 97,0 \%$

Natriumkloridi

- J.T. Baker, NaCl , $M = 58,44 \text{ g/mol}$, $\geq 99,5 \%$

Natriumsitraatti

- Riedel-De Haën, p.a. $M = 294,10 \text{ g/mol}$, $\geq 99,5 \%$

Natriumvetysitraatti

- FLUKA, p.a. $M = 263,11 \text{ g/mol}$, $\geq 99,0 \%$

PSA-sorbentti

- Varian, Bondesil-PSA, 40 UM, 100 GM

5 %:nen muurahaishappo

- 0,5 ml 95 %:sta muurahaishappoa sekoitetaan 10 ml:aan asetonitriiliä

Asetonitriili

- VWR International, HPLC-laatu

Vesi

- HPLC-laatu (ionivaihdettu)

TPP-liuos (trifenyylifosfaatti)

- 10 mg/l asetonitriilissä

7.2 Välineet ja tarvikkeet

Sentrifugiputkia

- Sarstedt, PP, 50 ml

Automaattipipetit

- Finnipipette (10-100) μ l, PE0457
- Finnipipette (2-10) ml, PE0409

Hamilton-injektioruisku (10-100) μ l

Täyspipettejä (AS)

7.3 Laitteet

Näytehomogenaattoreita

- Stephan U12
- Metos K17
- Robot Blixer 4
- Tehosekoitin: Robot Mini MP 170

- Sauvasekoitin: Bamix

Sentrifugi

- Eppendorf 50 ml 5810

Vaa'at

- Yläkuppivaaka SHIMADZU 77BL2200H, PE0454, tarkkuus 0,01 g
- Yläkuppivaaka SHIMADZU 77BL2200H, PE0455, tarkkuus 0,01 g

Vortex-Genie 2 -sekoittaja

Näytteenjakaja: FRITSCH Rotary Sample Divider Laborette 27

Mittalaite: Kaasukromatografi GC-13 MASSA

- Hewlett Packard 6890 series ja 5973 MSD
- Injektori: Agilent PTV 9890 series, *solvent vent* -menetelmä, CO₂-jäähdytys
- Sovellus: ChemStation
- Injektiolasi: Agilent 1,8 mm ID PTV M
- Kolonni: 32,5 m Phenomenex ZB-MR-1, 0,25 mm, 0,25 μ
- Esikolonni: Phenomenex ZB-MR-1, 0,25 mm, 0,25 μ
- Kantokaasu: helium (AGA 4.6, ≥ 99,996 %)

8 TYÖN SUORITUS

Opinnäytetyön kokeellinen osuus suoritettiin Tullilaboratorion laatukäsikirjan validointiohjeen [14; 15.] mukaisesti. Näytteet käsiteltiin noudattaen Tullilaboratorion PE058-menettelytapaohjetta [13], joka perustuu CENin julkaisemaan QuEChERS-monijäämämenetelmän menetelmäehdotukseen [3.]. Mitaukset suoritettiin kohdassa 7.3 esitetyllä laitteella.

8.1 Kaasukromatografi-massaspektrometrin ajomenetelmä

Tässä työssä ajomenetelmänä käytettiin kaasukromatografi-massaspektrometrille tehtyä QUECHERS_Z1_SATU.M-menetelmää, joka vastaa pienin muutoksin jo päivittäisessä näyteanalytiikassa käytössä ollutta QUECHERS_Z1_PTV13.M-menetelmää. Ajomenetelmä sisältää sekä kaasukromatografian että massaspektrometrin ajoparametrit, joilla säädellään laitteiden toimintaa injektointihetkestä yhdisteen kvantitointiin.

8.1.1 Menetelmän ajoparametrit

Uunin lämpötilaohjelma: alkulämpötila 50 °C, nostetaan 20 °C/min 150 °C:seen, jonka jälkeen nostetaan 6 °C/min 280 °C:seen, joka on loppulämpötila.

Kokonaisajoaika on 41,67 minuuttia.

Injektointimenetelmä: PTV *solvent vent* (liuottimen haihdutus)

Injektorin lämpötilaohjelma: alkulämpötila 56 °C (injektointi tapahtuu tähän lämpötilaan), nostetaan 720 °C/min 300 °C:seen, jonka jälkeen lasketaan 280 °C:seen, joka on sama kuin uunin loppulämpötila.

Liuottimen haihdutusaika (*vent time*): 30 s

Injektoripäänpaine: 11,94 psi

Injektointitilavuus: 5 µl

Injektorin ulosvirtaus (*vent flow*): 35 ml/min

8.1.2 Menetelmän kalibrointi

Kalibrointitavaksi valittiin menettelytapaohjeen [13] mukaisesti kahden pitoisuustason kalibraatio, jossa kalibrointisuora pakotetaan origoon (origoon pa-

kotettu lineaarinen kalibrointi). Origoon pakottamisella pyritään siihen, että nolla on varmasti nolla eivätkä saannot vääristyisi liian suuriksi. Kalibroinnissa käytettiin *level* 1- ja *level* 3 -standardiseoksia, jotka molemmat sisältävät samat yhdisteet, mutta kahdella eri pitoisuustasolla. Kalibrointiseosten pitoisuudet ovat noin 0,01 - 0,02 ppm ja 0,10 - 0,20 ppm analyytistä riippuen. Koska kalibrointisuora pakotettiin kulkemaan origoon, alemman tason kalibroinnilla ei ollut suurta merkitystä kalibrointisuoran asettumisessa xy-akselistolle. Alemman tason tarkoituksena on osoittaa, että tasolla 0,01 ppm saadaan mitattava signaali ja menetelmä on riittävän herkkä. Kalibrointiseokset sisältävät sisäistä standardia (ISTD) trifenyylifosfaattia (TPP) 0,10 ppm.

Molempien pitoisuustasojen kalibrointiseokset ajetaan ennen näytesarjaa ja sen jälkeen. Kalibrointi suoritetaan keskiarvolla näytteitä ennen ja jälkeen ajetuista kalibrointiseoksista. Vasta tämän jälkeen näytteet voidaan kvantitoida.

8.1.3 *Näytteiden kvantitointi ja tulosten laskeminen*

Kvantitoinnissa käytetään suhteellisia vasteita näytteessä ja kalibrointiliuoksessa olevaan sisäiseen standardiin (TPP) nähden. Sisäisellä standardilla pyritään kompensoimaan menetelmän eri työvaiheissa tapahtuvia hävikkejä. Tulosten laskeminen perustuu kahden pisteen kautta sovitettuun ja origoon pakotettuun kalibrointisuoraan. Näyte tulee tarvittaessa laimentaa siten, että sen pitoisuus ei ylitä kalibrointialuetta. Kivellisten tuotteiden lopputulosten laskennassa kiven paino huomioidaan korjauskertoimilla. Tarvittaessa tulee ottaa huomioon myös muita erilaisia kertoimia, esimerkiksi punnitusmäärät ja laimennokset. [13.]

Sisäisen standardin menetelmää käytettäessä laite määrittää määritettävän yhdisteen suoran yhtälöksi

$$y = ax + b, \text{ missä} \quad (6)$$

y = määritettävän yhdisteen ja sisäisen standardin pinta-alojen suhde (*response ratio*) $\left(\frac{A_{\text{analyytti}}}{A_{\text{ISTD}}} \right)$

x = määritettävän yhdisteen ja sisäisen standardin pitoisuuksien suhde (*amount ratio*) $\left(\frac{(mg/kg)_{\text{analyytti}}}{(mg/kg)_{\text{ISTD}}} \right)$

a = kulmakerroin

b = suoran leikkauspiste

Määritettävän yhdisteen pitoisuus ratkaistaan suoran yhtälöstä siten, että vastesuhteen (y) paikalle sijoitetaan määritettävän yhdisteen ja sisäisen standardin pinta-alojen suhde ja kaavasta ratkaistaan pitoisuus (x) kertomalla tulos sisäisen standardin pitoisuudella.

”Käsin” laskettaessa voidaan käyttää laskukaavaa, jossa otetaan huomioon näytteen ja sen sisäisen standardin vastesuhde sekä standardin ja sen sisäisen standardin vastesuhde sekä laskennallinen standardin pitoisuus. Laskukaavaa voidaan käyttää, kun on kyse yhden pisteen kalibroinnista.

$$C_{\text{näyte}} (mg/kg) = \frac{\left(\frac{A_{\text{näyte}}}{A_{\text{ISTD näytteessä}}} \right)}{\left(\frac{A_{\text{std}}}{A_{\text{ISTD std:ssa}}} \right)} \cdot \frac{C_{\text{std}} (mg/l) \cdot \text{uuttotilavuus (l)}}{\text{näytemäärä (kg)}} \quad (7)$$

8.2 Validointiin valitut kasvinsuojeluaineet

Validoitaviksi yhdisteiksi valittujen 41 pestisidin nimet, molekyylipainot (MW), retentioajat (RT) ja määrittämissä käytetyt *target* -ionit (T) sekä *qualifier* -ionit (Q1,2,3) on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Tutkittujen kasvinsuojeluaineiden ja sisäisen standardin molekyylipainot (MW), retentioajat (RT) sekä SIM-tekniikassa käytetyt ionit

YHDISTE	MW	RT (min)	Tgt	Q1	Q2	Q3
Propoksuuri 1	-	7,69	110	152	111	
Etridiatsoli	247,50	10,84	211	213	246	183
O-fenyyliifenoli	170,20	12,04	170	169	141	115
Propoksuuri 2	(1+2) 209,2	13,35	110	152	111	
Trifluraliini	335,30	13,59	306	264	290	248
Sulfoteppi	322,30	13,90	322	266	294	238
Klorprofaami	213,70	14,06	213	127	171	154
Metributsiini	214,30	18,16	198	199	144	182
Pentakloorianisoli	280,36	15,03	265	235	165	237
Dikloraani	207,00	15,61	124	176	206	208
Diatsinoni	304,30	15,73	304	276	199	179
Kvintotseeni	295,30	15,94	237	295	235	239
Propytsamidi	256,10	16,11	173	175	254	255
Pirimikarbi	238,30	16,82	166	238	167	72
Pentakloorianiliini	239,70	17,42	265	263	267	269
Klorpyrifossi-metyyli	322,50	17,64	286	288	290	125
Parationi-metyyli	263,20	18,16	200	263	125	109
Fenitrotioni	277,20	18,83	277	260	125	109
Klorpyrifossi	350,60	18,99	314	316	286	258
Klortaali-dimetyyli	303,90	19,11	301	299	303	332
Pirimifossi-etyyli	333,40	19,39	333	318	290	180
Parationi	291,30	19,56	291	139	109	155
Tetrakonatsoli	372,10	19,74	336	338	159	171
Pendimetaniili	281,30	20,09	252	281	191	162
Syprodiiniili	225,30	20,36	224	225	210	226
Tolyylifluanidi	347,20	20,52	238	137	181	240
Fentoaatti	320,40	20,61	274	246	275	121
Kinalfossi	298,30	20,73	298	156	190	270
Metidationi	302,30	21,48	145	125	85	93
Kinometionaatti	234,30	21,85	234	148	206	116
Profenofossi	373,60	22,19	339	337	374	208
Pyretriinit 1	-	22,363	123	164	207	281
Pyretriinit 2	-	23,472	123	164	207	281
Pyretriinit 3	-	23,698	123	164	207	281
Pyretriinit 4	-	24,016	123	164	207	281
Oksadiksyyli	278,30	24,20	105	132	233	163
Triatsofossi	313,30	24,47	257	285	313	172
Bifentriini	422,90	26,04	181	166	165	182
Fenpropatriini	349,40	26,56	265	181	125	97
Fosmetti	317,30	26,87	160	317	161	133

Fosaloni	367,80	27,88	367	369	182	184
Akrinatriini	541,40	27,97	181	247	289	441
Bitertanoli	337,40	29,72	170	168	171	337
Sypermetriinit 1	-	31,608	163	165	181	209
Sypermetriinit 2	-	31,664	163	165	181	209
Sypermetriinit 3	-	31,748	163	165	181	209
Sypermetriinit 4	(1-4) 416,3	31,894	163	165	181	209
Fluvalinaatti 1	-	34,006	250	252	502	504
Fluvalinaatti 2	(1+2) 502,9	34,369	250	252	502	504
Trifenyylifosvaatti (TPP)	24,08	25,50	326	233		

8.3 Validointiin valitut matriisit

Näyttematriiseiksi valittiin jääsalaatti, appelsiini ja vehnä jauho. Näyttematriisit olivat peräisin aiemmista QuEChERS-menetelmällä tehdyistä näytehomogenaateista, jotka oli todettu puhtaaksi kasvinsuojeluainejäämistä. Homogenoituja näytteitä oli säilytetty pakastimessa ja ne sulatettiin varovasti huoneenlämmössä tai vesihauteella ennen kunkin näytesarjan analyysin aloittamista.

8.4 Alkuvalmistelut

Näytteen käsittelyn alkuvaiheessa näytteeseen lisätään natriumkloridia, magnesiumsulfaattia ja puskuroivia suoloja, sitraatteja. Tätä varten valmistettiin puskuri-suolaseos, jolla pyrittiin nopeuttamaan ja helpottamaan työn kulkua.

Kymmenelle näytteelle valmistettavaan suolaseokseen punnittiin 10 g NaCl:a, 10 g natriumsitraattia sekä 5 g natriumvetysitraattia (punnitustarkkuus $\pm 0,1$ g). Seos jauhettiin huumareessa tasalaatuiseksi. Suolaseosta punnittiin ennalta pieniin kannellisiin kuppeihin, joista lisäys oli helppo suorittaa. Näytettä kohden punnittiin suolaseosta 2,5 g ja magnesiumsulfaattia 4 g suolaseoksen sekaan.

Suolaseos voidaan valmistaa myös rotaatiojakajalla, joka jakaa natriumkloridin, magnesiumsulfaatin ja sitraatit kuppeihin tasamääräisesti. Jakajan käyttö nopeuttaa työtä.

8.5 Näytesarjat

Kaikista kolmesta näytematriisista valmistettiin kuusi rinnakkaista näytettä kahdella eri lisäystasolla. Lisäksi valmistettiin nolla-näytteet, joihin ei tehty mitään lisäyksiä. Kaiken kaikkiaan samasta matriisista tehtiin vähintään 12 lisäsnäytettä.

8.6 Näytteiden punnitus

Valmiiksi homogenoituja jääsalaatti- ja appelsiinimatriiseja punnittiin 10 grammaa 50 millilitran sentrifugiputkiin. Mikäli analysointia ei voitu aloittaa samana päivänä, putket näytteineen pakastettiin. Jauhettua vehnämatriisia punnittiin 5 grammaa ja analyysin alussa näyteputkeen lisättiin jääkylmää vettä PE058-menetelmäohjeen mukaisesti.

8.7 Analyysin kulku

Sulatettuihin näytteisiin lisättiin tarkalla 10 - 100 µl:n kaasutiiviillä Hamilton-ruiskulla validoitavia yhdisteitä sisältäviä liuoksia, joiden laskennalliset pitoisuudet analyyttien osalta olivat noin 10 - 20 mg/kg (tarkat lisäysmäärät ja pitoisuudet on ilmoitettu taulukoissa 2 ja 3). Lisäyksen annettiin vaikuttaa näytteessä hetki ja näyteputkea pyöriteltiin varovasti, jotta lisätty yhdisteseos kiinnittyisi näytematriisiin.

Taulukko 2. Lisäysliuosten lisäysmäärät ja laskennalliset pitoisuudet näytteissä lisäysolealla 0,01 ppm (oletus, että näytettä on punnittu 10 g)

Lisäysole 0,01 ppm				
YHDISTE	Kantaliuos (mg/µl)	Laimennos (mg/µl)	Lisäys (µl)	Laskennallinen pitoisuus näytteessä (mg/kg)
O-fenyylifenoli	10,00	1,000	100	0,010
Trifluraliini	9,97	0,997		0,010
Pentakloorianisoli	10,00	1,000		0,010
Propytsamidi	10,00	1,000		0,010
Pirimikarbi	10,32	1,032		0,010
Pentakloorianiliini	10,00	1,000		0,010
Klorpyrifossi-metyyli	10,04	1,004		0,010
Klortaali-dimetyyli	11,87	1,187		0,012
Parationi	12,73	1,273		0,013
Tetrakonatsoli	11,68	1,168		0,012
Pendimetalini	9,78	0,978		0,010
Syprodiniili	9,29	0,929		0,009
Tolyylifluanidi	13,80	1,380		0,014
Kinalfossi	10,24	1,024		0,010
Metidationi	10,00	1,000		0,010
Kinometionaatti	9,96	0,996		0,010
Oksadiksyyli	10,89	1,089		0,011
Bifentriini	9,70	0,970		0,010
Fenpropatriini	10,18	1,018		0,010
Fosmetti	11,03	1,103		0,011
Fosaloni	12,67	1,267		0,013
Akrinatriini	9,66	0,966		0,010
Bitertanoli	9,88	0,988		0,010
Fluvalinaatti	9,47	0,947		0,009
Sulfoteppi	10,41	1,041		0,010
Klorprofaami	10,08	1,008		0,010
Metributsiini	10,01	1,001		0,010
Kvintotseeni	10,04	1,004		0,010
Parationi-metyyli	10,00	1,000		0,010
Fenitrotoni	12,11	1,211		0,012
Klorpyrifossi	10,34	1,034		0,010
Pirimifossi	9,78	0,978		0,010
Fentoaatti	8,57	0,857	0,009	
Sypermetriini	24,53	2,453	0,025	
Etridiatsoli	25,53	1,276	100	0,013
Propoksuuri	27,38	1,369		0,014
Dikloraani	2,00	0,100		0,013
Diatsinoni	2,00	0,100		0,015
Profenofossi	25,53	1,276		0,013
Pyretriini	23,36	1,168		0,012
Triatsofossi	23,38	1,169		0,012

Taulukko 3. Lisäysliuosten lisäysmäärät ja laskennalliset pitoisuudet näytteissä lisäysohjeella 0,1 ppm (oletus, että näytettä on punnittu 10 g)

Lisäysohje 0,10 ppm			
YHDISTE	Kantaliuos (mg/µl)	Lisäys (µl)	Laskennallinen pitoisuus näytteessä (mg/kg)
O-fenyylifenoli	10,00	100	0,10
Trifluraliini	9,97		0,10
Pentakloorianisoli	10,00		0,10
Propytsamidi	10,00		0,10
Pirimikarbi	10,32		0,10
Pentakloorianiliini	10,00		0,10
Klorpyrifossi-metyyli	10,04		0,10
Klortaali-dimetyyli	11,87		0,12
Parationi	12,73		0,13
Tetrakonatsoli	11,68		0,12
Pendimetalini	9,78		0,10
Syprodiniili	9,29		0,09
Tolyylifluanidi	13,80		0,14
Kinalfossi	10,24		0,10
Metidationi	10,00		0,10
Kinometionaatti	9,96		0,10
Oksadiksyyli	10,89		0,11
Bifentriini	9,70		0,10
Fenpropatriini	10,18		0,10
Fosmetti	11,03		0,11
Fosaloni	12,67		0,13
Akrinatriini	9,66		0,10
Bitertanoli	9,88		0,10
Fluvalinaatti	9,47		0,09
Sulfoteppi	10,41		0,10
Klorprofaami	10,08		0,10
Metributsiini	10,01		0,10
Kvintotseeni	10,04		0,10
Parationi-metyyli	10,00		0,10
Fenitrotioni	12,11		0,12
Klorpyrifossi	10,34	0,10	
Pirimifossi	9,78	0,10	
Fentoaatti	8,57	0,09	
Sypermetriini	24,53	0,25	
Etridiatsoli	25,53	50	0,13
Propoksuuri	27,38		0,14
Dikloraani	25,06		0,13
Diatsinoni	29,54		0,15
Profenofossi	25,53		0,13
Pyretriinit	23,36		0,12
Triatsofossi	23,38		0,12

Putkiin lisättiin 10 ml asetonitriiliä täyspipetillä sekä 100 µl sisäisen standardin liuosta (TPP), jonka pitoisuus oli 10 mg/l. Näytteitä ravisteltiin voimakkaasti minuutin ajan. Sentrifugiputkiin lisättiin valmiiksi punnitut suolaseokset, minkä jälkeen näytettä ravisteltiin välittömästi vähintään 5 sekunnin ajan, jotta kokkareita ei päässyt muodostumaan näytteen sekaan. Putkia ravisteltiin minuutin ajan ja faasit erotettiin sentrifugoimalla seosta viisi minuuttia nopeudella 4000 kierrosta minuutissa.

Sentrifugoinnin jälkeen vesi- ja asetonitriilifaasit (välissä kiinteäfaasi) erottuivat toisistaan ja ekstraktista (asetonitriilifaasista) pipetoitiin automaattipipetillä 8 ml koeputkeen, jossa ekstraktit pakastettiin yön yli. Pakastamisella liuoksesta saatiin rasvat, öljyt ja vahat saostumaan koeputken pohjalle erilleen ekstraktista. Pakastaminen tehtiin vain appelsiini- ja vehnämatriiseille. Salaattimatriisi ei sisällä rasvoja, öljyjä tai vahoja, jotka likaavat injektoria tai kolonnin päätä ja aiheuttavat taustaa kromatogrammiin vaikeuttaen näytteiden analysointia [3]. Pakastamisen jälkeen pipetoitiin automaattipipetillä 6 ml ekstraktia uuteen 50 ml:n sentrifugiputkeen, johon oli valmiiksi punnittu 0,15 g PSA:ta ja 0,9 g magnesiumsulfaattia.

Sentrifugoinnin jälkeen salaattimatriisin ekstraktista pipetoitiin automaattipipetillä 8 ml uuteen 50 ml:n sentrifugiputkeen, johon oli valmiiksi punnittu 0,2 g PSA:ta ja 1,2 g magnesiumsulfaattia. Näytteitä ravisteltiin voimakkaasti 30 sekuntia ja sentrifugoitiin viisi minuuttia 4000 kierrosta minuutissa.

Kaikista näytteistä pipetoitiin automaattipipetillä 5 ml ekstraktia ekseloputkiin, joihin oli pipetoitu automaattipipetillä 50 µl 5 %:sta muurahaishappoa. Putkia vorteksoitiin, minkä jälkeen näytteet siirrettiin näytepulloihin kaasukromatografista analyysia varten. Mikäli näytteitä ei heti saatu ajoon kaasukromatografille, säilytettiin niitä kylmiössä + 5,0 (± 2,0) °C:ssa.

8.8 Näytesarjojen ajaminen GC-MS:lla

Näytteet ajettiin sarjoittain siten, että kustakin matriisista ajettiin ensin pienemmän lisäyksen näytesarja ja sitten suuremman lisäyksen näytesarja. Jokaisen näytesarjan alussa ja lopussa ajettiin kalibrointiliuokset, joiden keskiarvolla kalibrointi suoritettiin.

Laitteeseen vaihdettiin aina injektolasi matriisin vaihtuessa. Validoinnin ohessa GC-MS:llä ajettiin myös suuri määrä laboratorion päivittäisiä näyttei-

tä, minkä vuoksi esikolonnia lyhennettiin tai vaihdettiin aina, kun se nähtiin tarpeelliseksi.

9 TULOKSET

Tulokset on esitetty niin, että jokaista yhdistettä voidaan tarkkailla matriisi- ja pitoisuustasokohtaisesti, jotta voidaan varmistua täyttääkö kyseinen yhdiste validointivaatimukset kaikilta osa-alueilta.

Lisäksi arvioidaan PTV-injektointitekniikan vaikutusta menetelmän suorituskykyyn viiden yhdisteen kohdalla. Arvioinnissa vertaillaan *splitless*- ja PTV-injektointitekniikalla saatuja tuloksia matriisi- ja pitoisuustasokohtaisesti.

9.1 Yhdistekohtaiset kvantitatiiviset tulokset

Taulukkoon 4 on koottu molempien lisäystasyöjen rinnakkaismääritysten keskimääräiset saantoprosentit sekä kokonaishajonnat (CV) ja mittausepävarmuudet (u) yhdiste- ja matriisikohtaisesti. Arvot, jotka eivät täytä validointivaatimuksia, on osoitettu punaisella. Validointivaatimukset täysin täyttävät yhdisteet ovat vihreällä pohjalla ja yhdisteet, jotka täyttävät vaatimukset harkinnanvaraisesti, ovat harmaalla pohjalla. Yhdisteet, joita ei voi tämän validoinnin tulosten perusteella hyväksyä akkreditoitavaksi, ovat valkoisella pohjalla.

Taulukko 4. Keskimääräiset saantoprosentit, kokonaishajonnat ja mittausepävarmuudet yhdiste- ja matriisikohtaisesti

YHDISTE	MATRIISI	Keskimääräinen saantoprosentti		Suureet	
		Lisäystaso 0,01 ppm	Lisäystaso 0,1 ppm	CV (%)	u (%)
Etridiatsoli	jäävuorisalaatti	68	82	25	51
	appelsiini	76	82	5	14
	vehnäjauho	61	59	14	30
O-fenyylifenoli	jäävuorisalaatti	96	82	13	27
	appelsiini	198	143	4	12
	vehnäjauho	115	128	8	18
Trifluraliini	jäävuorisalaatti	107	108	22	45
	appelsiini	115	104	5	14
	vehnäjauho	101	103	7	17
Sulfoteppi	jäävuorisalaatti	70	61	29	60
	appelsiini	91	68	13	27
	vehnäjauho	96	78	7	18
Klorprofaami	jäävuorisalaatti	98	95	12	26
	appelsiini	133	140	4	13
	vehnäjauho	99	124	8	19
Metributsiini	jäävuorisalaatti	93	86	16	33
	appelsiini	74	80	12	26
	vehnäjauho	99	113	6	16
Pentakloorianisoli	jäävuorisalaatti	93	86	19	39
	appelsiini	111	94	3	12
	vehnäjauho	100	91	5	14
Dikloraani	jäävuorisalaatti	-	111	17	35
	appelsiini	-	133	8	19
	vehnäjauho	78	87	15	31
Diatsinoni	jäävuorisalaatti	87	79	9	21
	appelsiini	126	103	5	14
	vehnäjauho	106	97	4	13
Kvintotseeni	jäävuorisalaatti	99	94	21	43
	appelsiini	102	103	4	12
	vehnäjauho	110	100	5	14
Propytsamidi	jäävuorisalaatti	93	85	11	24
	appelsiini	122	109	3	12
	vehnäjauho	102	101	5	14
Pirimikarbi	jäävuorisalaatti	92	84	9	20
	appelsiini	121	107	3	12
	vehnäjauho	101	106	4	12
Pentakloorianiliini	jäävuorisalaatti	99	89	9	21
	appelsiini	116	112	3	12
	vehnäjauho	109	113	5	14
Klorpyrifossi-metyyli	jäävuorisalaatti	95	84	6	15
	appelsiini	135	109	4	13
	vehnäjauho	184	105	22	46
Parationi-metyyli	jäävuorisalaatti	99	90	11	25

	appelsiini	81	92	6	15
	vehnäjauho	107	107	7	17
Fenitrotioni	jäävuorisalaatti	110	122	10	22
	appelsiini	139	137	5	13
	vehnäjauho	119	119	25	51
Klorpyrifossi	jäävuorisalaatti	91	80	4	12
	appelsiini	121	101	3	12
	vehnäjauho	104	100	8	18
Klortaali-dimetyyli	jäävuorisalaatti	92	79	8	18
	appelsiini	124	105	3	11
	vehnäjauho	111	104	3	12
Pirimifossi	jäävuorisalaatti	97	89	10	22
	appelsiini	135	112	3	12
	vehnäjauho	107	107	2	11
Parationi	jäävuorisalaatti	102	113	8	19
	appelsiini	136	146	4	13
	vehnäjauho	102	124	6	15
Tetrakonatsoli	jäävuorisalaatti	110	95	11	23
	appelsiini	136	116	3	11
	vehnäjauho	109	113	5	14
Pendimetaniili	jäävuorisalaatti	104	113	8	19
	appelsiini	141	123	5	14
	vehnäjauho	100	128	4	13
Syprodiniili	jäävuorisalaatti	136	98	12	25
	appelsiini	135	113	3	12
	vehnäjauho	112	120	4	13
Tolyylifluanidi	jäävuorisalaatti	59	60	28	57
	appelsiini	66	73	8	18
	vehnäjauho	31	30	65	130
Fentoaatti	jäävuorisalaatti	100	105	11	24
	appelsiini	121	102	4	13
	vehnäjauho	119	95	33	66
Kinalfossi	jäävuorisalaatti	102	97	7	18
	appelsiini	116	113	3	12
	vehnäjauho	99	97	6	16
Metidationi	jäävuorisalaatti	121	143	18	38
	appelsiini	154	140	8	19
	vehnäjauho	170	153	43	87
Kinometionaatti	jäävuorisalaatti	43	27	17	36
	appelsiini	16	21	22	46
	vehnäjauho	24	19	64	128
Profenofossi	jäävuorisalaatti	144	192	12	26
	appelsiini	166	160	4	13
	vehnäjauho	141	147	26	53
Pyretriinit	jäävuorisalaatti	434	166	23	46
	appelsiini	1126	176	12	27
	vehnäjauho	524	134	20	42
Oksadiksyyli	jäävuorisalaatti	80	104	14	30
	appelsiini	80	101	7	18

	vehnäjauho	104	99	7	18
Triatsofossi	jäävuorisalaatti	101	133	12	27
	appelsiini	174	156	5	14
	vehnäjauho	116	111	23	47
Bifentriini	jäävuorisalaatti	111	100	9	21
	appelsiini	132	102	2	11
	vehnäjauho	119	110	2	11
Fenpropatriini	jäävuorisalaatti	100	96	7	17
	appelsiini	111	98	5	14
	vehnäjauho	115	100	5	15
Fosmetti	jäävuorisalaatti	-	-	-	-
	appelsiini	-	-	-	-
	vehnäjauho	-	186	87	174
Fosaloni	jäävuorisalaatti	104	144	12	27
	appelsiini	124	124	5	14
	vehnäjauho	123	112	41	83
Akrinatriini	jäävuorisalaatti	79	100	20	41
	appelsiini	40	37	12	26
	vehnäjauho	95	51	63	127
Bitertanoli	jäävuorisalaatti	126	128	10	22
	appelsiini	139	112	2	11
	vehnäjauho	133	129	3	12
Sypermetriinit	jäävuorisalaatti	470	123	11	24
	appelsiini	-	-	-	-
	vehnäjauho	100	80	23	46
Fluvalinaatti	jäävuorisalaatti	89	96	29	58
	appelsiini	-	31	29	59
	vehnäjauho	64	53	27	55
Propoksuuri	jäävuorisalaatti	101	75	11	24
	appelsiini	103	96	5	14
	vehnäjauho	99	103	7	18

Yhdiste- ja matriisikohtaiset kokonaishajonnat (CV) ja mittausepävarmuudet (u) on esitetty kuvaajana liitteessä 1.

Tulosten perusteella yhdeksän yhdistettä 41:stä täyttivät validointivaatimukset täysin. 11 yhdisteen kohdalla löytyi yksittäisiä arvoja, jotka eivät täyttäneet validointivaatimuksia. Lopun 21 yhdisteen kohdalla ei voida harkita akkreditointia.

Yhdisteet, jotka täyttivät validointivaatimukset, olivat metributsiini, pentakloorianisoli, pentakloorianiliini, parationi-metyyli, klorpyrifossi, kinalfossi, oksadiksyyli, fenpropatriini ja propoksuuri.

9.2 PTV-injektointitekniikan vaikutus menetelmän suorituskykyyn

PTV-injektointitekniikan vaikutusta menetelmän suorituskykyyn arvioitiin vertailemalla tuloksia *splitless* -injektointitekniikalla saatuihin tuloksiin kaikilla kolmella matriisilla ja kahdella lisäystasolla. Yhdisteet, joilla vertailu suoritettiin, olivat klorprofaami, sulfoteppi, diatsinoni, pirimikarbi ja klorpyrifossimetyyli. Arvioinnissa vertailtiin rinnakkaismääritysten keskimääräisiä saantoprosentteja (S-%) sekä suhteellisia keskihajontoja (CV_i) lisäystaso- ja matriisikohtaisesti (taulukot 5 - 7).

9.2.1 Jääsalaattimatriisi

Jääsalaattimatriisissa testattujen yhdisteiden keskimääräiset saantoprosentit (S-%) ja suhteelliset keskihajonnat (CV_i) kahdella eri pitoisuustasolla ovat taulukossa 5.

Taulukko 5. Jääsalaattimatriisin rinnakkaismääritysten keskimääräiset saantoprosentit (S-%) ja suhteelliset keskihajonnat (CV_i) *splitless*- ja PTV-injektointitekniikoilla

JÄÄSALAATTI						
YHDISTE	Splitless			PTV (Solvent Vent)		
	Lisäys näytteessä (mg/kg)	S-%	CV_i (%)	Lisäys näytteessä (mg/kg)	S-%	CV_i (%)
	<i>Lisäystaso ~0,015 mg/kg</i>			<i>Lisäystaso ~0,01 mg/kg</i>		
Klorprofaami	0,012	118	5	0,010	98	10
Sulfoteppi	0,013	78	3	0,010	70	15
Diatsinoni	0,011	99	1	0,015	87	9
Pirimikarbi	0,012	95	2	0,010	92	3
Klorpyrifossimetyyli	0,012	132	1	0,010	95	5
	<i>Lisäystaso ~0,15 mg/kg</i>			<i>Lisäystaso ~0,10 mg/kg</i>		
Klorprofaami	0,15	87	3	0,10	95	37
Sulfoteppi	0,17	68	7	0,10	61	44
Diatsinoni	0,14	91	2	0,15	79	25
Pirimikarbi	0,16	99	2	0,10	84	25
Klorpyrifossimetyyli	0,15	108	2	0,10	84	16

Jääsalaattimatriisissa eri yhdisteiden ja pitoisuustasojen rinnakkaismääritysten keskimääräiset saantoprosentit ovat *splitless* -injektointitekniikalla välillä 68 - 132 %. Suhteelliset keskihajonnat ovat 1 %:n ja 7 %:n välillä.

PTV-injektointitekniikalla eri yhdisteiden ja pitoisuustasojen rinnakkaismäärittysten keskimääräiset saantoprosentit ovat välillä 61 - 98 %. Suhteelliset keskihajonnat ovat 3 %:n ja 44 %:n välillä.

PTV-injektointitekniikkaa käytettäessä yhdisteiden keskimääräiset saantoprosentit jäivät pienemmiksi kuin *splitless* -tekniikalla, ja tuloksissa oli huomattavasti enemmän hajontaa kuin *splitless* -injektointitekniikalla saaduissa tuloksissa.

9.2.2 Appelsiinimatriisi

Appelsiinimatriisissa testattujen yhdisteiden keskimääräiset saantoprosentit (S-%) ja suhteelliset keskihajonnat (CV_i) kahdella eri pitoisuustasolla ovat taulukossa 6.

Taulukko 6. Appelsiinimatriisin rinnakkaismäärittysten keskimääräiset saantoprosentit (S-%) ja suhteelliset keskihajonnat (CV_i) *splitless*- ja PTV-injektointitekniikoilla

APPELSIINI						
YHDISTE	Splitless			PTV (Solvent Vent)		
	Lisäys näytteessä (mg/kg)	S-%	CV _i (%)	Lisäys näytteessä (mg/kg)	S-%	CV _i (%)
	<i>Lisäystaso ~0,015 mg/kg</i>			<i>Lisäystaso ~0,01 mg/kg</i>		
Klorprofaami	0,012	110	2	0,010	133	5
Sulfoteppi	0,013	89	3	0,010	91	11
Diatsinoni	0,011	96	4	0,015	126	5
Pirimikarbi	0,012	59	6	0,010	121	3
Klorpyrifossi- metyyli	0,012	104	2	0,010	135	5
	<i>Lisäystaso ~0,15 mg/kg</i>			<i>Lisäystaso ~0,10 mg/kg</i>		
Klorprofaami	0,15	98	1	0,10	140	4
Sulfoteppi	0,17	81	3	0,10	68	14
Diatsinoni	0,14	91	2	0,15	103	5
Pirimikarbi	0,16	58	4	0,10	107	3
Klorpyrifossi- metyyli	0,15	97	2	0,10	109	2

Appelsiinimatriisissa eri yhdisteiden ja pitoisuustasojen rinnakkaismäärittysten keskimääräiset saantoprosentit ovat *splitless* -injektointitekniikalla välillä 58 - 110 %. Suhteelliset keskihajonnat ovat 1 %:n ja 6 %:n välillä.

PTV-injektointitekniikalla eri yhdisteiden ja pitoisuustasojen rinnakkaismäärittysten keskimääräiset saantoprosentit ovat välillä 68 - 140 %. Suhteelliset keskihajonnat ovat 2 %:n ja 14 %:n välillä.

PTV-injektointitekniikkaa käytettäessä yhdisteiden keskimääräiset saantoprosentit olivat huomattavasti suurempia kuin *splitless* -injektointitekniikkaa käytettäessä. Myös hajontaa oli enemmän.

9.2.3 Vehnäjauhomatriisi

Vehnäjauhomatriisissa testattujen yhdisteiden keskimääräiset saantoprosentit (S-%) ja suhteelliset keskihajonnat (CV_i) kahdella eri pitoisuustasolla ovat taulukossa 7.

Taulukko 7. Vehnäjauhomatriisin rinnakkaismäärittysten keskimääräiset saantoprosentit (S-%) ja suhteelliset keskihajonnat (CV_i) *splitless*- ja PTV-injektointitekniikoilla

VEHNÄJAUHO						
YHDISTE	Splitless			PTV (Solvent Vent)		
	Lisäys näytteessä (mg/kg)	S-%	CV_i (%)	Lisäys näytteessä (mg/kg)	S-%	CV_i (%)
	<i>Lisäystaso ~0,015 mg/kg</i>			<i>Lisäystaso ~0,01 mg/kg</i>		
Klorprofaami	0,012	73	6	0,010	120	6
Sulfoteppi	0,013	79	1	0,010	75	7
Diatsinoni	0,011	86	2	0,015	109	10
Pirimikarbi	0,012	85	2	0,010	109	3
Klorpyrifossi- metyyli	0,012	93	2	0,010	152	9
	<i>Lisäystaso ~0,15 mg/kg</i>			<i>Lisäystaso ~0,10 mg/kg</i>		
Klorprofaami	0,15	95	1	0,10	124	9
Sulfoteppi	0,17	89	2	0,10	78	7
Diatsinoni	0,14	94	2	0,15	97	5
Pirimikarbi	0,16	94	2	0,10	106	2
Klorpyrifossi- metyyli	0,15	99	1	0,10	105	23

Vehnäjauhomatriisissa eri yhdisteiden ja pitoisuustasojen rinnakkaismäärittysten keskimääräiset saantoprosentit ovat *splitless* -injektointitekniikalla välillä 73 - 99 %. Suhteelliset keskihajonnat ovat 1 %:n ja 6 %:n välillä.

PTV-injektointitekniikalla eri yhdisteiden ja pitoisuustasojen rinnakkaismäärittysten keskimääräiset saantoprosentit ovat välillä 75 - 124 %. Suhteelliset keskihajonnat ovat 2 %:n ja 23 %:n välillä.

PTV-injektointitekniikkaa käytettäessä yhdisteiden keskimääräiset saantoprosentit olivat suurempia kuin *splitless* -injektointitekniikkaa käytettäessä. PTV-injektointitekniikan käyttö lisäsi huomattavasti myös hajontaa tuloksissa.

10 TULOSTEN POHDINTA

Tutkituista yhdisteistä viittä oli aikaisemmin testattu Tullilaboratorion kaasukromatografia-massaspektrometriseen QuEChERS-menetelmään. Testaus suoritettiin *splitless* -injektointitekniikalla. Silloin nämä viisi yhdistettä, klorprofaami, sulfoteppi, diatsinoni, pirimikarbi ja klorpyrifossimetyyli, läpäisivät validointivaatimukset ja ne voitiin akkreditoida. PTV-injektointitekniikkaa käytettäessä kyseiset yhdisteet eivät täyttäneet tässä tutkimuksessa validointivaatimuksia täysin. Ainoastaan diatsinonin, pirimikarbin ja sulfotepin kohdalla akkreditointi olisi harkinnanvarainen. Tästä voidaan siis todeta PTV-injektointitekniikan lisänneen hajontaa ja mittausepävarmuutta tuloksissa.

Kuten kuvaajista (liite 2) nähdään, etenkin vehnä jauho osoittautui hankalaksi matriisiksi useiden yhdisteiden kohdalla. Jääsalaattimatriisi oli hankala joidenkin yhdisteiden, kuten trifluraliinin, sulfotepin ja kvintotseenin kohdalla. Koska PTV-injektorin pieni injektio lasi (*liner*) kestää rajallisesti matriisien liikaavaa vaikutusta, voi suuri hajonta ja mittausepävarmuus johtua runsaasti lehtivihreää sisältävän jääsalaattimatriisin kohdalla likaantuneesta injektio lasista. Likainen injektio lasi saattaa pidättää joitakin komponentteja, jotka liikkeelle lähtiessään ja osuessaan jonkin ionin mittausalueelle nostavat sen saantoprosenttia. Toisaalta kyse voi olla myös matriisiefektistä. Injektio lasin likaantumisen tai matriisiefektistä on varmasti kyse myös vehnä jauhomatriisissa. Yhdisteiden tuloksiin mahdollisesti vaikuttavaa matriisiefektiä ei huomioitu tässä työssä, sillä standardeita ei valmistettu matriisiin.

Koska likaisen injektio lasin tuloksia huonontavat vaikutukset tiedettiin, vaihdettiin laitteeseen injektio lasi aina matriisin vaihtuessa. Jokainen matriisi ajettiin niin, että ensin ajettiin pienempi lisäystaso ja sen jälkeen suurempi li-

säystasyso. Saman matriisin eri lisäystasysojen välillä ei vaihdettu injektio lasia, mikä näkyi tuloksista etenkin jääsalaattimatriisilla. Suurempien lisäystasysojen saantojen suhteelliset keskihajonnat olivat suurempia kuin pienemmällä lisäystasysolla, koska injektio lasi oli ehtinyt jo likaantua pienemmän lisäystasyson näytteistä ja kalibrointiliuoksista. Jääsalaattimatriisissa kvintotseenin pienemmän lisäystasyson suhteellinen keskihajonta on 12,0 % ja suuremman 37,4 %. Pirimikarbilla vastaavat luvut ovat 3,3 % ja 24,8 %. Tulokset viittaavat injektio lasin likaantumisen vaikutukseen hajontaan. Appelsiini- ja vehnä-jauhomatriiseilla, jotka eivät sisältäneet lehtivihreää, mutta kuitenkin injektoria ja kolonnia likaavia rasvoja ja vahoja, ei näkynyt samanlaista yhteyttä hajonnan ja ajomäärien ja siten injektio lasin likaantumisen välillä. Esimerkiksi appelsiinimatriisissa kvintotseenin pienemmän lisäystasyson suhteellinen keskihajonta on 3,9 % ja suuremman 3,2 %. Pirimikarbilla vastaavat luvut ovat 3,2 % ja 4,4 %. PTV-injektorien valmistajan, GERSTELIN, mukaan kontrolloitu hitaampi injektio nopeus voisi parantaa toistettavuutta, mutta Tullilaboratoriossa ei ollut siihen tarvittavaa laitteistoa. [4, s. 21.]

Monen yhdisteen kohdalla hajontaa ja mittausepävarmuutta suuremmaksi ongelmaksi näytti kuitenkin muodostuvan liian pienet tai suuret saannot lisäystasysosta tai matriisista riippumatta. Tulosten perusteella PTV-injektointitekniikka näytti nostavan yhdisteiden saantoja appelsiini- ja vehnä-jauhomatriisin kohdalla, kun tuloksia verrattiin *splitless* -injektointitekniikalla saatuihin tuloksiin (taulukot 5 - 7). Jääsalaattimatriisissa osalla yhdisteistä saannot olivat pienempiä kuin muissa matriiseissa. Näyte-ekstrakti analysoitiin kuitenkin yhtä nopeasti kuin muutkin matriisit, eli vuorokauden sisällä näytteen uuttamisesta, joten kyse ei voi olla pidemmän säilytyksen aiheuttamasta yhdisteiden hajoamisesta. Itse näytematriisilla on voinut olla osuutta pienempiin saantoihin. Yhdisteet ovat voineet sitoutua esimerkiksi lehtivihreään.

Näytteiden ajon ja tulosten tulkinnan yhteydessä huomattiin, että injektio lasin ollessa erittäin likainen, sisäisen standardin, trifenyylifosfaatin, piikin vaste (*response*) pieneni joissakin näytteissä aiheuttaen saantojen suurenemisen muutamissa yhdisteissä.

Kvantitointi-ionien vaihtaminen voisi auttaa joidenkin yhdisteiden kohdalla, sillä menetelmää ei ole täysin vielä optimoitu. Kvantitointi-ionien vaihtamista kokeiltiin parationi-metyyliin ja dikloraanin kohdalla hyvin tuloksin. Parationi-

metyylin kvantitointi-ionin, 263, vaihtaminen ioniin 200 paransi saantoja kaikissa matriiseissa. Dikloraanin kvantitointi-ionin, 206, vaihtamista ioniin 124 kokeiltiin vain vehnäjauhomatriisissa, minkä jälkeen piikkien integrointi helpottui huomattavasti ja tulokset olivat parempia. Kvantitointi-ionien vaihtamista voisi harkita sellaisten yhdisteiden kohdalla, jotka eivät täyttäneet validointivaatimuksia tämän testauksen perusteella.

Periaatteessa kvantitointi-ioniksi tulisi valita mahdollisimman suuri ioni, mielellään suurempi kuin ioni 200. Yhdisteellä, jonka kvantitointi-ioni on pienempi kuin 200, voi muodostua ongelmaksi päällekkäisyys jonkin toisen yhdisteen kanssa, sillä pienemmät ionit ovat yleisiä monilla eri yhdisteillä. Päällekkäisyydet kasvattavat saantoja, sillä taustalla oleva samassa aikaikkunassa oleva yhdiste aiheuttaa piikin vasteen kasvua.

Ajosarjan alussa ajettiin jokaisesta matriisista nollanäyte, johon ei ollut tehty mitään lisäyksiä. Jokaisessa matriisissa oli nähtävissä nollanäytteessä pieni piikki o-fenyyliifenolin kohdalla, mikä varmasti nostaa yhdisteen saantoa lisäysnäytteissä. Etenkin appelsiinimatriisin kohdalla suuret o-fenyyliifenolin saannot voivat johtua matriisin sisältämästä o-fenyyliifenolista. Taustan vähennystä näyteajoista ei kuitenkaan käytetty tässä työssä.

Niiden yhdisteiden kohdalla, jotka eivät täysin täyttäneet validointivaatimuksia, voisi harkita määritysrajan nostamista 0,01 mg/kg:sta. Tuloksista (taulukko 4) voidaan nähdä, että ainakin diatsinonin, propytsamidin, pirimikarbin, klortaali-dimetyylin, pirimifossin, tetrakonatsolin, syprodiiniin ja bifentriinin kohdalla ongelmat ovat juuri pienemmän lisäystason saantoprosenteissa.

Tulosten perusteella voidaan sanoa, että fosmettia ei pystytä määrittämään kaasukromatografia-massaspektrometrisesti. Fosmetin piikit eivät erottuneet pohjasta millään matriisilla tai pitoisuustasolla. Haastavia yhdisteitä ovat myös pyretriinit, sypermetriinit ja fluvalinaatit, joiden piikkien integroiminen on erittäin hankalaa.

Validoinnin ohella tuli myös testattua, vaikuttiko suolaseoksen valmistaminen rotaatiojakajalla tulosten hajontaan. Periaatteessa rotaatiojakajan pitäisi jakaa suolat tasamääräisesti kuppeihin, joista lisäys tehdään näytteeseen. On kuitenkin mahdollista, että rotaatiojakajalla ei saada aivan niin tarkkoja määriä kuin käsin punnittaessa. Koska suolaseos edesauttaa näytteen analyysin siirtymistä orgaaniseen asetonitriilifaasiin, on tärkeää, että natriumklori-

dia, magnesiumsulfaattia ja sitraatteja lisätään aina saman verran ja oikea määrä kaikkiin näytteisiin. Tässä työssä salaattimatriisin molempien lisäysojen näytesarjat valmistettiin kahteen kertaan. Ensimmäisellä kerralla suolaseoksen valmistamiseen käytettiin rotaatiojakajaa ja toisella kerralla suolaseos punnittiin käsin, kuten appelsiini- ja vehnäjäuhomatriiseissa. Salaattimatriisin tuloksissa ei havaittu rinnakkaismääritysten suhteellisen keskijonnan kasvua, kun käytettiin rotaatiojakajaa. Validoinnin tuloksia tarkastellessa on kuitenkin käytetty sellaisen salaattimatriisin näytesarjoja, joissa on käytetty käsin punnittua suolaseosta.

11 YHTEENVETO

Opinnäytetyön tarkoitus oli testata Tullilaboratorion QuEChERS-monijäämämenetelmää 41 yhdisteelle kolmella eri näytematriisilla ja kahdella lisäysoilla. Lisäksi haluttiin selvittää PTV-injektointitekniikan vaikutusta menetelmän suorituskykyyn. Validointivaatimukset täyttyivät täysin yhdeksän yhdisteen kohdalla. 11 yhdisteessä oli yksittäisiä arvoja, jotka eivät täyttäneet validointivaatimuksia. Näiden 11 yhdisteen kohdalla akkreditointi jää harkinnanvaraiseksi. Loppujen 21 yhdisteen kohdalla menetelmää täytyy vielä optimoida.

PTV-injektointitekniikan todettiin lisäävän suhteellista keskijajontaa sekä mittausepävarmuutta. Toistettavuus oli huonompi PTV-injektointitekniikassa kuin *splitless* -injektointitekniikassa. Näytteen käsittelyssä ja analyyttien uuttoprosessissa ei uskottu olevan vikaa, sillä *splitless* -injektointitekniikalla saatiin validointivaatimukset täyttäviä tuloksia samoista yhdisteistä, jotka eivät täyttäneet vaatimuksia PTV-injektointitekniikalla.

Validoinnin yhteydessä huomattiin likaantuneen injektioilasin pienentävän sisäisen standardin, trifenyylifosfaatin, vastetta. Mikäli Tullilaboratoriossa huomataan sisäisen standardin vasteen pienenevän myös päivittäisessä näytteiden analytiikassa, kun laitteella ajetaan pitkiä näytesarjoja, kannattaa sisäisen standardin vaihtamista johonkin muuhun harkita.

Tulosten perusteella voidaan todeta, että tässä tapauksessa injektorin oli kaasukromatografialaitteiston yksi kriittisimmistä osista, joka vaikutti tulosten oikeellisuuteen ja tarkkuuteen, resoluutioon ja saantoihin. Koska injektioilasi

kestää rajallisesti matriisien likaavaa vaikutusta, voi näytteiden lisäpuhdistus olla tarpeen varsinkin suurilla injektioilavuuksilla ja esimerkiksi runsaasti lehtivihreää, rasvoja ja öljyjä sisältävillä matriiseilla. Toisaalta myös injektio lasin puhdistamista ajosarjan aikana voisi kokeilla. Likaa voisi yrittää polttaa pois injektio lasin pinnasta kuumentamalla injektorin esimerkiksi 400 °C:seen vaikaka 2 - 5 minuutin ajaksi. Kun myös injektorin ulosvirtausta nostettaisiin, saattaisi "paahtunut" lika poistua injektio lasin pinnasta virtauksen mukana. Puhdistus voitaisiin tehdä esimerkiksi joka kymmenennen näytteen jälkeen tai tarpeen mukaan useammin. Tämä puhdistustekniikka lisäisi kuitenkin injektorin jäähdytyksessä käytettävän hiilidioksidin kulutusta.

VIITELUETTELO

- [1] Agilent Technologies. *Programmed Temperature Vaporization Inlet (PTV)*. Agilent 6890 Gas Chromatograph Service Manual, Inlets. June 2001.
- [2] Elintarvikevirasto. *Torjunta-ainejäämät*. 3/2005. Kirjapaino: F.G. Lönnberg.
- [3] European Standard. *Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS(/MS) following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE – QuEChERS-method*. DRAFT prEN 15662. European Committee for Standardization. April 2007.
- [4] GERSTEL. *Sample Introduction Techniques for Capillary Gas Chromatography*. Version 3.0 11/98. Saatavana [www-dokumenttina: http://www.gerstelus.com/applications_category.php?id=7](http://www.dokumenttina.com). Luettu 2.9.2009.
- [5] Kangas Juhani, Liesivuori J., Mäkinen M., ym. *Kemikaalit ja työ*. Työterveyslaitos 2005. Saatavana [www-dokumenttina: www.ttl.fi/NR/rdonlyres/OAE6301D-A1BB-44C7-93C7-21699C2B2240/0/5_3_Torjuntaaineet.pdf](http://www.dokumenttina.com). Luettu 26.8.2008.
- [6] Laki kasvinsuojeluaineista 1259/2006. Saatavana: <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2006/20061259>. Luettu 7.10.2008
- [7] *Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed*. Document N° SANCO/3131/2007. 31.10.2007. Saatavana [www-dokumenttina: http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol_en.pdf). Luettu 5.8.2008.
- [8] Siivinen, Kalevi. *Opinnäytetyön tutkimussuunnitelma*. Moniste. 29.5.2008. Tullilaboratorio.
- [9] Siivinen, Kalevi. *Torjunta-aineiden analytiikka*. Luentomonisteet. Helsingin ammattikorkeakoulu Stadia. 14.2.2008.

- [10] Siivinen, Kalevi. *Torjunta-aineiden analytiikka*. Moniste. Tullilaboratorio. 14.2.2008.
- [11] Tomlin, Clive. *The Pesticide Manual*. Incorporating The Agrochemicals Handbook. 10th edition. 1994. Crop Protection Publications. United Kingdom.
- [12] Torjunta-aineet 2007. Eviran julkaisuja 4/2007. Saatavana [www-dokumenttina: http://www.palvelu.fi/evi/files/55_519_480.pdf](http://www.palvelu.fi/evi/files/55_519_480.pdf). Luettu 5.8.2008.
- [13] Tullilaboratorio. *Kasvinsuojeluaineiden kaasukromatografinen määrittäminen hedelmistä, marjoista, vihanneksista ja viljoista*. Menetelmäkokoelma. TLAB-PE058. 28.8.2007.
- [14] Tullilaboratorio. *Menetelmien validointi*. Menettelytapaohje. MTO-LA_tutkimus_703. Versio: 15.8.2007.
- [15] Tullilaboratorio. *Menetelmien TLAB-PE058 ja TLAB-PE046 mukautuva pätevyysalue*. Menettelytapaohje. MTOPE_tutkimus_705. Versio: 25.9.2007.
- [16] Tullilaboratorio. *Torjunta-aineiden kaasukromatografinen määrittäminen hedelmistä, marjoista, vihanneksista ja viljoista*. Menetelmäkokoelma. TLAB-PE001. 28.8.2007
- [17] SRI Instruments. *GC Injectors: PTV- Programmed Temperature Vaporization Injector*. Saatavana [www-dokumenttina: http://www.srigc.com/PTV.pdf](http://www.srigc.com/PTV.pdf). Luettu 16.9.2008.
- [18] Vuorimaa Paula - Kontro M. - Rapala J. ym. *Torjunta-aineiden esiintyminen pohjavedessä. Loppuraportti*. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 42/2007. Saatavana [www-dokumenttina: http://www.ymparisto.fi/download.asp?contentid=83814](http://www.ymparisto.fi/download.asp?contentid=83814). Luettu 26.8.2008.

YHDISTEKOHTAISET SAANTOPROSENTIT MATRIISEITTAIN

Taulukoissa poikkeavat arvot osoitettu.

Jääsalaattimatriisi, lisäystaso 0,01 ppm

YHDISTE	RINNAKKAISMÄÄRITYKSET						SUUREET	
	1	2	3	4	5	6	ka. S-%	CV _i (%)
Etridiatsoli	72	78	80	64	52	63	68	15,0
O-fenyylifenoli	93	90	94	96	88	113	96	9,4
Trifluraliini	113	118	118	101	93	100	107	9,9
Sulfoteppi	77	80	81	68	54	63	70	15,1
Klorprofaami	88	97	107	84	106	105	98	10,0
Metributsiini	81	90	92	96	98	102	93	7,9
Pentakloorianisoli	97	93	101	97	77	90	93	9,2
Dikloraani	-	-	-	-	-	-	-	-
Diatsinoni	79	89	91	90	76	97	87	9,1
Kvintotseeni	105	101	118	91	83	101	99	12,0
Propytsamidi	91	83	89	98	90	105	93	8,3
Pirimikarbi	89	88	95	93	90	95	92	3,3
Pentakloorianiliini	103	87	103	101	93	107	99	7,6
Klorpyrifossi-metyyli	101	95	101	94	88	93	95	5,3
Parationi-metyyli	81	100	104	105	98	107	99	9,6
Fenitrotioni	114	109	113	113	113	100	110	4,9
Klorpyrifossi	93	89	92	91	91	93	91	1,6
Klortaali-dimetyyli	88	90	94	91	93	94	92	2,6
Pirimifossi	88	95	99	99	93	106	97	6,5
Parationi	94	101	103	98	101	112	102	6,0
Tetrakonatsoli	105	106	104	107	110	124	110	6,8
Pendimetaniili	103	104	108	100	101	106	104	3,0
Syprodiiniili	117	133	135	140	142	146	136	7,5
Tolyylifluanidi	69	39	67	57	70	51	59	20,9
Fentoaatti	93	99	102	105	98	103	100	4,1
Kinalfossi	99	104	110	87	102	108	102	8,1
Metidationi	135	137	123	116	118	98	121	11,8
Kinometionaatti	47	43	31	56	40	40	43	19,4
Profenofossi	149	154	149	132	139	139	144	5,7
Pyretriinit	-	343	314	525	407	583	434	26,7
Oksadiksyyli	89	62	78	-	89	81	80	14,2
Triatsofossi	112	104	99	95	96	99	101	6,3
Bifentriini	108	106	112	109	112	116	111	3,3
Fenpropatriini	106	99	96	98	98	104	100	3,8
Fosmetti	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosaloni	92	110	104	113	96	107	104	7,7
Akrinatriini	73	79	86	92	73	68	79	11,3
Bitertanoli	119	123	127	126	128	134	126	3,7
Sypermetriinit	-	466	528	-	446	441	470	8,5
Fluvalinaatti	107	115	107	72	71	61	89	26,2
Propoksuuri	83	92	107	107	104	110	101	10,9

Dikloraania ja fosmettia ei voitu määrittää jääsalaattimatriisista 0,01 ppm-lisäystasolla.

Jääsalaattimatriisi, lisäystaso 0,10 ppm

YHDISTE	RINNAKKAISMÄÄRITYKSET						ka. S-%	CV _i (%)
	1	2	3	4	5	6		
Etridiatsoli	56	127	62	71	80	95	82	27,3
O-fenyylifenoli	64	95	77	74	89	94	82	35,7
Trifluraliini	74	157	80	95	112	130	108	51,0
Sulfoteppi	47	109	47	54	52	60	61	44,1
Klorprofaami	86	83	93	89	97	119	95	37,2
Metributsiini	58	77	89	82	103	106	86	37,6
Pentakloorianisoli	64	121	69	76	90	99	86	36,2
Dikloraani	98	98	102	100	126	142	111	34,7
Diatsinoni	70	87	74	73	79	89	79	24,7
Kvintotseeni	67	135	73	83	100	105	94	37,4
Propytsamidi	75	77	82	78	95	102	85	39,4
Pirimikarbi	76	77	78	80	91	101	84	24,8
Pentakloorianiliini	79	95	83	82	94	103	89	35,4
Klorpyrifossi-metyyli	82	84	92	78	79	86	84	15,9
Parationi-metyyli	80	78	95	82	94	108	90	25,8
Fenitrotioni	115	108	147	105	123	134	122	23,1
Klorpyrifossi	75	80	82	76	83	86	80	7,1
Klortaali-dimetyyli	72	76	75	74	84	93	79	29,8
Pirimifossi	79	85	88	79	99	105	89	27,5
Parationi	105	99	121	107	119	127	113	15,5
Tetrakonatsoli	84	86	90	88	110	113	95	33,2
Pendimetaniili	99	104	109	108	123	132	113	29,3
Syprodiini	90	85	93	91	109	122	98	33,4
Tolyylifluanidi	63	21	75	61	66	75	60	50,4
Fentoaatti	99	94	132	90	100	113	105	30,9
Kinalfossi	93	90	102	93	100	106	97	11,7
Metidationi	138	110	198	112	142	160	143	46,9
Kinometionaatti	26	29	29	20	31	30	27	46,8
Profenofossi	195	177	244	150	192	193	192	35,5
Pyretriinit	134	200	189	132	158	181	166	32,0
Oksadiksyyli	103	84	101	94	123	121	104	20,1
Triatsofossi	124	121	160	106	128	159	133	28,0
Bifentriini	90	94	91	91	113	119	100	33,0
Fenpropatriini	95	90	95	85	104	107	96	12,2
Fosmetti	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosaloni	136	163	167	106	138	153	144	42,4
Akrinatriini	96	123	118	51	101	110	100	51,9
Bitertanoli	116	117	121	115	146	153	128	32,0
Sypermetriinit	138	128	113	99	121	139	123	16,5
Fluvalinaatti	82	114	69	58	128	124	96	44,1
Propoksuuri	67	75	72	67	83	88	75	47,4

Fosmettia ei voitu määrittää jääsalaattimatriisista 0,1 ppm-lisäystasolla.

Appelsiinimatriisi, lisäystaso 0,01 ppm

YHDISTE	RINNAKKAISMÄÄRITYKSET						ka. S-%	CV _i (%)
	1	2	3	4	5	6		
Etridiatsoli	74	76	79	80	74	74	76	3,6
O-fenyylifenoli	199	199	199	205	201	184	198	3,6
Trifluraliini	113	118	117	116	119	103	115	5,2
Sulfoteppi	99	98	102	85	88	76	91	11,0
Klorprofaami	139	130	133	125	143	129	133	5,0
Metributsiini	71	57	76	71	77	94	74	16,1
Pentakloorianisoli	114	113	114	109	113	104	111	3,6
Dikloraani	-	-	-	-	-	-	-	-
Diatsinoni	125	133	130	121	127	118	126	4,5
Kvintotseeni	110	102	99	102	102	99	102	3,9
Propytsamidi	121	122	123	117	125	123	122	2,2
Pirimikarbi	122	123	121	121	126	114	121	3,2
Pentakloorianiliini	117	120	118	111	120	110	116	3,8
Klorpyrifossi-metyyli	140	140	133	137	137	124	135	4,7
Parationi-metyyli	79	82	75	77	85	89	81	6,4
Fenitrotioni	138	141	131	150	142	130	139	5,5
Klorpyrifossi	125	125	118	125	119	116	121	3,3
Klortaali-dimetyyli	127	125	125	125	122	120	124	2,1
Pirimifossi	134	135	137	136	137	131	135	1,7
Parationi	130	137	137	140	145	128	136	4,6
Tetrakonatsoli	135	135	135	134	141	136	136	1,8
Pendimetaniili	132	140	141	152	148	134	141	5,6
Syprodiini	141	135	135	138	138	127	135	3,5
Tolyylifluanidi	72	65	62	69	63	67	66	5,7
Fentoaatti	123	128	120	125	121	111	121	4,9
Kinalfossi	124	114	111	114	119	111	116	4,3
Metidationi	164	141	155	145	180	137	154	10,6
Kinometionaatti	17	14	15	22	15	14	16	18,9
Profenofossi	172	166	164	168	177	152	166	5,1
Pyretriinit	1367	1165	1045	1209	991	978	1126	13,4
Oksadiksyyli	87	75	76	74	94	75	80	10,1
Triatsofossi	169	175	181	177	158	184	174	5,3
Bifentriini	134	131	132	132	133	128	132	1,6
Fenpropatriini	122	109	114	110	111	102	111	5,8
Fosmetti	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosaloni	131	129	116	129	124	116	124	5,4
Akrinatriini	-	36	36	50	36	42	40	14,9
Bitertanoli	140	142	138	141	140	135	139	1,8
Sypermetriinit	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluvalinaatti	-	-	-	-	-	-	-	-
Propoksuuri	100	106	102	99	115	95	103	6,7

Dikloraania, fosmettia, sypermetriiniä ja fluvalinaattia ei voitu määrittää appelsiinimatriista 0,01 ppm-lisäystasolla.

Appelsiinimatriisi, lisäystaso 0,10 ppm

YHDISTE	RINNAKKAISMÄÄRITYKSET						ka. S-%	CV _i (%)
	1	2	3	4	5	6		
Etridiatsoli	74	82	80	83	89	81	82	5,9
O-fenyylifenoli	140	146	145	149	138	137	143	3,3
Trifluraliini	104	106	104	111	102	96	104	4,8
Sulfoteppi	76	72	68	77	60	53	68	14,1
Klorprofaami	138	141	140	149	138	133	140	3,6
Metributsiini	77	81	82	86	77	77	80	4,9
Pentakloorianisoli	92	96	92	95	96	92	94	2,1
Dikloraani	145	126	140	140	129	116	133	8,3
Diatsinoni	104	104	102	112	99	96	103	5,2
Kvintotseeni	100	105	103	106	105	97	103	3,2
Propytsamidi	106	111	104	113	112	108	109	3,4
Pirimikarbi	106	108	105	111	107	103	107	2,6
Pentakloorianiliini	111	114	110	115	111	109	112	2,1
Klorpyrifossi-metyyli	107	112	108	113	110	106	109	2,4
Parationi-metyyli	87	95	95	98	92	87	92	5,0
Fenitrotioni	131	139	137	143	139	134	137	3,1
Klorpyrifossi	98	103	101	105	101	98	101	2,6
Klortaali-dimetyyli	104	109	105	109	106	101	105	2,8
Pirimifossi	109	114	114	118	113	106	112	3,7
Parationi	140	148	149	152	147	137	146	3,9
Tetrakonatsoli	112	113	117	121	117	113	116	3,1
Pendimetaniili	119	125	124	128	123	118	123	3,1
Syprodiiniili	111	114	113	116	113	111	113	1,8
Tolyylifluanidi	61	74	72	71	81	77	73	9,3
Fentoaatti	95	101	102	104	106	104	102	4,0
Kinalfossi	112	111	110	117	114	113	113	2,3
Metidationi	130	139	139	141	145	147	140	4,3
Kinometionaatti	15	19	19	17	27	27	21	25,4
Profenofossi	153	159	162	164	163	162	160	2,6
Pyretriinit	174	154	198	200	164	163	176	11,0
Oksadiksyyli	100	100	101	102	102	104	101	1,7
Triatsofossi	155	155	166	159	153	151	156	3,5
Bifentriini	98	104	102	105	104	101	102	2,5
Fenpropatriini	94	100	97	102	100	97	98	3,0
Fosmetti	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosaloni	123	132	125	130	119	117	124	4,9
Akrinatriini	37	36	36	34	41	40	37	7,5
Bitertanoli	109	113	113	113	111	110	112	1,5
Sypermetriinit	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluvalinaatti	25	44	24	-	30	-	31	29,0
Propoksuuri	95	93	96	101	97	94	96	3,0

Fosmettia ja fluvalinaattia ei voitu määrittää appelsiinimatriista 0,1 ppm-lisäystasolla.

Vehnäjauhometriisi, lisäystaso 0,01 ppm

YHDISTE	RINNAKKAISMÄÄRITYKSET						ka. S-%	CV _i (%)
	1	2	3	4	5	6		
Etridiatsoli	66	56	56	62	60	66	61	7,5
O-fenyylifenoli	120	100	122	114	116	115	115	6,8
Trifluraliini	100	94	98	94	119	100	101	9,2
Sulfoteppi	108	102	95	88	93	89	96	7,8
Klorprofaami	99	97	103	104	87	105	99	6,7
Metributsiini	97	95	108	104	96	96	99	5,4
Pentakloorianisoli	104	99	97	96	100	102	100	3,0
Dikloraani	98	87	74	63	80	67	78	16,7
Diatsinoni	107	109	104	106	105	106	106	1,7
Kvintotseeni	117	102	110	109	111	113	110	4,5
Propytsamidi	95	99	102	103	105	109	102	4,7
Pirimikarbi	107	100	110	104	103	98	104	4,4
Pentakloorianiliini	110	105	111	109	104	112	109	3,0
Klorpyrifossi-metyyli	231	217	204	162	154	133	184	21,2
Parationi-metyyli	109	93	114	97	118	111	107	9,2
Fenitrotioni	154	138	119	103	107	91	119	20,0
Klorpyrifossi	113	110	115	96	96	94	104	9,5
Klortaali-dimetyyli	114	107	115	111	110	107	111	2,9
Pirimifossi	107	103	107	111	107	105	107	2,5
Parationi	94	96	106	106	107	104	102	5,5
Tetrakonatsoli	109	100	116	114	108	106	109	5,3
Pendimetaniili	95	94	99	104	104	101	100	4,4
Syprodiini	108	109	115	116	114	112	112	3,1
Tolyylifluanidi	47	32	36	35	21	14	31	37,5
Fentoaatti	159	161	119	86	98	91	119	28,2
Kinalfossi	103	101	99	102	104	89	99	5,4
Metidationi	254	262	159	123	119	105	170	41,2
Kinometionaatti	27	32	15	-	-	21	24	31,0
Profenofossi	179	176	125	123	121	124	141	19,6
Pyretriinit	448	494	794	391	516	501	524	26,7
Oksadiksyyli	118	95	110	98	110	95	104	9,3
Triatsofossi	135	137	87	102	119	116	116	16,5
Bifentriini	119	119	124	120	116	119	119	2,0
Fenpropatriini	117	120	120	109	111	113	115	4,0
Fosmetti	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosaloni	164	167	101	88	114	102	123	27,9
Akrinatriini	111	124	100	46	95	-	95	31,4
Bitertanoli	137	130	134	139	134	128	133	3,1
Sypermetriinit	94	110	92	83	110	110	100	11,8
Fluvalinaatti	59	64	58	59	71	72	64	9,8
Propoksuuri	96	87	103	102	98	107	99	7,2

Fosmettia ei voitu määrittää vehnäjauhometriistä 0,01 ppm-lisäystasolla.

Vehnäjauhomatriisi, lisäystaso 0,10 ppm

YHDISTE	RINNAKKAISMÄÄRITYKSET						ka. S-%	CV _i (%)
	1	2	3	4	5	6		
Etridiatsoli	56	53	55	53	56	81	59	18,1
O-fenyylifenoli	118	121	129	127	128	148	128	8,3
Trifluraliini	101	103	105	100	100	108	103	2,9
Sulfoteppi	85	83	78	76	72	74	78	6,7
Klorprofaami	119	118	124	129	112	143	124	8,7
Metributsiini	101	110	117	119	107	122	113	7,1
Pentakloorianisoli	93	88	91	87	84	102	91	6,7
Dikloraani	100	86	94	81	90	69	87	12,2
Diatsinoni	99	98	99	94	103	89	97	5,1
Kvintotseeni	102	100	99	95	93	108	100	5,3
Propytsamidi	94	103	99	106	100	104	101	4,3
Pirimikarbi	105	106	105	105	103	110	106	2,2
Pentakloorianiliini	112	110	115	110	106	127	113	6,4
Klorpyrifossi-metyyli	150	110	96	94	101	78	105	23,4
Parationi-metyyli	107	102	108	106	110	109	107	2,4
Fenitrotioni	179	109	107	105	139	78	119	29,4
Klorpyrifossi	108	106	96	98	96	96	100	5,3
Klortaali-dimetyyli	108	102	104	101	99	106	104	3,2
Pirimifossi	107	107	108	107	110	103	107	2,2
Parationi	120	123	124	127	134	113	124	5,5
Tetrakonatsoli	106	113	110	115	112	120	113	4,1
Pendimetaniili	119	125	129	129	128	136	128	4,4
Syprodiiniili	116	116	120	121	116	130	120	4,6
Tolyylifluanidi	80	15	20	21	25	18	30	83,6
Fentoaatti	151	77	81	80	121	56	95	36,8
Kinalfossi	101	96	97	97	106	85	97	7,3
Metidationi	280	119	127	124	180	87	153	45,3
Kinometionaatti	45	6	11	9	33	11	19	84,4
Profenofossi	214	129	135	129	188	88	147	31,0
Pyretriinit	152	130	134	129	147	112	134	10,6
Oksadiksyyli	100	102	99	103	99	92	99	4,0
Triatsofossi	143	94	105	102	151	68	111	28,3
Bifentriini	108	109	108	113	109	114	110	2,4
Fenpropatriini	105	97	99	101	108	90	100	6,3
Fosmetti	300	-	-	-	72	-	186	86,7
Fosaloni	201	79	91	88	162	52	112	50,8
Akrinatriini	133	30	34	28	61	20	51	83,5
Bitertanoli	127	126	127	132	135	127	129	2,8
Sypermetriinit	103	65	71	77	113	51	80	29,5
Fluvalinaatti	68	38	47	46	86	36	53	36,6
Propoksuuri	98	100	103	100	99	117	103	7,2

Fosmettia ei voitu määrittää vehnäjauhomatriista 0,1 ppm-lisäystasolla.

KOKONAISHAJONTA ELI VARIATIOKERROIN NELIÖLLISENÄ KESKIARVONA ERI LISÄYSTASOILLA SAADUISTA TOISTETTAVUUKSISTA SEKÄ MITTAUSEPÄVARMUUDET YHDISTEITTÄIN ESITETTYINÄ.

Fosmetin kuvaaja puuttuu, koska mittaustuloksia saatiin vain vehnä jauhomatriisista.

