

MULTIREZIDUALNA ANALIZNA METODA ZA DOLOČEVANJE OSTANKOV PESTICIDOV V SADJU IN ZELENJAVI

Helena BAŠA ČESNIK^{a)} in Ana GREGORČIČ^{b)}

^{a)} Kmetijski Inštitut Slovenije, Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana, Slovenija, mag.

^{b)} Isti naslov kot ^{a)}, dr.

Delo je prispelo 10. oktobra 2003, sprejeto 10. novembra 2003.

Received October 10, 2003, accepted November 10, 2003.

IZVLEČEK

Laboratoriji, ki kontrolirajo ostanke pesticidov v hrani, potrebujejo hitro in učinkovito multirezidualno metodo, ki omogoča enostavno določitev širokega spektra spojin. V ta namen smo razvili metodo, s katero lahko določimo 43 aktivnih spojin hkrati, kar pomeni skupno pripravo vzorca in analizo s plinskim kromatografom z masno selektivnim detektorjem. Primerna je za aktivne snovi od zelo polarnih (npr. metamidofos) do nepolarnih (npr. DDT). Metodo smo uporabili za preverjanje prisotnosti ostankov pesticidov v sadju in zelenjavi, v okviru nacionalnega monitoringa v Sloveniji v letih 2001 in 2002.

Ključne besede: živila / sadje / zelenjava / pesticidi / monitoring / multirezidualna metoda / plinska kromatografija / masna spektrometrija / Slovenija

MULTIRESIDUAL ANALYTICAL METHOD FOR DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FRUIT AND VEGETABLES

ABSTRACT

Laboratories which control pesticide residues in food need a fast and efficient multiresidual method that enables simple determination of a wide variety of substances. For this purpose we developed a method for simultaneous determination of 43 active substances. The method implies common preparation of a sample and its analysis using gas chromatograph coupled with mass selective detector. The method is suitable for active substances from very polar (e.g. metamidphos) to non-polar ones (e.g. DDT). It was used for determination of pesticide residues in fruit and vegetables as part of national monitoring programme in Slovenia in the years 2001 and 2002.

Key words: food / fruit / vegetables / pesticides / monitoring / multiresidual method / gas chromatography / mass spectrometry / Slovenia

UVOD

Kontaminacija hrane z ostanki pesticidov je postala tema, ki vzbuja skrb prebivalcev. Na Kmetijskem inštitutu Slovenije že od leta 1987 skrbimo za nadzor onesnaženosti kmetijskih pridelkov z ostanki pesticidov (Urek, G., Gregorčič, A., 2000). Na ta način sodelujemo pri ugotavljanju skladnosti s predpisanimi mejnimi vrednostmi (Maximum Residue Levels, MRL), identifikaciji kontaminiranih kmetijskih proizvodov, ugotavljanju izvora oziroma vzroka

kontaminacije, ugotavljanju skladnosti pridelave z dobro kmetijsko prakso, ter oceni zdravstvene ogroženosti potrošnikov.

Program nacionalnega monitoringa ostankov pesticidov v živilih in kmetijskih proizvodih od leta 1999 poteka na osnovi Uredbe o monitoringu pesticidov v živilih in kmetijskih proizvodih (Ur.l. RS št. 13/99). Usklajen je z izvajalci monitoringa v okviru Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (Kmetijski inštitut Slovenije) in Ministrstva za zdravje (Inštitut za varovanje zdravja RS in Zavod za zdravstveno varstvo Maribor). Dejavnost temelji na smernicah in ciljnih Zakona o fitofarmaceutskih sredstvih (Ur.l. RS št. 11/01) in Pravilnika o ostankih pesticidov v oziroma na živilih in kmetijski pridelkih (Ur.l.RS št. 73/03). Program nacionalnega monitoringa se načrtuje za dve leti vnaprej, pregleda in potrdi ga posebna Komisija za verifikacijo programa. Zaradi primerjave stanja obremenjenosti ljudi z ostanki fitofarmaceutskih sredstev v Sloveniji s stanjem tovrstne obremenjenosti ljudi v Evropski skupnosti prilagajamo naše delo usmeritvam, ki so podane v priporočilih EU (Commission recommendation concerning a coordinated Community monitoring programme for 2003 to ensure compliance with maximum levels of pesticide residues in and on cereals and certain other products of plant origin, 2002/663/EC).

Vzorčenje poteka naključno na osmih pridelovalnih območjih: Celje, Koper, Kranj, Nova Gorica, Novo Mesto, Murska Sobota, Maribor in Ljubljana. Letno odvzamemo 150 vzorcev kmetijskih pridelkov neposredno na polju ali v skladiščih, po poteku karence za uporabljena fitofarmaceutska sredstva.

Za potrebe monitoringa je pomembno, da imamo multirezidualno metodo, ki omogoča hitro in enostavno detekcijo ostankov pesticidov tudi za nizke vsebnosti ($0,01 \text{ mg kg}^{-1}$) in pokriva čim večje število pesticidov in matriksov (vrst sadja ali zelenjave).

Metode za določevanje ostankov pesticidov v sadju in zelenjavi opisujejo v glavnem dva načina ekstrakcije: z acetonom (Thier in Zeumer, 1987; Thier in Zeumer, 1992a in b, General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sport) ali etil acetatom (General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sport). Po začetni ekstrakciji uporabimo kolone z različnimi polnili, npr. C_{18} (Fillion J. in sod., 2000) ali gelsko permeacijsko kromatografijo (Thier in Zeumer, 1987; Thier in Zeumer, 1992a), ki deluje na osnovi molekulskih izmenjalnih sit. Delo s kolonami je sicer hitrejše, vendar je priprava kolon zamudna. Pri gelski permeacijski kromatografiji polnilo izmenjalne kolone zamenjamo približno enkrat letno. Določevanje ostankov pesticidov zajema metode na tekočinskem kromatografu, z UV ali fluorescenčnim detektorjem, ki so primerne za termično labilne spojine, ter metode na plinskem kromatografu, z NPD (Nitrogen Phosphor Detector), ECD (Electron Capture Detector) ali MS (Mass spectrometer) detektorji (Fillion J. in sod., 2000, General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sport, 1996, Thier in Zeumer, 1987).

Z namenom kontrole ostankov pesticidov v sadju in zelenjavi za potrebe monitoringa smo razvili učinkovito metodo za simultano določevanje 43 pesticidov. Po homogenizaciji smo vzorec ekstrahirali s tremi topili: aceton, petroleter in diklorometan, z namenom, da bi ekstrahirali širok spekter spojin od nepolarnih (npr. DDT) do zelo polarnih (npr. metamidofos). Ekstrakte smo čistili z gelsko permeacijsko kromatografijo. Sledila je analiza s plinskim kromatografom, sklopljenim z masno selektivnim detektorjem. Točnost metode smo preverjali s sodelovanjem v francoski medlaboratorijski primerjalni shemi BIPEA.

Metoda je primerna za rutinsko preverjanje prisotnosti ostankov pesticidov v velikem številu vzorcev. V letih 2001 in 2002 smo s to metodo analizirali 301 vzorcev: solate, krompirja, jabolk, hrušk, jagod, fižola s stroki, paradižnika, pšenice in ječmena.

MATERIALI IN METODE DE LA

Priprava standardov

Pri pripravi standardov smo uporabljali:

- analitske standarde, vsi so bili v trdni obliki (npr. proizvajalci: Riedel de Haën, Karsia, Bayer, Biotech, Zeneca,...) za spojine: acefat, aldrin, azinfos-metil, p,p-DDT, o,p-DDT, p,p-DDD, o,p-DDD, p,p-DDE, deltametrin, diazinon, dimetoat, endosulfan, endrin, fenitroton, fention, fludioksonil, folpet, fosalon, HCH- α , heptaklor, heptenofos, imazalil, iprodion, kaptan, karbofuran, klorpirifos, klorpirifos-metil, kvinalfos, lambda-cihalotrin, lindan (HCH- γ), malation, mekarbam, metalaksil, metamidofos, metidation, paration, permetrin, piridafention, pirimifos-metil, prosimidon, tiabendazol, triazofos in vinklozolin, ter
- topilo aceton, za GC, primerno za analizo sledov (npr. proizvajalca Merck, z oznako SupraSolv).

Preglednica 1. Priprava raztopin

Table 1. Preparation of solutions

| Osnovna koncentracija standarda, $\mu\text{g ml}^{-1}$ | Redčenje, ml ml ⁻¹ | Končna koncentracija standarda, g ml ⁻¹ |
|--|-------------------------------|--|
| 625 | 2/200 | 6,25 |
| 6,25 | 25/50 | 3,13 |
| 6,25 | 10/50 | 1,25 |
| 6,25 | 40/250 | 1,00 |
| 6,25 | 5/50 | 0,625 |
| 6,25 | 2,5/50 | 0,313 |
| 6,25 | 1/50 | 0,125 |
| 6,25 | 0,5 /50 | 0,0625 |

Najprej smo pripravili raztopine z osnovno koncentracijo 625 $\mu\text{g ml}^{-1}$ vsakega standarda posebej. Pri tem smo pri zatehti standarda upoštevati čistost standarda v trdni obliki. Za 98,7 % čist standard je zatehta 15,83 \pm 0,01 mg. Standarde smo tehtali z laboratorijsko tehtnico in jih s pomočjo acetona SupraSolv iz ladjice kvantitativno prenesli v 25 ml merilno bučko. Nato smo bučke dopolnili do oznake z acetonom SupraSolv in standarde raztopili s pomočjo ultrazvočne kopeli (približno 15 minut).

Preglednica 2. Aparature za procesiranje in čiščenje vzorca

Table 2. Apparatus for sample processing and clean-up

| APARATURA | PROIZVAJALEC |
|---------------------------------|--|
| mikser | Iskra |
| homogenizator | Ultra-turrax T 25, Janke and Kunkel, IKA-Labortechnik |
| rotavapor | R-114-V Büchi, opremljen z B-720 kontrolo vakuuma in B-480 vodno kopeljo |
| gelski permeacijski kromatograf | O.I. Analytical, autoprep TM 1000 |
| GPC kolona | O. I. Analytical, polnjen z bio-beads S-X3, dolžina 44 cm, premer 25 mm |

Preglednica 3a. GC-MS sistem
Table 3a. GC-MS system

| APARATURA | TIP APARATURE |
|---------------------------|--|
| plinski kromatograf | Hewlett Packard 6890 |
| avtomatski vzorčevalnik | Hewlett Packard 7683 |
| injektor | pulzirajoči, brez deljenja vzorca |
| liner | HP 5181-3316 |
| analitska kolona | HP 5 MS, 30 m x 0,25 mm notranji premer., 0,25 µm debelina filma |
| predkolona | 40 cm x 0,5 mm notranji premer, prazna, deaktivirana |
| masni selektivni detektor | Hewlett Packard 5973 |
| programska oprema | Hewlett Packard ChemStation, verzija B.02.05 |

Preglednica 3b. GC-MS sistem
Table 3b. GC-MS system

| POGOJI DELA NA GC-MS SISTEMU | |
|---------------------------------|--|
| nosilni plin | helij |
| pretok nosilnega plina | 1,2 ml min ⁻¹ |
| način snemanja | monitoring selektivnih ionov (selected ion monitoring mode), čas vzorčevanja na eni masi (dwell time) se je spreminjal od 30–90 µs (scan/cikel se je spreminjal od 4,65 to 1,01) |
| temperatura injektorja | 250 °C |
| temperatura ionskega izvora | 230 °C |
| temperatura vmesnika | 280 °C |
| temperatura detektorja | 150 °C |
| temperaturni program za analizo | 55 °C 2 min, 55 °C–130 °C 25 °C min ⁻¹ , 130 °C 1 min 130 °C–180 °C 5 °C min ⁻¹ , 180 °C 30 min 180 °C–230 °C 20 °C min ⁻¹ , 230 °C 16 min 230 °C–250 °C 20 °C min ⁻¹ , 250 °C 13 min 250 °C–280 °C 20 °C min ⁻¹ , 280 °C 20 min |

Nato smo 2 ml vsakega izmed 43 standardov s koncentracijo 625 µg ml⁻¹ (permetrin-cis in permetrin-trans, ter endosulfan-α in endosulfan-β sta v istem standardu v trdni obliki) s pipeto prenesli v 200 ml bučko, ki smo jo dopolnili do oznake z acetonom SupraSolv. Iz te raztopine smo pripravili mešanico standardov s koncentracijo 1,00 µg ml⁻¹ (0,16 mg kg⁻¹), ki smo jo dodali praznim vzorcem (vzorci sadja ali zelenjave, ki niso bil tretirani s pesticidi, oziroma vzorci v katerih s predhodno analizo nismo ugotovili prisotnosti pesticidov) za določevanje izkoristka in ekstraktom praznih vzorcev za pripravo standardov v ekstraktu matriksa.

Za preverjanje linearnosti sistema smo pripravili raztopino s koncentracijo 6,25 µg ml⁻¹ (1,00 mg kg⁻¹) tako, da smo 2 ml raztopine 625 µg ml⁻¹ prenesli v 200 ml bučko in dopolnili do oznake. Z razredčevanjem te raztopine v 50 ml bučkah smo pripravili raztopine: 3,13 µg ml⁻¹ (0,50 mg kg⁻¹), 1,25 µg ml⁻¹ (0,20 mg kg⁻¹), 0,625 µg ml⁻¹ (0,10 mg kg⁻¹), 0,313 µg ml⁻¹ (0,05 mg kg⁻¹), 0,125 µg ml⁻¹ (0,02 mg kg⁻¹) in 0,0625 µg ml⁻¹ (0,01 mg kg⁻¹) (pregl. 1).

Preglednica 4. Retenzijski časi in ioni za snemanje z načinom selektivnih ionov
Table 4. Retention times and ions for selective ion monitoring mode

| aktivna spojina | retenzijski čas, min | T, Q1, Q2, Q3 |
|--------------------------|----------------------|---------------------------|
| acefat | 9,85 | 136 , 94 |
| aldrin | 21,06 | 263 , 265 |
| azinfos-metil | 52,48 | 160 , 132 |
| DDD-o,p | 33,39 | 235 , 237 |
| DDD-p,p, DDT-o,p (vsota) | 39,75 | 235 , 237 |
| DDE-p,p | 32,24 | 318 , 246 |
| DDT-p,p | 47,29 | 235 , 237, 165 |
| deltametrin | 72,96 | 181 , 251 |
| diazinon | 16,76 | 179 , 304 |
| dimetoat | 15,26 | 87 , 229, 143 |
| endosulfan-a | 27,86 | 195 , 237 |
| endosulfan-b | 36,18 | 195 , 237, 269 |
| endrin | 34,18 | 263 , 261 |
| fenitrotion | 20,63 | 277 , 260 |
| fention | 22,03 | 278 , 279, 280 |
| fludioksonil | 33,68 | 248 , 154, 127 |
| folpet | 26,09 | 260 , 262 |
| fosalon | 52,67 | 182 , 367 |
| HCH-a | 14,68 | 219 , 181, 183 |
| heptaklor | 19,02 | 272 , 274 |
| heptenofos | 12,32 | 124 , 215, 250 |
| imazalil | 32,24 | 215 , 173, 217 |
| iprodition | 50,40 | 314 , 316, 187 |
| kaptan | 25,37 | 79 , 107, 119, 149 |
| karbofuran | 15,57 | 164 , 149, 131 |
| klorpirifos-etil | 22,17 | 314 , 316, 197 |
| klorpirifos-metil | 18,87 | 125 , 197 |
| kvinalfos | 26,20 | 146 , 298 |
| lambda-cihalotrin | 55,20 | 181 , 197, 208 |
| lindan | 15,92 | 219 , 183 |
| malation | 21,55 | 173 , 174, 211 |
| mekarbam | 26,40 | 131 , 159, 329 |
| metalaksil | 19,70 | 206 , 249 |
| metamidofos | 6,93 | 94 , 95, 141 |
| metidation | 27,48 | 145 , 85, 125 |
| paration | 22,26 | 291 , 292, 235 |
| permetrin-cis | 58,26 | 183 , 163, 165 |
| permetrin-trans | 59,09 | 183 , 163, 165 |
| piridafention | 50,36 | 340 , 199, 188 |
| pirimifos-metil | 20,87 | 290 , 305 |
| procimidon | 26,87 | 283 , 285 |
| tiabendazol | 25,70 | 201 , 174, 202 |
| triazofos | 45,65 | 161 , 162 |
| vinklozolin | 18,95 | 285 , 124 |

Bučke z raztopinami standardov osnovnih koncentracij $625 \mu\text{g ml}^{-1}$ smo shranjevali pri -20°C . Ostale raztopine smo shranjevali v hladilniku pri 5°C . Pred uporabo smo bučke vzeli iz hladilnice oziroma hladilnika in pustili, da se je njihova temperatura izenačila s sobno temperaturo.

Priprava vzorca (ekstrakcija in čiščenje)

Prejeti vzorec smo razrezali na štiri dele, vzeli dve nasprotni četrtini, ju zmiksali in premešali. Zmiksani vzorec smo takoj ekstrahirali ali pa ga shranili v plastičnih posodah pri -20°C in ga ekstrahirali kasneje. 20 g zmiksane vzorca smo ekstrahirali z mešanico treh topil: aceton, petroleter in diklorometan v razmerju 1:2:2 (čistoča topil je p.a.). Pri tem smo vzorec še homogenizirali z Ultra-turraxom. Dobljeni homogenat smo preko filter papirja (črni trak) in porcelanske frite, filtrirali v lij ločnik. Spodnjo vodno fazo smo zavrgli, zgornjo organsko pa filtrirali preko filter papirja (črni trak) v Soxhletovo bučko. Topila smo odparili na rotavaporju in jih z dušikom izpihali do suhega. Ekstrakt smo raztopili v mešanici cikloheksana in etilacetata v razmerju 1:1, prefiltrirali skozi filter z velikostjo por $0,20 \mu\text{m}$, ter očistili na GPC koloni. Eluat smo odparili na rotavaporju in ga izpihali z dušikom. Suhi preostanek smo raztopili v acetonu, primernem za analizo sledov, npr. Merckov SupraSolv (Makovi in McMahon, 1999; Thier in Zeumer, 1987; Thier in Zeumer, 1992a).

Določevanje

Vsebnost ostankov pesticidov smo določili s plinskim kromatografom (GC) sklopljenim z masno selektivnim detektorjem (MSD). Snemanje z masnim spektrometrom je potekalo z monitoringom selektivnih ionov (selective ion monitoring mode). To pomeni, da smo pri vsaki spojini spremljali 2–4 karakteristične ione (target ions – T in qualifiers – Q), podane v preglednici 4. Da smo se izognili vplivu matriksa, smo kalibracijo naredili s standardi v ekstraktu matriksa (matrix match standardi). Kvalitativno smo spektre ovrednotili s primerjavo retenzijskih časov in masnih spektrov standardov ter vzorcev. Kvantitativno ovrednotenje, to je integracijo, smo izvedli na ciljnim ionu (target ion) (Fillion J. in sod., 2000).

REZULTATI IN RAZPRAVA

Validacija metode

Za validacijo metode smo izbrali dva matriksa: krompir in solato, ker sta to matriksa, v katerih določujemo vsebnost ostankov pesticidov vsako leto. Sadje in zelenjava, v kateri določujemo ostanke pesticidov se deli v več skupin glede na vsebnost vode. Matriksi, ki jih analiziramo vsebujejo 95 % do 80 % vode. Solato smo izbrali za predstavnico skupine, ki vsebuje 95 % vode. Sem sodijo še kumare, paradižnik, radič, beluši, rabarbara, zelena. Krompir smo izbrali za predstavnika skupine, ki vsebuje 80 % vode. Sem sodijo še grah, ribez, peteršilj, grozdje.

Metoda je selektivna, ko na mestu v kromatogramu, kjer se pojavlja spojina, ni iz ozadja enakih odzivov kot so tisti, ki jih daje iskana spojina. Ozadje predstavlja odzivi motečih spojin v matriksu, ki jih ekstrahiramo istočasno z ostanki pesticidov. **Selektivnost metode** smo preverili z analizo desetih ekstraktov vzorcev krompirja in desetih ekstraktov vzorcev solate, ki niso bili tretirani s pesticidi. Ugotovili smo, da je metoda selektivna za določevanje vseh 43 pesticidov.

Da bi zagotovili reprezentativne rezultate, smo skušali ugotoviti koliko časa lahko ekstrahirane vzorce pred analizo pustimo v hladilniku in v avtomatskem vzorčevalniku.

Stabilnost vzorčnih raztopin smo preverjali z uporabo internega standarda heksaklorobenzena. Naredili smo tri paralelke standardov v ekstraktu matriksa krompirja s koncentracijo $0,16 \text{ mg kg}^{-1}$ za vse spojine, razen za: α -endosulfan: $0,107 \text{ mg kg}^{-1}$, β -endosulfan: $0,053 \text{ mg kg}^{-1}$, cis-permetrin: $0,059 \text{ mg kg}^{-1}$ in trans-permetrin: $0,101 \text{ mg kg}^{-1}$. Vsako paralelko smo injicirali dvakrat. Ugotovili smo, da so analiti stabilni pri $25 \text{ }^\circ\text{C}$ v avtomatskem vzorčevalniku najmanj 3,5 dni. V hladilniku, pri $5 \text{ }^\circ\text{C}$ pa najmanj 22 dni, le malation je stabilen 12 dni.

Kalibracijo instrumenta lahko izvajamo v eni točki, s standardnim dodatkom ali z umeritveno krivuljo. V slednjem primeru morajo biti odzivi instrumenta linearni v opazovanem koncentracijskem območju. **Linearnost** odziva smo preverili v sedmih točkah v koncentracijskem območju med $0,01$ in $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$ (med $0,0625$ in $6,25 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$): $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,20 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$ in $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$ na matriksu krompirja in solate. Izjeme so bili:

- α -endosulfan: $0,00667 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0133 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0333 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0667 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,133 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,333 \text{ mg kg}^{-1}$ in $0,667 \text{ mg kg}^{-1}$,
- β -endosulfan: $0,0033 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0067 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0167 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0333 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0667 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,167 \text{ mg kg}^{-1}$ in $0,333 \text{ mg kg}^{-1}$,
- cis-permetrin: $0,00366 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,00731 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0183 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0366 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0731 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,182 \text{ mg kg}^{-1}$ in $0,366 \text{ mg kg}^{-1}$,
- trans-permetrin: $0,00634 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0127 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0317 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,0634 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,127 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,317 \text{ mg kg}^{-1}$ in $0,634 \text{ mg kg}^{-1}$, ter
- vsota p,p-DDD in o,p-DDT: $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,20 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,40 \text{ mg kg}^{-1}$, $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$ in $2,00 \text{ mg kg}^{-1}$.

Za vsak koncentracijski nivo smo pripravili pet paralelk. Vsako paralelko smo injicirali enkrat. Enačbo premice in korelacijski koeficient smo izračunali po metodi najmanjših kvadratov. Ustreznost linearnega modela smo preverili z Analizo variance. Večina spojin ima linearne odzive v območju od $0,01$ do $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$. Rezultati so podani v preglednici 5.

Podajanje rezultatov omejujeta dve meji: meja detekcije (meja na kateri lahko določimo ali je spojina prisotna ali ne) in meja določanja (meja, kjer lahko zanesljivo določimo vsebnost spojine v vzorcu). Za **mejo detekcije** (limit of detection, LOD) smo izbrali najnižjo točko tiste umeritvene krivulje, s katero smo preverjali linearnost odzivov (maksimalno 7 koncentracijskih nivojev, s petimi ponovitvami na vsakem nivoju). Za **mejo določanja** (limit of quantification, LOQ) pa smo izbrali koncentracijo, pri kateri smo z izkoristki preverili kvantitativnost metode. Izkoristke smo za krompir in solato za večino spojin preverjali na štirih koncentracijskih nivojih: $0,02$, $0,05$, $0,20$ in $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$.

Izjema pri ocenah meje detekcije in meje kvantitativne določitve je azinfos-metil, ki ga zaznavamo že pri $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$, linearen odziv pa je v območju $0,10$ – $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$, endosulfan- β , ki ga zaznavamo že pri $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$, linearen odziv pa je v območju $0,033$ – $0,333 \text{ mg kg}^{-1}$, ter fenitroton, ki ga zaznavamo že pri $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$, linearen odziv pa je v območju $0,05$ – $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$. Izmed vseh preverjenih spojin nismo dobili linearnih odzivov pri folpetu in kaptanu. Korelacijski koeficient umeritvene krivulje je bil za oba $0,98$ (odziv je linearen, ko je korelacijski koeficient najmanj $0,99$). Odziva za ti dve spojini sta vidna pri $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$, kjer je tudi ocenjena meja detekcije. Kvantitativnih odzivov pa na preizkušanih koncentracijskih nivojih nismo dobili. Ocene za mejo detekcije in mejo določanja so podane v preglednici 5.

Kvantitativne metode so tiste, pri katerih lahko številčno določimo vsebnost spojine v vzorcu, kvalitativne pa tiste, pri katerih lahko določimo le ali je spojina v vzorcu prisotna ali ne (v našem primeru na podlagi retenzijskega časa in masnega spektra spojine). Metoda je kvantitativna (Alder L. in sod., 1999), če zadovoljuje naslednjim pogojem:

- $15 \text{ } \%$ RSD in 70 – $110 \text{ } \%$ izkoristek na koncentracijskem nivoju $0,1$ – 1 mg kg^{-1} , ter
- $20 \text{ } \%$ RSD in 70 – $120 \text{ } \%$ izkoristek na koncentracijskem nivoju $0,01$ – $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$.

Preglednica 5. Območje linearnosti, meja detekcije in meja določanja za krompir in solato
 Table 5. Range of linearity, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for potato and lettuce matrix

| | KROMPIR | | | SOLATA | | |
|--------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|
| | območje linearnosti, mg kg ⁻¹ | LOD, mg kg ⁻¹ | LOQ, mg kg ⁻¹ | območje linearnosti, mg kg ⁻¹ | LOD, mg kg ⁻¹ | LOQ, mg kg ⁻¹ |
| acefat | 0,05–0,2 | 0,05 | 0,05 | 0,05–1 | 0,05 | 0,20 |
| aldrin | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| azinfos-metil | 0,01–0,5 | 0,01 | 0,02 | 0,1–1 | 0,01 | 0,02 |
| cihalotrin-lambda | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| DDD-o,p | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| DDD-p,p in DDT-o,p | 0,02–2 | 0,02 | 0,04 | 0,02–2 | 0,02 | 0,04 |
| DDE-p,p | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| DDT-p,p | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 | 0,1–1 | 0,01 | 0,50 |
| deltametrin | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 |
| diazinon | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| dimetoat | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,02–1 | 0,02 | 0,02 |
| endosulfan-alfa | 0,013–0,667 | 0,013 | 0,13 | 0,007–0,667 | 0,007 | 0,03 |
| endosulfan-beta | 0,033–0,333 | 0,033 | 0,07 | 0,033–0,333 | 0,01 | 0,02 |
| endrin | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,05 |
| fenitrotion | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,05–1 | 0,01 | 0,02 |
| fention | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| fludioksonil | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| folpet | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 | ni linearen (R = 0,981) | 0,05 | / |
| fosalon | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| HCH-alfa | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| heptaklor | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| heptenofos | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 |
| imazalil | 0,02–1 | 0,02 | 0,05 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| iprodion | 0,01–1 | 0,01 | 0,05 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| kaptan | 0,02–1 | 0,02 | 0,20 | ni linearen (R = 0,984) | 0,05 | / |
| karbofuran | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| klorpirifos | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| klorpirifos-metil | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| kvinalfos | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| lindan | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 | 0,01–1 | 0,01 | 0,05 |
| malation | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 |
| mekarbam | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,05–1 | 0,05 | 0,20 |
| metalaksil | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| metamidofos | 0,05–1 | 0,05 | 0,20 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| metidation | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,05–1 | 0,05 | 0,20 |
| paration | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| permetrin-cis | 0,004–0,366 | 0,004 | 0,007 | 0,007–0,366 | 0,007 | 0,02 |
| permetrin-trans | 0,006–0,634 | 0,006 | 0,01 | 0,006–0,634 | 0,006 | 0,03 |
| piridafention | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| pirimifos-metil | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| procimidon | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |
| tiabendazol | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,05 |
| triazofos | 0,01–1 | 0,01 | 0,20 | 0,02–1 | 0,02 | 0,20 |
| vinklozolin | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 | 0,01–1 | 0,01 | 0,02 |

Preglednica 6. Točnost in natančnost metode za krompir (%)

Table 6. Accuracy and precision of the method for potato matrix (%)

| spojina | 0,02 mg kg ⁻¹ | | 0,05 mg kg ⁻¹ | | 0,2 mg kg ⁻¹ | | 0,5 mg kg ⁻¹ | |
|--------------------|--------------------------|------------|--------------------------|------------|-------------------------|------------|-------------------------|------------|
| | RSD | izkoristek | RSD | izkoristek | RSD | izkoristek | RSD | izkoristek |
| acefat | | | 5,4 | 118 | 13,9 | 97 | 5,6 | 96 |
| aldrin | 5,7 | 82 | 3,7 | 95 | 3,9 | 95 | 3,6 | 95 |
| azinfos-metil | 7,5 | 94 | 6,9 | 102 | 5,2 | 95 | 5,9 | 94 |
| cihalotrin-lambda | 7,8 | 87 | 6,3 | 99 | 4,3 | 95 | 4,0 | 94 |
| DDD-o,p | 6,6 | 87 | 4,9 | 102 | 4,3 | 95 | 4,3 | 94 |
| DDD-p,p in DDT-o,p | 6,8 | 86 | 6,7 | 100 | 4,1 | 96 | 4,3 | 94 |
| DDE-p,p | 5,8 | 88 | 4,7 | 99 | 4,2 | 95 | 3,7 | 94 |
| DDT-p,p | | | | | 4,1 | 97 | 6,6 | 95 |
| deltametrin | 13,6 | 103 | 7,2 | 93 | 7,7 | 95 | 5,5 | 94 |
| diazinon | 6,8 | 85 | 10,6 | 101 | 5,5 | 97 | 3,8 | 95 |
| dimetoat | 6,7 | 86 | 4,9 | 99 | 6,4 | 96 | 4,5 | 95 |
| endosulfan-beta | 8,6 | 85 | 14,8 | 95 | 5,2 | 97 | 3,9 | 94 |
| endosulfan-alfa | | | | | 4,0 | 96 | 4,4 | 93 |
| endrin | 5,5 | 88 | 4,5 | 98 | 4,4 | 96 | 4,2 | 94 |
| fenitrotion | 7,1 | 84 | 5,5 | 97 | 11,2 | 98 | 4,5 | 94 |
| fention | | | | | 4,2 | 85 | | |
| fludioksonil | 7,9 | 89 | 6,7 | 99 | 6,4 | 97 | 5,6 | 94 |
| folpet | | | | | 8,7 | 101 | 7,5 | 94 |
| fosalon | 13,2 | 91 | 6,5 | 99 | 4,5 | 95 | 4,6 | 94 |
| HCH-alfa | 5,6 | 84 | 4,7 | 99 | 4,4 | 96 | 3,8 | 95 |
| heptaklor | 6,1 | 83 | 5,2 | 96 | 5,2 | 97 | 4,1 | 95 |
| heptenofos | 7,2 | 87 | 4,7 | 97 | 5,1 | 96 | 4,0 | 95 |
| imazalil | 25,9 | 93 | 7,3 | 100 | 9,3 | 97 | 5,3 | 94 |
| iprodition | 7,6 | 89 | 6,2 | 99 | 4,7 | 95 | 4,7 | 95 |
| kaptan | | | | | 4,9 | 97 | 6,7 | 96 |
| karbofuran | 6,5 | 88 | 4,2 | 99 | 6,2 | 97 | 4,4 | 95 |
| klorpirifos | 6,9 | 88 | 4,6 | 99 | 4,9 | 96 | 3,5 | 96 |
| klorpirifos-metil | 5,9 | 86 | 4,0 | 98 | 5,2 | 96 | 3,8 | 95 |
| kvinalfos | 6,6 | 88 | 5,7 | 100 | 4,0 | 96 | 3,9 | 95 |
| lindan | | | | | 4,6 | 94 | 3,5 | 95 |
| malation | 16,9 | 117 | 3,6 | 98 | 4,6 | 95 | 4,0 | 95 |
| mekarbam | 6,8 | 87 | 6,1 | 101 | 4,7 | 97 | 3,8 | 94 |
| metalaksil | 5,8 | 85 | 3,9 | 90 | 4,7 | 96 | 3,7 | 95 |
| metamidofos | | | 5,1 | 89 | 9,1 | 96 | 5,0 | 94 |
| metidation | 6,0 | 90 | 5,3 | 101 | 5,0 | 97 | 4,5 | 93 |
| paration | 6,1 | 86 | 5,7 | 100 | 9,0 | 98 | 4,2 | 95 |
| permetrin-cis | 7,2 | 91 | 5,9 | 99 | 4,8 | 95 | 4,4 | 94 |
| permetrin-trans | 7,9 | 88 | 6,3 | 99 | 4,5 | 95 | 4,5 | 94 |
| piridafention | 6,7 | 91 | 5,3 | 102 | 4,8 | 91 | 3,7 | 96 |
| pirimifos-metil | 5,9 | 86 | 4,0 | 98 | 4,8 | 96 | 3,4 | 95 |
| procimidon | 6,0 | 86 | 4,8 | 98 | 4,2 | 96 | 3,9 | 95 |
| tiabendazol | 11,2 | 86 | 8,1 | 98 | 7,6 | 96 | 6,4 | 94 |
| triazofos | 13,2 | 88 | | | 4,9 | 98 | 4,4 | 95 |
| vinklozolin | 9,8 | 84 | 4,1 | 98 | 4,2 | 95 | 3,7 | 95 |

Preglednica 7. Točnost in natančnost metode za solato (%)
 Table 7. Accuracy and precision of the method for lettuce matrix (%)

| spojina | 0,02 mg kg ⁻¹ | | 0,05 mg kg ⁻¹ | | 0,2 mg kg ⁻¹ | | 0,5 mg kg ⁻¹ | |
|--------------------|--------------------------|------------|--------------------------|------------|-------------------------|------------|-------------------------|------------|
| | RSD | izkoristek | RSD | izkoristek | RSD | izkoristek | RSD | izkoristek |
| acefat | | | | | 6,4 | 101 | 6,8 | 99 |
| aldrin | 4,8 | 85 | 3,8 | 100 | 3,4 | 94 | 4,4 | 91 |
| azinfos-metil | 14,0 | 113 | 7,6 | 119 | 6,5 | 93 | 11,6 | 99 |
| cihalotrin-lambda | 9,8 | 87 | 8,3 | 106 | 4,7 | 94 | 6,7 | 92 |
| DDD-o,p | 11,0 | 104 | 8,2 | 134 | 5,1 | 91 | 5,8 | 95 |
| DDD-p,p in DDT-o,p | 7,6 | 80 | 7,5 | 101 | 5,0 | 96 | 7,2 | 91 |
| DDE-p,p | 6,9 | 88 | 6,2 | 115 | 4,2 | 94 | 5,7 | 94 |
| DDT-p,p | | | | | 17,0 | 116 | 11,1 | 80 |
| deltametrin | | | | | 6,9 | 106 | 9,4 | 96 |
| diazinon | 5,0 | 85 | 8,8 | 98 | 3,4 | 94 | 4,5 | 92 |
| dimetoat | 7,7 | 71 | 5,1 | 97 | 5,1 | 92 | 6,3 | 93 |
| endosulfan-alfa | | | 6,1 | 108 | 4,2 | 90 | 5,1 | 93 |
| endosulfan-beta | | | 7,5 | 104 | 6,6 | 89 | 6,2 | 91 |
| endrin | 9,6 | 83 | 7,2 | 106 | 5,6 | 94 | 5,8 | 92 |
| fenitrotion | 7,8 | 72 | 5,9 | 93 | 4,9 | 92 | 6,9 | 93 |
| fention | 6,1 | 89 | 5,1 | 98 | 3,9 | 100 | 5,7 | 91 |
| fludioksonil | 11,3 | 82 | 8,7 | 103 | 5,8 | 91 | 13,0 | 96 |
| folpet | | | | | 19,1 | 133 | 18,2 | 70 |
| fosalon | 9,5 | 90 | 7,5 | 106 | 5,0 | 96 | 8,2 | 95 |
| HCH-alfa | 4,9 | 87 | 4,1 | 98 | 3,8 | 94 | 4,7 | 90 |
| heptaklor | 6,9 | 82 | 11,6 | 86 | 5,3 | 98 | 4,9 | 89 |
| heptenofos | 27,6 | 62 | 5,1 | 142 | 3,7 | 95 | 4,7 | 91 |
| imazalil | 16,6 | 87 | 8,3 | 93 | 9,7 | 79 | 9,8 | 96 |
| iprodition | 8,7 | 90 | 7,3 | 111 | 5,0 | 95 | 7,7 | 94 |
| kaptan | | | | | 16,3 | 136 | 15,6 | 73 |
| karbofuran | 5,8 | 85 | 4,5 | 100 | 4,0 | 96 | 4,9 | 93 |
| klorpirifos | 5,5 | 98 | 4,4 | 105 | 3,8 | 93 | 5,1 | 93 |
| klorpirifos-metil | 5,4 | 89 | 4,1 | 102 | 3,7 | 94 | 5,3 | 92 |
| kvinalfos | 9,2 | 81 | 6,7 | 101 | 4,5 | 93 | 6,1 | 93 |
| lindan | | | 4,5 | 110 | 4,9 | 92 | 4,9 | 89 |
| malation | 8,0 | 123 | 7,1 | 126 | 3,9 | 92 | 5,2 | 93 |
| mekarbam | | | 24,0 | 108 | 4,6 | 91 | 5,8 | 92 |
| metalaksil | 5,6 | 113 | 4,5 | 103 | 3,5 | 92 | 4,8 | 93 |
| metamidofos | 12,3 | 78 | 17,3 | 99 | 5,1 | 92 | 7,9 | 92 |
| metidation | | | | | 6,5 | 89 | 8,8 | 95 |
| paration | 7,5 | 70 | 6,2 | 92 | 4,7 | 90 | 6,5 | 94 |
| permetrin-cis | 22,6 | 138 | 8,1 | 120 | 4,9 | 93 | 8,0 | 98 |
| permetrin-trans | | | 8,6 | 109 | 5,4 | 98 | 7,7 | 96 |
| piridafention | 9,8 | 83 | 7,7 | 106 | 4,9 | 93 | 8,0 | 93 |
| pirimifos-metil | 5,7 | 85 | 4,2 | 100 | 3,3 | 93 | 4,8 | 93 |
| procimidon | 7,3 | 89 | 6,0 | 104 | 4,4 | 92 | 6,0 | 93 |
| tiabendazol | 11,8 | 78 | 10,1 | 103 | 6,6 | 90 | 28,0 | 107 |
| triazofos | | | | | 5,0 | 93 | 6,7 | 93 |
| vinklozolin | 7,3 | 94 | 4,6 | 106 | 3,3 | 94 | 5,5 | 92 |

Preglednica 8. Ponovljivost metode znotraj dneva in med dnevi za krompir
Table 8. Repeatability and reproducibility of the method for potato matrix

| spojina | konc., mg kg ⁻¹ dan 1 | RSD, % | konc. mg kg ⁻¹ | | | | | | | | | | povp. konc., mg kg ⁻¹ | RSD, % |
|-----------------------|--|-----------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--|-----------|
| | | | dan 2 | dan 3 | dan 4 | dan 5 | dan 6 | dan 7 | dan 8 | dan 9 | dan 10 | | | |
| acefat | 0,18 | 3,1 | 0,21 | 0,22 | 0,17 | 0,19 | 0,18 | 0,2 | 0,21 | 0,19 | 0,15 | 0,19 | 11,1 | |
| aldrin | 0,18 | 2,0 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 4,3 | |
| azinfos-metil | 0,19 | 8,6 | 0,2 | 0,21 | 0,16 | 0,18 | 0,17 | 0,2 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,19 | 8,5 | |
| cihalotrin-lambda | 0,19 | 4,0 | 0,2 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,19 | 6,9 | |
| DDD-o,p | 0,18 | 3,0 | 0,2 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 5,9 | |
| DDD-p,p in DDT-o,p | 0,38 | 4,1 | 0,4 | 0,38 | 0,32 | 0,37 | 0,35 | 0,38 | 0,39 | 0,38 | 0,34 | 0,37 | 6,2 | |
| DDE-p,p | 0,19 | 3,2 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 5,3 | |
| DDT-p,p | 0,19 | 6,7 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,18 | 0,19 | 6,1 | |
| deltametrin | 0,19 | 7,7 | 0,2 | 0,2 | 0,15 | 0,17 | 0,17 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,16 | 0,18 | 9,4 | |
| diazinon | 0,18 | 2,4 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 4,5 | |
| dimetoat | 0,19 | 3,7 | 0,19 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 5,5 | |
| endosulfan-alfa | 0,119 | 2,6 | 0,132 | 0,123 | 0,112 | 0,123 | 0,117 | 0,126 | 0,130 | 0,126 | 0,118 | 0,123 | 4,7 | |
| endosulfan-beta | 0,062 | 4,2 | 0,066 | 0,065 | 0,054 | 0,058 | 0,06 | 0,056 | 0,068 | 0,058 | 0,062 | 0,061 | 6,9 | |
| endrin | 0,19 | 3,9 | 0,2 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 5,6 | |
| fenitrotion | 0,18 | 4,1 | 0,19 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,17 | 0,2 | 0,19 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 6,5 | |
| fention | 0,18 | 2,5 | 0,19 | 0,21 | 0,18 | 0,16 | 0,18 | 0,2 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 7,0 | |
| fludioksonil | 0,19 | 6,0 | 0,2 | 0,2 | 0,16 | 0,17 | 0,16 | 0,17 | 0,2 | 0,19 | 0,16 | 0,18 | 8,9 | |
| folpet | 0,2 | 10,2 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,17 | 0,17 | 0,21 | 0,2 | 0,2 | 0,18 | 0,19 | 7,4 | |
| fosalon | 0,19 | 5,1 | 0,2 | 0,21 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,19 | 7,3 | |
| HCH-alfa | 0,18 | 2,5 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,2 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 4,6 | |
| heptaklor | 0,18 | 2,9 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 4,6 | |
| heptenofos | 0,18 | 2,8 | 0,19 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,2 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 3,6 | |
| imazalil | 0,18 | 6,1 | 0,2 | 0,22 | 0,15 | 0,17 | 0,16 | 0,19 | 0,2 | 0,18 | 0,16 | 0,18 | 10,9 | |
| iprodition | 0,19 | 4,9 | 0,2 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,19 | 7,1 | |
| kaptan | 0,2 | 7,8 | 0,19 | 0,2 | 0,18 | 0,18 | 0,17 | 0,21 | 0,21 | 0,2 | 0,18 | 0,19 | 6,6 | |
| karbofuran | 0,19 | 3,1 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 4,9 | |
| klorpirifos | 0,19 | 2,9 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 4,8 | |
| klorpirifos-metil | 0,18 | 2,8 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 5,0 | |
| kvinalfos | 0,18 | 3,6 | 0,19 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 6,2 | |
| lindan | 0,17 | 2,7 | 0,2 | 0,19 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,18 | 5,0 | |
| malation | 0,18 | 3,2 | 0,19 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 5,1 | |
| mekarbam | 0,18 | 3,6 | 0,19 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,18 | 0,18 | 5,7 | |
| metalaksil | 0,19 | 2,5 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,19 | 5,3 | |
| metamidofos | 0,18 | 3,2 | 0,2 | 0,2 | 0,18 | 0,18 | 0,17 | 0,17 | 0,19 | 0,21 | 0,15 | 0,18 | 9,8 | |
| metidation | 0,19 | 4,6 | 0,19 | 0,2 | 0,16 | 0,17 | 0,18 | 0,19 | 0,21 | 0,2 | 0,17 | 0,19 | 7,7 | |
| paration | 0,18 | 3,8 | 0,19 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,17 | 0,2 | 0,2 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 6,8 | |
| permetrin-cis | 0,069 | 4,4 | 0,075 | 0,075 | 0,060 | 0,067 | 0,065 | 0,07 | 0,073 | 0,070 | 0,062 | 0,069 | 6,9 | |
| permetrin-trans | 0,119 | 4,7 | 0,130 | 0,132 | 0,103 | 0,116 | 0,112 | 0,121 | 0,126 | 0,122 | 0,108 | 0,119 | 7,5 | |
| piridafention | 0,19 | 4,4 | 0,21 | 0,21 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,16 | 0,19 | 8,5 | |
| pirimifos-metil | 0,19 | 2,4 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 4,7 | |
| procimidon | 0,18 | 2,8 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 5,2 | |
| tiabendazol | 0,19 | 7,6 | 0,2 | 0,21 | 0,16 | 0,17 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,18 | 0,16 | 0,19 | 9,5 | |
| triazofos | 0,19 | 4,1 | 0,2 | 0,2 | 0,16 | 0,18 | 0,17 | 0,19 | 0,17 | 0,19 | 0,17 | 0,18 | 7,1 | |
| vinklozolin | 0,18 | 2,5 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,18 | 0,18 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,18 | 0,19 | 4,9 | |

Točnost (izkoristek) **in natančnost metode** (relativna standardna deviacija) smo preverjali tako, da smo desetim praznim vzorcem krompirja in solate pred ekstrakcijo dodali mešanico vseh 43 pesticidov in sicer na štirih koncentracijskih nivojih za vsak matriks: 0,02 mg kg⁻¹, 0,05 mg kg⁻¹, 0,20 mg kg⁻¹ in 0,50 mg kg⁻¹ za večino spojin, razen za:

- α -endosulfan: 0,0133 mg kg⁻¹, 0,0333 mg kg⁻¹, 0,133 mg kg⁻¹ in 0,333 mg kg⁻¹,
- β -endosulfan: 0,00667 mg kg⁻¹, 0,0167 mg kg⁻¹, 0,0667 mg kg⁻¹ in 0,1667 mg kg⁻¹,
- cis-permetrin: 0,00731 mg kg⁻¹, 0,0183 mg kg⁻¹, 0,0731 mg kg⁻¹ in 0,183 mg kg⁻¹,
- trans-permetrin: 0,0127 mg kg⁻¹, 0,0317 mg kg⁻¹, 0,127 mg kg⁻¹ in 0,317 mg kg⁻¹, ter
- vsota p,p-DDD in o,p-DDT: 0,04 mg kg⁻¹, 0,10 mg kg⁻¹, 0,40 mg kg⁻¹ in 1,00 mg kg⁻¹.

Koncentracijski nivoji so bili izbrani glede na v uradnem listu (Ur.l.RS št. 73/03) predpisane mejne vrednosti (Maximum residue levels, MRL). Hkrati dva koncentracijska nivoja pokrivata območje 0,01–0,1 in 0,1–1 mg kg⁻¹, za katera so podana pravila o kvantitativnosti metode. Ker smo vzorce pripravljali z mešanico pesticidov, nismo mogli izbrati različne koncentracije za vsako spojino posebej, četudi ti štirje koncentracijski nivoji za nekatere spojine presegajo linearno območje.

Pripravili smo po 10 paralelk na vsakem koncentracijskem nivoju, vsako paralelko smo analizirali dvakrat.

Za večino spojin je metoda kvantitativna že pri 0,02 mg kg⁻¹. Rezultati so podani v preglednicah 6–7.

Preverjali smo tudi ponovljivost in obnovljivost metode v desetih dnevih. **Ponovljivost metode znotraj dneva** smo dokazali z analizo krompirja s standardnim dodatkom mešanice 43 pesticidov s koncentracijo 0,2 mg kg⁻¹ (1,25 μ g ml⁻¹), razen za: endosulfan- α : 0,133 mg kg⁻¹, endosulfan- β : 0,0666 mg kg⁻¹, permetrin-cis: 0,0731 mg kg⁻¹, permetrin-trans: 0,127 mg kg⁻¹, ter za vsoto DDD-p,p in DDT-o,p 0,40 mg kg⁻¹. Po analitskem postopku smo pripravili 2 paralelki vzorca. Vsako paralelko smo injicirali dvakrat. Povprečna relativna standardna deviacija med dvema paralelkama je 4,2 %. **Ponovljivost metode med dnevi** (obnovljivost) smo dokazali z analizo krompirja s standardnim dodatkom mešanice 43 pesticidov s koncentracijo 0,20 mg kg⁻¹ (1,25 μ g ml⁻¹), razen za: endosulfan- α : 0,133 mg kg⁻¹, endosulfan- β : 0,0666 mg kg⁻¹, permetrin-cis: 0,0731 mg kg⁻¹, permetrin-trans: 0,127 mg kg⁻¹, ter za vsoto DDD-p,p in DDT-o,p 0,40 mg kg⁻¹ v desetih dneh. Vsak dan smo po analitskem postopku pripravili po 2 paralelki vzorca, vsako paralelko smo injicirali dvakrat. Povprečna relativna standardna deviacija določitve v desetih dnevih za vse spojine je 6,5 %. Rezultati so podani v preglednici 8.

ZAKLJUČKI

Na podlagi rezultatov validacije lahko zaključimo, da je metoda primerna za določanje vsebnosti ostankov 43 pesticidov v krompirju in solati. **Selektivnost** metode smo dokazali z analizo praznih ekstraktov solate in krompirja, ki niso dajali motečih odzivov na mestih preiskovanih spojin. Pri preverjanju stabilnosti smo prišli do zaključka, da so analiti v ekstraktih vzorca **stabilni** pri 25 °C v avtomatskem vzorčevalniku vsaj 3,5 dni. V hladilniku, pri 5 °C pa so stabilni vsaj 22 dni, le malation je stabilen 12 dni. Rezultati preverjanja linearnosti so pokazali, da je sistem za večino spojin **linearen** v območju od 0,01 mg kg⁻¹ do 1,00 mg kg⁻¹. Eksperimentalno določena **meja detekcije** je za večino spojin 0,01 mg kg⁻¹, **meja določanja** metode pa 0,02 mg kg⁻¹. Dokazali smo tudi, da je metoda za večino spojin **točna in natančna** na vseh preverjenih koncentracijskih nivojih: 0,02 mg kg⁻¹, 0,05 mg kg⁻¹, 0,2 mg kg⁻¹ in 0,5 mg kg⁻¹. Metoda je tudi **ponovljiva znotraj dneva** (povprečna relativna standardna deviacija med dvema paralelkama je 4,2 %) in **med dnevi** (povprečna relativna standardna deviacija določitve dveh paralelk za deset dni je 6,5 %).

SUMMARY

Contamination of food with residues of pesticides is a problem, rising major concerns in the population. At the Agricultural Institute of Slovenia we are since 1987 in charge of the control of contamination of agricultural products by pesticide residues. We are controlling compliance with the officially allowed Maximum Residue Levels, (MRL), and are involved in identification of contaminated agricultural products, identification of contamination sources and estimates of health hazard for the human population. In order to compare situation in Slovenia with the situation in EU we adopted the Commission recommendation concerning a coordinated Community monitoring programme for 2003 to ensure compliance with maximum levels of pesticide residues in and on cereals and certain other products of plant origin, 2002/663/EC.

Sampling is organized in eight production areas: Celje, Koper, Kranj, Nova Gorica, Novo Mesto, Murska Sobota, Maribor and Ljubljana. Yearly we collect about 150 samples of agricultural products immediately on the field or in storage houses. We are using multi-residual method, which is allowing us rapid and simple detection pesticide residues in very small amounts (0.01 mg kg^{-1}) and covers large number of pesticides and matrices (fruits and vegetables). Identification of pesticide residues is performed using HPLC with UV or fluorescent detector for thermo-labile components and gas chromatography with NPD (Nitrogen Phosphor Detector), ECD (Electron Capture Detector) or MS (Mass spectrometer). We developed an efficient method for detection of 43 pesticides. The method implies common preparation of a sample and its analysis using gas chromatograph coupled with mass selective detector. The method is suitable for active substances from very polar (e.g. metamidphos) to non-polar ones (e.g. DDT). It was used for determination of pesticide residues in fruits and vegetables as a part of the national monitoring programme in Slovenia in the years 2001 and 2002.

Based on validation results we can conclude that our method is suitable for detection of pesticide residues on potato and green salad. Selectivity of the method has been demonstrated by analysis of clean extracts, which did not produce unspecific signals at positions where pesticides were expected. Analysed substances were stable at $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in automated sampler for at least 3.5 days. However, at $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ were they stable at least 22 days, with the only exception of malation which is stable only 12 days. Results revealed linear relationship for the most of analysed compounds in the range from 0.01 mg kg^{-1} to 1.00 mg kg^{-1} . Experimental detection limit (LOD) is for the majority of compounds 0.01 mg kg^{-1} and quantification limit (LOQ) at 0.02 mg kg^{-1} . We demonstrated that our method is exact and accurate at all concentration levels tested: 0.02 mg kg^{-1} , 0.05 mg kg^{-1} , 0.2 mg kg^{-1} in 0.5 mg kg^{-1} . Method has good repeatability within the same day (average daily standard deviation between parallels is 4.2 %) and between days (average relative standard deviation for two parallels for ten days is 6.5 %).

VIRI

- Alder, L./ Hill, A./ Holland, P.T./Lantos, J./ Lee, S.M./ MacNeil, J.D./ O'Rangers, J./ van Zoonen, P./ Ambrus, A./ Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace-level concentrations of organic chemicals, Principles and practices of method validation (ur.: Fajgelj, A./ Ambrus, A.). The Royal Society of Chemistry, 2000, 179–252.
- Commission recommendation concerning a coordinated Community monitoring programme for 2003 to ensure compliance with maximum levels of pesticide residues in and on cereals and certain other products of plant origin, 2002/663/EC, Official Journal of the European Communities 225, 22.8.2002, 29–33.
- Fillion, J./ Sauve, F./ Selwyn, J. Multiresidue Method for the Determination of Residues of 251 Pesticides in Fruit and Vegetables by Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection, J. AOAC Int., 83(2000)3, 698–712.
- General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sport, Multi-residue Methods, Netherlands 1996, 1. del, 1–22.

- Makovi, C.M./ McMahon, B.M./ FDA (ur.) Pesticide Analytical Manual, Vol. 1, Extraction with acetone, liquid-liquid partitioning with petroleum ether/methylene chloride. R.O.W. Sciences, Inc., 1999, poglavje 302-7.
- Thier, H.P./ Zeumer, H./ DFG (ur.) Manual of Pesticide Residue Analysis, Vol. 1, Organochlorine, Organophosphorus, Nitrogen-Containing and Other Pesticides. Weinheim, VCH, Verlagsgesellschaft, 1987, 383–400.
- Thier, H.P./ Zeumer, H./ DFG (ur.) Manual of Pesticide Residue Analysis, Vol. 2, Cleanup Method 6. Weinheim, VCH, Verlagsgesellschaft, 1992a, 31–36.
- Thier, H.P./ Zeumer, H./ DFG (ur.) Manual of Pesticide Residue Analysis, Vol. 2, Organochlorine, Organophosphorus, Nitrogen-Containing and Other Pesticides. Weinheim, VCH, Verlagsgesellschaft, 1992b, 317–322.
- Uradni list Republike Slovenije št. 11/01, Zakon o fitofarmaceutskih sredstvih, 1163–1175.
- Uradni list Republike Slovenije št. 13/99, Uredba o monitoringu pesticidov v živilih in kmetijskih proizvodih, 1168–1189.
- Uradni list Republike Slovenije št. 73/03, Pravilnika o ostankih pesticidov v oziroma na živilih in kmetijski pridelkih, 11107–11162.
- Urek, G., Gregorčič, A., Onesnaženost kmetijskih pridelkov z ostanki fitofarmaceutskih sredstev v obdobju 1996–1998 – primerjava z obdobjem 1987–1995. Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljublj., Kmet. 1990, 75(2000)2, 193–201.