

TARTU ÜLIKOOL
Füüsika-keemiateaduskond
Keemilise füüsika instituut

ALLAN KÜNNAPAS

**PESTITSIIDIJÄÄKIDE LC-MS ANALÜÜSI PROOVI
ETTEVALMISTUSMETOODIKATE VÕRDLEMINE**

Magistritöö
füüsikalise ja analüütilise keemia erialal

Juhendaja: dotsent, PhD Koit Herodes

Tartu 2007

Sisukord

Kasutatud lühendid.....	3
Sissejuhatus.....	5
1 Kirjanduse ülevaade.....	7
1.1 Pestitsiidid.....	7
1.2 Pestitsiidijääkide analüüsi meetodikad.....	7
1.3 Proovi ettevalmistusmeetodid polaarsete pestitsiidijääkide LC-MS analüüsil.....	9
1.4 Pestitsiidijääkide määramine LC-MS meetodil.....	10
1.4.1 AP-ESI-MS.....	10
1.4.2 QqQ seadmed.....	12
1.4.3 Mõisted.....	14
1.5 Maatriksiefektid.....	17
1.6 Valideerimise nõuded.....	21
1.7 Määramatus pestitsiidijääkide analüüsis.....	23
2 Eksperimentaalne osa.....	25
2.1 Aparatuur.....	25
2.2 Reaktiivid.....	25
2.3 Proovid.....	26
2.4 Proovi ettevalmistus.....	27
2.4.1 Luke.....	27
2.4.2 QuEChERS.....	27
2.5 LC-MS analüüs.....	28
2.6 Protsessi efektiivsuse, maatriksi efekti ning saagise määramine.....	32
3 Tulemused ja arutelu.....	33
3.1 Lahjendamine.....	39
3.2 Praktilised tähelepanekud QuEChERS proovi ettevalmistus-meetodi puhul.....	40
3.3 Analüüsi protseduur.....	41
Kokkuvõte.....	43
Summary.....	44
Kasutatud kirjandus.....	45
Lisad.....	50
Lisa 1.....	51
Lisa 2.....	63
Lisa 3.....	67
Lisa 4.....	68

Kasutatud lühendid

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

AP – (Atmospheric Pressure) atmosfäärirõhul

APCI – (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) keemiline ionisatsioon atmosfäärirõhul

ASE – (Accelerated Solvent Extraction) kiirendatud solventekstraktsioon

CNL – (Constant Neutral Loss) konstantne neutraalne kadu

CRM – (Charge Residue Model) laengu jäägi mudel

ECD – (Electron-Capture Detector) elektronhaarde-detektor

EL – Euroopa Liit

ESI – (Electrospray Ionization) elektropihustus ionisatsioon

FDA – (US Food and Drug Administration) USA Toidu- ja Ravimiinspeksioon

FDM – (Field Desorption Model) väljadesorptsiooni mudel

FID – (Flame-Ionization Detector) leekionisatsioonidetektor

GC – (Gas Chromatography) gaasikromatograafia

GPC – (Gel-Permeation Chromatography) geelkromatograafia

HPLC – (High-Performance Liquid Chromatography) kõrgefektiivne vedelikkromatograafia

HVLP – (High Volume Low Pressure) suure ruumala väikese rõhu

IDMS – (Isotope Dilution Mass Spectrometry) isotooplahjenduse massispektromeetria

IUPAC – (International Union of Pure and Applied Chemistry) Rahvusvaheline Puhta ja Rakenduskeemia Liit

ISO GUM – International Standards Organization Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement

LC-MS – (Liquid Chromatography-Mass spectrometry) vedelikkromatograafia-massispektromeetria

MRL – (Maximum Residue Limit/Level) jääkide piirnorm

MS – (Mass Spectrometry) massispektromeetria

MSD – (Mass Selective Detector) mass-selektiivdetektor

MRM – (Multi-Residue Method) (pestitsiidi)jääkide multimeetod

MRM – (Multiple Reaction Monitoring) mitme reaktsiooni jälgimine

MS/MS MS² – tandemmassispektromeetria, fragmentatsioon

MSPD – (Matrix Solid-Phase Dispersion) maatriks-tahkefaasidispersioon

NPD – (Nitrogen-Phosphorous Detector) lämmastiku-fosforidetektor

PSA (Primary-Secondary Amine) – primaar-sekundaaramiin

QQQ – kolme kordne kvadripool

QuEChERS – (Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged, and Safe) - kiire, lihtne, odav, efektiivne, mittekapriisne, ja ohutu (proovi ettevalmistusmeetod)

RSD – (Relative Standard Deviation) suhteline standardhälve

SIR – (Selected Ion Recording) valitud iooni jälgimine/salvestamine

SPD – (Sulphur-Phosphorous detector) väävli-fosforidetektor

SPE – (Solid-Phase Extraction) tahkefaasiekstraktsioon

UPLC – Ultra-Performance Liquid Chromatography

UV/Vis – (Ultra Violet/Visible) ultraviolet/nähtav (detektor/spektroskoopia)

Sissejuhatus

Paljudes elu-valdkondades (põllumajandus, kahjuritõrje, mitmesuguste toodete valmistamine) kasutatakse pestitsiide kahjurite ning riknemise vältimiseks ja tõrjeks.

Pestitsiidide kasutamine on reguleeritud vastavalt pikaajaliste uurimise tulemustele, kus uuritakse nende lagunemist, kumuleerumist, mõju erinevatele organismidele [1]. Põllumajandus- ja taimekasvatustoodete puhul leitakse, tuginedes põhjalikele uurimustöödele, iga otstarbe jaoks mõistlikud aktiivaine kogused, mis tagavad pestitsiidide sihipärase toime ning samas ka tarbija ohutuse. Paika pandud reeglitest kinni pidamise kontrolliks on mitmed organisatsioonid, ühendused ning riigid paika pannud pestitsiidijääkide piirnormid (MRL) erinevate ühendite ning toodete jaoks. Nende normide järgimist kontrollivad vastavad akrediteeritud laborid. Kui proovist leitakse pestitsiidijääke üle MRLi, siis järgnevad sellele sanktsioonid.[2]

Pestitsiidijääkide analüüsiks kasutatakse põhiliselt GC ja LC seadmeid koos erinevate detektoritega. Kuna pestitsiidijääke ning uuritavaid proove on väga palju, siis kasutatakse multimeetodeid, millega analüüsitakse erinevaid pestitsiidijääke mitmes maatriksis.

Pestitsiidijääkide analüüs toidus ning toiduainetes on keeruline, kuna proovid sisaldavad palju komponente. Eraldamiseks analüüsitavaid ühendeid maatriksist kasutatakse mitmeid proovi ettevalmistusmeetodeid, mis peavad efektiivselt kätte saama pestitsiidijäägid, samas tuues kaasa võimalikult vähe maatriksi komponente. Proovi ettevalmistusmeetodid muutuvad järjest ökonoomsemaks võrreldes varasemate multimeetoditega. Ühest küljest on see tingitud keskkonnahoidlikusest, samas üha lisanduvad analüüsivad ühendid annavad laboritele rohkem tööd.

LC-ESI-MS meetodi kasutuselevõtt on parandanud tunduvalt polaarsete pestitsiidijääkide analüüsi võimalusi, kuna puudub vajadus teostada derivatiseerimist ning ei pea kasutama vähem selektiivseid HPLC detektoreid. LC-MS selektiivsuse kõrval on ka üks suur puudus – ES ionisatsiooni efektiivsust mõjutavad proovi ning solventide komponendid, mistõttu tuleb analüüsimeetodeid uurida ning parendada vähendamaks või kompenseerimaks maatriksiefekte. LC-MS meetod ning selle iseärasused ei ole veel ametlikes dokumentides ning juhendites kajastatud kuna meetodi uurimine alles kestab. Näiteks puudub täielik arusaam ESI ionisatsiooniprotsessi iseloomust.

Käesoleva töö eesmärgiks oli kahe pestitsiidijääkide proovi ettevalmistusmeetodi võrdlemine kasutades LC-MS/MS analüüsi. Luke ehk atsetoon ekstraktatsioon on vana, kuid

veel suhteliselt laialt levinud polaarsete pestitsiidijääkide määramise multimeetod väherasvastes proovides. QuEChERS on uue põlvkonna ökonoomne proovi ettevalmistusmeetod, milles kasutatakse atsetonitriili ekstraktsiooni/jaotumist. Kui Luke meetodit ning selle modifikatsioone kasutatakse standard meetoditena, siis QuEChERS alles lähemas tulevikus saab ametlikult standardseks multimeetodiks [3]. Katsed viidi läbi 50 suhteliselt stabiilsema polaarsete pestitsiidijäägiga kolmes maatriksi tüübis – suure vedeliku sisaldusega (lehtsalat), madala pH ning suure suhkru sisaldusega (apelsin, mandariin), suure valgu ning muude orgaaniliste ühendite sisaldusega (kaer, rukis). Tulemuste analüüs peab näitama, kas valitud maatriksite ning pestitsiidijääkide puhul on võimalik ning mõistlik üle minna vanalt Luke meetodilt uuele QuEChERSile. Kas ja milliseid muudatusi ning korrektsioone tuleb teha.

1 Kirjanduse ülevaade

1.1 Pestitsiidid

Pestitsiidid on anorgaanilised või orgaanilised ühendid ja nende segud, mida kasutatakse erinevate soovimatute organismidega võitlemiseks. Pestitsiide liigitatakse väga mitmeti – sihtorganismi, keemilise klassifikatsiooni, toime jne. alusel. Üheks enim levinud liigituseks on vastavalt sihtorganismile, näiteks akaritsiidid, fungitsiidid, herbitsiidid, kusjuures alajaotused tulenevad ühendite keemilisest klassifikatsioonist, näiteks karbamaat-, fosfororgaanilised-, konasool-. [4]

Antud töö seisukohast on olulised põllumajanduses kasutatavad seente, taimsete ja loomsete organismide tõrjeks kasutatavad ühendid. Sageli jaotatakse neid korje-eelseteks (*pre-harvest*) ja -järgseteks (*post-harvest*) pestitsiidideks.

Taimekaitsevahendite valdkonnas tegeletakse pidevalt uurimistööga, mille eesmärgiks on leida efektiivseid ühendeid, mis samas kujutaks võimalikult vähe ohtu mitte-sihtorganismidele. 2005. aasta juuni seisuga sisaldas FDA andmebaas 1604 pestitsiidi, metaboliiti, laguprodukti ja lisandit [5], EL aktiivainete nimistusse kuulub 4. november 2004 seisuga kokku 1141 olemasolevat, uut ning keelatud või mitte kasutuses olevat ühendit [6]. Seoses uute pestitsiidide kasutuselevõtuga määratakse neile ka jääkide sisalduse piirmäärad. Pestitsiidijäägid on seega osa kasutatud pestitsiidist, mis jõuab toote kujul tarbijani või ümbritsevasse keskkonda (muld, õhk, vesi). Uute piirmäärade lisandumisel peavad järelvalvet teostavad laborid aegajalt uuendama ning täiendama oma analüüsitavate pestitsiidijääkide ja võimalike maatriksite nimistut, mis muudab analüüsimeetodid järjest keerulisemateks ning ulatuslikemateks.

1.2 Pestitsiidijääkide analüüsi meetodikad

Pestitsiidijäägid esinevad uuritavas maatriksis jälgedena (väga väikeses kontsentratsioonis), mistõttu peab kasutatav instrumentaalanalüüsimeetod olema piisavalt suure tundlikkusega. Kuna pestitsiidijääkidele on erinevate maatriksite puhul kehtestatud piirnormid, mille ületamisel rakendatakse sanktsioone, siis peab meetod andma ka iseloomulikku informatsiooni pestitsiidi kohta. Pikka aega oli pestitsiidijääkide analüüsis standardiks GC koos FID, NPD, SPD, ECD, MSD või nende kombinatsiooniga [7-9]. Lisaks

kasutatakse spetsiifilisuse tõstmiseks erineva statsionaarse faasiga kolonne, eriti kui tulemused üritavad piirmäära. Gaasikromatograafiliseks määramiseks sobivad hästi vähe- või mittepolaarsed ühendid, mis analüüsiitingimustel aurustuvad piisavalt hästi ning on termiliselt püsivad. Hetkel on kasutusel veel suhteliselt palju GCga analüüsitavaid pestitsiidijääke, milledele lisaks tuleb kontrollida ka juba keelatud ühendite puudumist.

Pestitsiidide selektiivsuse tõstmiseks sünteesitakse üha uusi ühendeid, mis oleks efektiivsemad kuid samas ohutumad ümbritsevale keskkonnale ning teistele organismidele, laguneksid suhteliselt kiirelt pärast kasutusperioodi ning ei bioakumuleeruks. Selle töö tulemusena kasutatakse juba mitmeid uusi pestitsiide, mis on enamasti polaarsed ning sageli termolabiilsed, seega gaasikromatograafiline analüüs osutuks keerulisemaks (tuleb kasutada näiteks derivatiseerimist). Siiani standardse GC analüüsi kõrvale on pestitsiidijääkide valdkonnas lisandunud HPLC polaarsete pestitsiidijääkide analüüsiks koos UV/Vis, fluorestsents või MS detektoriga. Esimesed kaks on väheselektiivsed ning nende puhul tuleb määramisel mitme detektori kombinatsiooni ja/või erinevaid kolonne ning kromatograferimistingimusi. Polaarsete pestitsiidijääkide analüüsil saadakse kõige selektiivsemad tulemused kasutades MS/MS (või MS²) detektoreid, mis lisaks retentsioonijale antud tingimustes annavad ka molekulaariooni m/z suhte, molekulaariooni fragmentatsioonispektri või vähemalt kaks iseloomulikku fragmentiooni.[8,10-14]

Tingituna analüüsivate pestitsiidijääkide omadustest ning uuritavast maatriksist tuleb läbi viia ka suuremal või väiksemal määral proovi ettevalmistust. Sageli koosneb see pestitsiidijääkide ekstraheerimisest maatriksist, saadud ekstrakti puhastamisest ning vajadusel kontsentreerimisest. Enamus uuritavaid maatrikseid (puu- ja köögiviljad, marjad, teravili, liha, kala, seemed jne. ning nendest valmistatud tooted) sisaldavad suurel hulgal mitmesuguseid orgaanilisi ühendeid, mis võivad kaasa ekstraheeruda. Seega ekstrakti puhastamise käigus on soovitatav neist võimalikult palju vabaneda, sealjuures ei tohi analüüsitava aine sisaldus oluliselt väheneda. Proovi ettevalmistuse tulemusel lihtsustub komponentide kromatograafiline eraldamine, vähenevad maatriksist tingitud mõjud ning pikeneb seadmete hooldusintervall.

Selleks, et aega kokku hoida viiakse suur osa analüüsides läbi kasutades multimeetodeid st. ühe meetodiga määratakse mitut pestitsiidijääki erinevates maatriksites. Ühe või mõne ühendi analüüsi meetodeid kasutatakse vaid olukordades, kus muud lahendused ei tööta (näiteks kui kasutatav multimeetod ei sobi nende analüüsiks). Kasutatav meetod peab soovitatavalt olema ka võimalikult universaalne, sobima nii GC kui LC analüüsiga.

1.3 Proovi ettevalmistusmeetodid polaarsete pestitsiidijääkide LC-MS analüüsil

Järgnevalt on toodud ülevaade polaarsete pestitsiidijääkide proovi ettevalmistusmeetoditest väherasvastes (mitte üle 2 % rasva) maatriksites, mis sisaldavad vett või see lisatakse enne proovi ettevalmistust (tegemist on multimeetoditega). Ette võib juba ära öelda, et enimlevinud ekstraheerimissolvendid on atsetoon, etüülatsetaat, atseetonitriil ja metanool [15].

Esimene tõeline multi-meetod töötati välja P.A. Mills poolt FDA-s 1960-ndatel [16]. Polaarsemate pestitsiidide kasutuselevõtuga sai alguse atsetoonekstraktsiooni ehk Luke meetod [17]. Selle üheks väljundiks standardina on AOAC ametlik meetod 985.22 kloor- ja fosfororgaaniliste pestitsiidijääkide määramiseks gaaskromatograafiliselt [18]. Luke on sageli aluseks tänapäeval kasutatavatele multimeetoditele, seega 1975. aastal avaldatud atsetooniekstraktsioon on nii samal kui modifitseeritud kujul laialdaselt kasutuses nii GC-MS kui LC-MS analüüsis.

Vastukaaluks atsetoonekstraktsioonile, kus ulatuslik ekstrakti puhastamine viiakse läbi kloororgaaniliste solventidega (vaata proovi ettevalmistusprotseduuri eksperimentaalsest osast), võeti kasutusele ka etüülatsetaatekstraktsiooni meetod [19]. Tegu on kiirema, lihtsama lähenemisega, kus ei kasutata kloororgaanilisi lahusteid ning saadakse väga head saagised. Seetõttu muutus etüülatsetaatekstraktsioon mitmetes Euroopa riigis standardmeetodiks. Proovi ettevalmistus koosneb järgmistest etappidest: ekstraheerimine etüülatsetaadiga, Na₂SO₄ lisamine, ekstrakti puhastamine kasutades Florisili või GPC-d.[15]

Nagu eespool mainitud kasvab nii kasutatavate pestitsiidide arv kui ka maatriksite hulk, milles neid on vaja analüüsida. See viib aga üldise analüüside arvu kasvuni, mille tulemusena on vaja muuta proovi ettevalmistust vähem aega nõudvaks, samuti tuleb modifitseerida instrumentaalanalüüsi etappi. Proovi ettevalmistuse kiirendamiseks võib kasutada automatiseeritud seadmeid nagu näiteks ASE, kuid nende puhul tuleb seadet pidevalt puhastada ja hooldada. Samas mõningate maatriksite puhul (nt. pinnas) on tegu väga hea proovi ettevalmistusmeetodiga, kuna jääb ära aeganõudev Soxhlet ekstraktsioon. Instrumentaalanalüüsi seisukohalt tuleb suurendada ühe analüüsi käigus määratavate pestitsiidijääkide arvu (kasutada võimalikult laiahaardelisi multimeetodeid). Lisaks on võimalik uute seadmetega muuta kromatograferimisprotsessi oluliselt kiiremaks ning efektiivsemaks, kasutades näiteks väiksema läbimõõduga osakestega analüütilisi kolonne ning suuremaid eluendi rõhkusid (nt firma Waters kaubamärgina tuntud UPLC® lahendus).

Ilma spetsiaalseid seadmeid ostmata on proovi ettevalmistusprotsessi võimalik kiirendada vähendades proovi koguseid, leides ekstraktide puhastamiseks muid lahendusi peale vedelikvedelik ekstraktsiooni, jätma ära kokkuaurutamise ning jäägi lahustamise astmed. Sellise suhteliselt lihtsa ja kiire lahenduse pakuvad proovi solventekstraheerimine, millele järgneb tahkefaasiekstraktsioon puhastus nii padruni kujul kui ka dispergeerituna (QuEChERS). On ka meetodeid, kus proov juba segatakse SPE sorbendiga ning pestakse läbi sobiliku lahustiga, seda nimetatakse MSPD-ks. Viimase meetodi puhul on miinuseks see, et lõppekstrakti tuleb kokku aurutada. QuEChERS ja MSPD puhul kasutatakse tahkefaasiekstraktsiooni sorbenti maatriksi komponentide mitte analüüsitava aine adsorbeerijana [16].

Mikromeetodite üheks miinuseks on lõppekstrakti väiksem kontsentratsioon (antud töös 1 g proovi/1 ml ekstrakti QuEChERS vs. ~1,3 g proovi/1 ml ekstrakti Luke), mille tulemusena peab instrumentaalanalüüs olema tundlikum, samas kaasaegsed LC-MS seadmete puhul ei ole takistuseks.

1.4 Pestitsiidijääkide määramine LC-MS meetodil

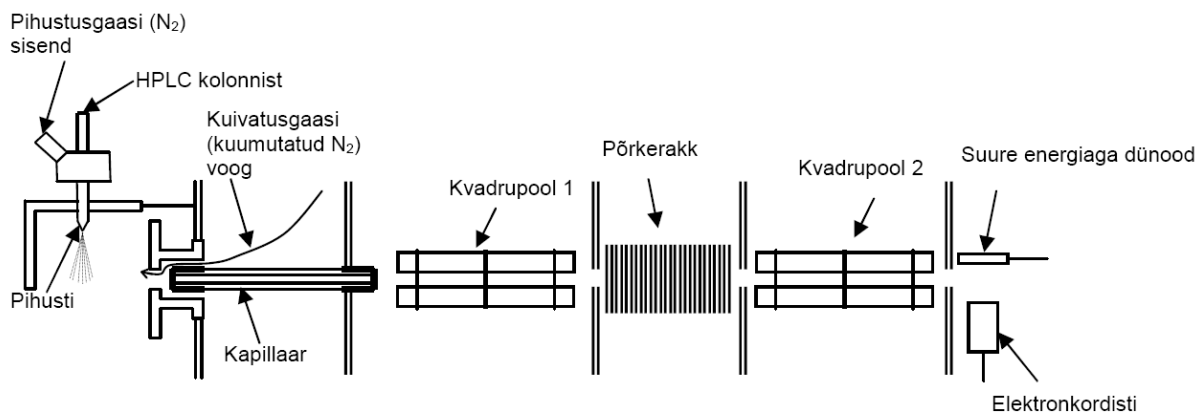
LC-ESI-MS on väga oluline meetod pestitsiidijääkide analüüsis. Lisaks mitmele positiivsele küljele nagu selektiivsus ja tundlikkus omab see analüüsimeetod ka puudusi, millede sisu ja tausta kirjeldatakse järgmistes punktides.

1.4.1 AP-ESI-MS

AP-ESI-MS ehk atmosfäärirõhul-elektropihustusionisatsioon-massispektromeetria tähistab tegelikult ühte enim levinud vedelikkromatograafi seostamise viisi massispektromeetriga. Kuna vedelikkromatograaf lahutab analüüsitavad ained vedelas keskkonnas ja massispektromeeter analüüsib gaasifaasilisi ioone, siis on leitud moodus kuidas neid kahte omavahel ühendada.

Gaasifaasiliste ionide tekitamine toimub järgnevate protsesside tulemusel. Kolonnist tulev vedelik pihustatakse (vaata Joonis 1). Pihusti ja massispektromeetri sisendi vahel olev mõne kilovoldi suurune potentsiaalide erinevus põhjustab laetud tilgakeste tekke ning nende suunamist massispektromeetri sisendi poole. Elektropihustus on oma põhimõttelt ioone sisaldava lahuse pihustumine suure potentsiaalide erinevuse tõttu. Kuna aga elektropihustus

on stabiilne väiksematel voolukiirustel ning väikesematel pindpinevustel, siis tegelikkuses kasutatakse pneumo-abistatud elektropihustust. Seega põhiline pihustamine toimub gaasilise lämmastiku abil ning potentsiaalide erinevus on vajalik laetud tilkade tekitamiseks ja nende transpordiks massispektromeetri sisendi poole (kapillaar). Olenevalt tootjast on pihusti ja kapillaar samal telje või teatud nurga all.



Joonis 1. AP-ESI-QqQ seadme skeem

Massispektromeetri poolt puhub enamasti kuumutatud kuivatusgaasi, mille tulemusel tilkadest aurustuvad kergesti lenduvad komponendid (solvent). Kui solvendi lendumise tõttu väheneb tilga ruumala ja tilgas olevate laengute vastastikune tõukumine muutub liiga suureks, siis toimub selle lagunemine väiksemateks tilkadeks, mis jätkub kuni jäävad järgi gaasifaasilised ioonid. See protsess toimub suures ulatuses atmosfäärirõhul, sellest ka nimetus atmosfäärirõhuline ESI.[20,21] Tegelikult on gaasifaasiliste ionide tekkimise mehhanism veel ebaselge, kuid järgnevalt on toodud kaks enim kasutatavat mudelit:

- 1) CRM laengujäägi mudel [22,23]. Mudeli põhimõte seisneb selles, et laetud tilgad lagunevad lahusti aurumisest tingitud Coloumb'i jõudude tagajärjel, kuni ühe tilga sisse jääb üks analüüsitava aine ioon. Lõpliku lahusti eemaldamise tulemusel jääb järgi gaasifaasiline ioon.
- 2) FDM ionide desorptsiooni mudel, tuntud ka ionide aurustumise mudeli nime all (*ion evaporation*) [24]. FDMi kohaselt tilkade lagunemise ja kahanemise käigus jõutakse raadiuseni umbes 10 nm. Sellel hetkel toimub solvateeritud iooni desorptsioon tilga pinnalt.

Ionisatsiooni tegelik mehhanism sõltub kindlasti väga palju ka analüüsitava aine omadustest nagu pindpinevus, happelis-aluselised omadused, solvatatsioonenergia ja solvateeritavus, molekulmass. Lisaks sellele tuleb arvestada ka teiste molekulide ning ioonidega, mis võivad oluliselt suurendada või vähendada analüüsitava aine gaasifaasiliste ioonide tekkimise efektiivsust.

Ioonide tekitamiseks LC-ESI-MS analüüsiks on kolm põhilist teed:

- 1) analüüsitav ühend on lahuses juba ioonilisel kujul, seda mõjutab eluendi pH
- 2) analüüsitav ühend saab laengu tilga kahanemise käigus protoneerumise või nt. Na-adikti moodustumise läbi positiivses polaarsuses ning deprotoneerumise läbi negatiivses polaarsuses. Kuna tilkade kahanemise käigus laengute hulk ruumalas kasvab drastiliselt, siis tingimused erinevad tunduvalt lahusest (nt. H^+ ioonide kontsentratsioon võib olla kolm kuni neli suurusjärku suurem [25]).
- 3) Gaasifaasiline laengu ülekanne

Kokkuvõttes tuleb rõhutada, et ES ionisatsioon on keeruline protsess, mille tulemust on kohati raske ette ennustada, kuna seda mõjutavad mitmed tegurid. Samas võimaldab antud meetod analüüsida väga erinevaid ühendeid ka keerukates maatriksites.

1.4.2 QqQ seadmed

Tekkinud ioonid juhitakse massispektromeetrisse kasutades erinevaid kapillaare või koonuseid ning ionoptikat eemaldamaks neutraalseid ühendeid ning säilitamaks massispektromeetri tööks vajalikku madalat rõhku (10^{-5} mbar ja madalam). Käesolevas töös kasutati kolmekordset kvadrupool instrumenti (sageli tähistatakse QqQ), mis tegelikult koosneb kahest kvadrupool-massianalüsaatorist ning põrkerakust (*collision cell*) nende vahel. Põrkerakk sisaldab mõnda inertset gaasi nagu argoon, et põhjustada analüüsitavate ühendite molekulaarioonide fragmenteerumist. Antud seadmega on võimalik valida mitme erineva seadistuse vahel, mis sobivad vastavalt erinevate ülesannete lahendamiseks.

Järgnevalt on toodud Waters Quatro Premier võimalikud analüüsirežiimid MS (Tabel 1) ja MS/MS (Tabel 2) korral.

Tabel 1. MS seadistus [26].

Töö režiim	MS1	Põrkerakk	MS2
MS1	Analüüsib (skaneerib)	Laseb läbi kõik massid	
MS2	Laseb läbi kõik massid		Analüüsib (skaneerib)
SIR	Analüüsib (staatiline)	Laseb läbi kõik massid	

MS1 režiimis töötab MS1 tavalise skaneeriva massifiltrina. Sama mis ühekordne kvadrupool-instrument.

MS2 režiimi kasutatakse koos põrkegaasiga (Ar) põrkerakus kui soovitakse kiirelt vahetada MS ja MS/MS vahel. Samuti on see režiim kasulik diagnostikaks, kalibreerimiseks ning seadistamiseks.

SIR (*Selected Ion Recording* – valitud iooni salvestamine) võib kasutada kvantitatiivsel analüüsil, kui ei ole võimalik leida sobivat fragmentiooni, et teha MRM analüüsi.

Tabel 2. MS/MS seadistus [26].

Töörežiim	MS1	Põrkerakk	MS2
Staatiline fragmentatsiooni spekter	Staatiline (eellasiooni massil)	Laseb läbi kõik massid	Skaneerib
Skaneeriv fragmentatsiooni spekter	Skaneerib		Staatiline (fragmentiooni massil)
MRM	Staatiline (eellasiooni massil)		Staatiline (fragmentiooni massil)
CNL spekter	Skaneerib (sünkroniseeritult MS2-ga)		Skaneerib (sünkroniseeritult MS1-ga)

Staatilise fragmentatsiooni spekter on väga levinud analüüsi ning meetodi välja töötamises kasutatav režiim, kus teadaoleva m/z suhtega ioonid eraldatakse, fragmenteeritakse ning registreeritakse sobivas vahemikus fragmentatsioonispekter.

Skaneeriv fragmentatsiooni spekter näitab millise m/z suhtega osakesed annavad ühe kindla m/z väärtusega fragmendi.

MRM (*Multiple Reaction Monitoring* – mitme reaktsiooni jälgimine) põhiline režiim tundliku ja selektiivse analüüsi läbi viimiseks (näiteks ravimi metaboliitide analüüs, pestitsiidijääkide analüüs jne.). Registreeritakse valitud m/z väärtusega eellasiooni fragmentatsioonispektrist ühe kindla fragmendi signaal.

CNL (*Constant Neutral Loss* – konstantse neutraalse kao) režiim, kus jälgitakse kindla neutraalse fragmendi või funktsionaalrühma eraldumist/kadu ükskõik millisest eellasioonist. Seda meetodit kasutatakse analüüsimaks kindlat ainete rühma või klassi, millel on sarnane fragmentatsiooni tee (viitab sageli ühesuguse funktsionaalrühma või struktuuriüksuse olemasolule). Tulemuseks on nende eellasioonide spekter st. m/z suhted mis tõesti andsid lagunedes ära ühe kindla neutraalse rühma.

Käesolevas töös kasutatakse kvantiseerimisel MRM režiimi, kusjuures iga pestitsiidijäägi jaoks jälgitakse võimalusel kahte fragmentiooni – suurema intensiivsusega iooni kvantitatiivseks analüüsiks ning väiksema intensiivsusega iooni kvalitatiivseks kinnituseks. Nende ionide kromatograafiliste piikide kõrguste või pindalade suhe võrreldes standardiga on pestitsiidijäägi identiteedi kinnituseks. Liialt suure erinevuse korral, või juhul kui piikide retentsiooniajad on oluliselt erinevad (erinevus tunduvalt suurem kui kahe andmepunkti vahe), tuleb tulemusi põhjalikult uurida ning vajadusel läbi viia lisakatsed.

1.4.3 Mõisted

Selleks, et üheselt mõista antud töö tulemusi tuleb esmalt LC-MS analüüsi seisukohast paika panna mõningad definitsioonid. Vahet tuleb teha mõistetel saagis, maatriksi efekt, protsessi efektiivsus, mis Taylor et al. [27] ning Niessen et al. [28] artiklite põhjal on järgmised:

- Maatriksiefekt (Me) on suurus, mis näitab analüüsitava ainega koos elueeruvate maatriksi ja/või eluendi mõju ionisatsioonile. Maatriksiefekti hinnatakse analüüsitava aine kromatograafiliste piikide pindalade suhtena, mis on saadud samal

kontsentratsioonil lisamisest pärast ekstraheerimist (A_{post}) ja standardaine lahusest solvendis (A_{stand}). Me suurust väljendatakse protsentides, väärtused üle 100 % tähistavad ionisatsiooniefektiivsuse tõstmist ning alla 100 % tähistab ionisatsiooniefektiivsuse maha surumist.

$$Me = \frac{A_{\text{post}}}{A_{\text{stand}}} * 100\% = \frac{Pe}{R} * 100\% \quad \text{Valem 1}$$

Maatriksiefekti saab väljendada ning määrata mitmel viisil. Mõõtmisi võib teha kasutades lõppekstrakte standardlahuse lisamist ning võrrelda tulemust samal kontsentratsioonil standardainega solvendis. Teine võimalus on võrrelda maatriksvastava- ja solventkalibratsiooni graafikuid. Esimesel juhul jagatakse omavahel vastavad kromatograafiliste piikide pindalad ning korrutatakse tulemus 100 % (nullpunktiks 100 %) või lahutatakse 100 kui nullpunktiks valitakse 0 % (positiivsed väärtused tähistavad ionisatsiooniefektiivsuse suurendamist ning negatiivsed tähistavad vähendamist). Kui võrreldakse kalibratsioonigraafikute põhjal, siis jagatakse maatriksvastava kalibratsiooni tõus solventkalibratsiooni tõusuga (väärtused üle ühe tähistavad suurendamist ning alla ühe maha surumist).

Lisaks eeltoodutele on maatriksiefekti uuritud ka kasutades kolonni järgset analüüsitava aine infuseerimist. Kromatograafi süstitakse uuritavat maatriksit ning registreeritakse valitud pestitsiidi signaali muutus kromatograafilise analüüsi käigus. Kuigi antud meetod on kõige informatiivsem, andes teavet maatriksiefektide jaotuse kohta kogu kromatograafilise meetodi, omab see ikkagi suuri puudusi. Nimelt saadud tulemuste kvantiseerimine on keeruline ning lisaks tuleb läbi viia suurel hulgal mõõtmisi, et saada andmed kõigi uuritavate pestitsiidijääkide ning maatriksikombinatsioonide kohta.

Käesolevas töös valiti maatriksiefekti väljendamiseks protsendiline skaala, selliselt et 100% vastab maatriksiefekti puudumisele. Sellisel juhul on võimalik koostada kergelt võrreldavaid ning üksteise peale asetatavaid saagise, protsessi efektiivsuse ning maatriksiefekti graafikuid.

- Saagis (R) on suurus, mis näitab milline osa analüüsitavast ainest saadakse kätte pärast proovi ettevalmistust (positiivne suurus, mida väljendatakse protsentides). Saagis ei arvesta maatriksiefekti. Saagist määratakse analüüsitava aine kromatograafiliste

piikide pindalade suhtena, mis on saadud samal kontsentratsioonil teostatud lisamistest enne (A_{pre}) ja pärast (A_{post}) ekstraheerimist.

$$R = \frac{A_{pre}}{A_{post}} * 100\% = \frac{Pe}{Me} * 100\% \quad \text{Valem 2}$$

Tegelikult antakse saagisele erinevates allikates mitmeid definitsioone, mis kas arvestavad maatriksiefekti, ei arvesta maatriksiefekti või on liialt üldsõnalised, et anda ühest vastust. Vahe tegemine on eriti oluline maatriksiefektide suhtes vastuvõtlike meetodite puhul. Järgnevalt on toodud mõningad saagise definitsioonid.

SANCO/10232/2006 – „*recovery (of analyte through analytical method) – The proportion of analyte remaining at the point of the final determination, following its addition (usually to a blank sample) immediately prior to extraction. Usually expressed as percentage.*” [29]. „Analüüdi hulk, mis on alles lõpliku määramise hetkel” viitab, et saagist määratakse pärast proovi ettevalmistust ning see väljendab otseselt analüüsitava ühendi hulka prooviekstraktis mitte mõõteseadme signaali, mille analüüsitava aine põhjustab (sega maatriksiefektid ei sisaldu saagises). Samas „läbi analüütilise meetodi” viitab maatriksiefekti arvesse võtmisele saagises, kuna lisaks proovi ettevalmistusele hõlmatakse ka instrumentaalanalüüsi, kalibratsiooni ja muid etappe, kui analüütilise meetodi all mõeldakse kompleksi proovi ettevalmistus, instrumentaalanalüüs.

IUPAC Compendium of Chemical Technology (Gold Book) [30] on saagis defineeritud järgmiselt: „*Term used in analytical and preparative chemistry to denote the fraction of the total quantity of a substance recoverable following a chemical procedure.*” Selle definitsiooni põhjal „keemiline protseduur” ei viita instrumentaalanalüüsi etapile, siis sellisel juhul on tegu puhtalt saagisega (maatriksiefekt ei ole kaasa arvatud). Liiatigi viitab termin ainult aine hulgale, mis on võimalik kätte saada, seega tulemus, mis ei sõltu analüüsil kasutatavast seadmest.

Lisaks Gold Book’is leiduvale definitsioonile on IUPACi initsiatiivil avaldatud artikkel, mis käsitleb terminite näiline saagis (*apparent recovery*) ning saagis (*recovery*) kasutamist analüütilistes protseduurides [31]. Selle artikli põhjal on saagis (või saagise faktor, *recovery factor*) analüütilise protsessi ekstraheerimis või eelkontsentratsiooni etapi järel saadud aine kogus jagatud analüüsitava aine kogusega algses proovis (ei kajasta maatriksiefekti). Näiline saagis saadakse kasutades kalibratsioonigraafikut (see muudabki saagise näiliseks). Tulemuseks on leitud väärtus (arvutatud kalibratsioonigraafiku alusel) jagatuna teoreetilise-

teadaoleva- või referentsväärtusega (see definitsioon arvestab maatriksiefekti, kui kalibratsioon on tehtud solvendis või kui maatriksvastav-kalibratsioon ei kompenseeri maatriksiefekti).

- Protsessi efektiivsus (Pe) on maatriksiefekti ja saagise korrutis:

$$Pe = \frac{A_{pre}}{A_{stand}} * 100\% = \frac{R * Me}{100\%} \quad \text{Valem 3}$$

Protsessi efektiivsus ei ole LC-MS analüüsis eriti laialdaselt levinud, esimest korda mainiti seda antud kontekstis Buhrman et al. [32] poolt 1996. aastal. Põhiliselt kasutatakse seda artiklites, kus tegeletakse spetsiaalselt maatriksiefektide uurimisega LC-MS analüüsis nagu näiteks juba varem nimetatud Niessens et al. [28] (maatriksiefektid pestitsiidijääkide kvantitatiivses analüüsis) ja Taylor [27] (maatriksiefektid bioloogilistes maatriksites teostatavates kvantitatiivsetes analüüsides). Samuti ei ole see termin jõudnud standarditesse ja juhenditesse, kus käsitletakse analüüsimeetodeid, mille tulemusi võib mõjutada maatriksiefekt.

Eespool toodud definitsioonide rakendusena võib tuua järgneva näite – kui lisamiskatsetes kasutatakse maatriksvastavat kalibratsiooni, siis tulemuseks on saagis (eeldusel, et maatriksiefektid on täielikult kompenseeritud) ja kui kalibratsioonistandardeid solvendis, siis protsessi efektiivsus. Kuna toodud definitsioonid ei ole kõik kasutuses ning levinud, siis mõnes artiklis võib olla protsessi efektiivsus tähistatud saagisena.

1.5 Maatriksiefektid

LC-MS analüüs on suurte võimalustega meetod polaarsete ja iooniliste (põhiliselt orgaaniliste) ühendite analüüsiks. Ioonide tekkimise protsessist tulenevalt omab see analüüsimeetod aga kohati väga tugevat maatriksiefekti. See tähendab, et analüüsitava ainega kaasa elueeruv maatriksi või eluendi komponent suurendab või vähendab signaali intensiivsust võrreldes standardiga solvendis (erinevused võivad olla isegi suurusjärgudes) [27,33]. Analüüsitav ühend esineb kromatograafilise eraldamise puhul enamasti piigina, sama ei pruugi kehtida maatriksiefekti põhjustavate komponentidega. Nimelt võivad need elueeruda selge piigina või hoopis tausta/väga laiali valgunud piigina. Olukorra muudab sageli

keeruliseks ka fakt, et maatriksiefekti põhjustavad komponendid ei pruugi olla nähtavad masselektiivse detektoriga [34]. See võib tekitada alusetut kindlustunnet sarnaselt MRM kasutamisele täis spektri registreerimise asemel.

Maatriksiefekti täielikku olemust LC-MS analüüsi puhul ei ole veel mõistetud, kuna sama kehtib ionisatsiooni protsessi kohta. Samas teatakse, et ionisatsiooni efektiivsuse suurendamine/maha surumine on tingitud põhiliselt madala molekulmassiga maatriksi või eluendi komponentidest. Vastavate komponentide mõju põhineb halval lenduvusel, soodumusel moodustada ionipaare, pindaktiivsusel, prootonafiinsusel.[27,28] Lisaks kõigele muule sõltuvad maatriksiefektid ka kasutatava ionisatsiooniallika disainist (geomeetriast) [35]. Üheks võimalikuks maatriksiefekti mudeliks on analüüsitava ühendi konkurents laengu ning koha peale tilga pinnal. Maatriksiefekti kohta tuleb veel lisada, et see on sageli sõltuv nii maatriksist kui analüüsitavast ühendist, seega on väga raske ennustada mõjusid erinevate ühendite ning maatriksite puhul.

Kuna sageli on maatriksid keerulised ning analüüsitakse mitmeid ühendeid korraga (multimeetod), siis tuleb sageli leida kompromiss kiiruse ning tulemuste kvaliteedi vahel.

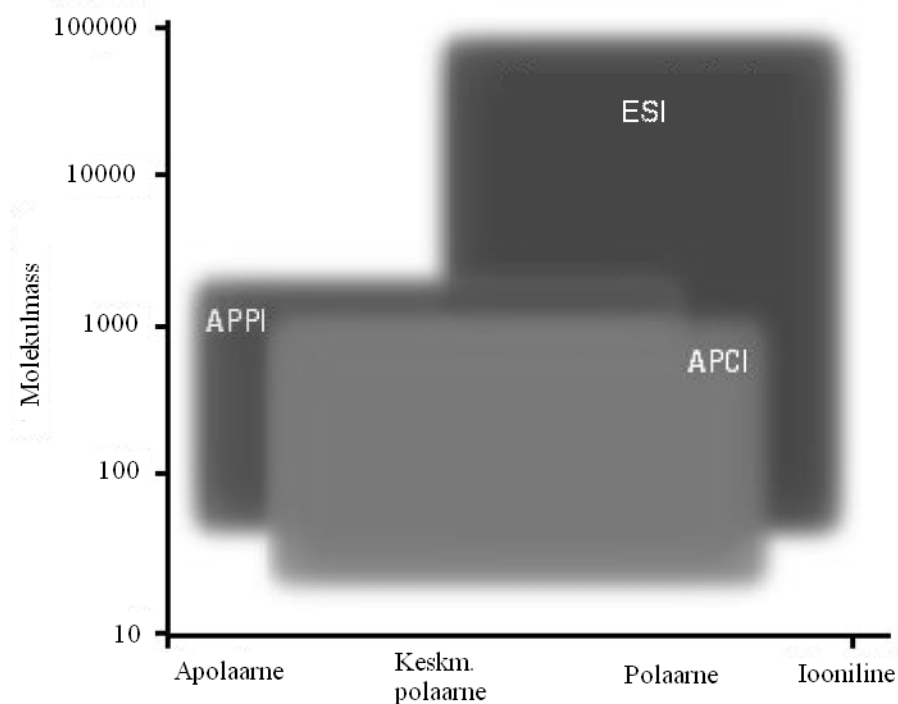
Maatriksiefektiga tegelemiseks on kas võimalust: 1) maatriksiefekti vähendamise/kaotamine ning 2) maatriksiefekti arvesse võtmine, kompenseerimine.

Maatriksiefekti vähendamine/kaotamine

Kõige otsesem lahendus maatriksi mõju vähendamiseks analüüsitavale ühendile on proovi ettevalmistuse parandamine muutes ekstraheerimise solventi, lisades proovi ettevalmistusmeetodile uue ekstrakti puhastamise etapi. Kui esimene võimalus on suhteliselt lihtsalt kontrollitav ning läbi viidav, siis uue puhastusetapi lisamisel tuleb arvestada võimalike takistuste ning ebakõladega. Lisanduv puhastusetapp peab võimalikult vähe muutma analüüsitava aine kontsentratsiooni, samas eraldama efektiivselt segavad maatriksi komponendid. Nagu eespool mainitud, siis segavad ühendid, sageli sarnaselt analüüsitavate ainetega, on suhteliselt väikese massiga polaarsed molekulid. GPC või SPE ekstrakti puhastus ei pruugi anda väga head tulemust, lisaks sellele võivad eespool nimetatud meetodid osutada liialt ajamahukateks. Võimalik, et lisa puhastuse käigus hoopis suurendatakse maatriksiefekti näiteks plastifikaatorite kaasa ekstraheerumise tulemusel [35]. Maatriksiefektide vähendamiseks võib prooviekstrakti ka lahjendada mille tulemusel on mõningatel juhtudel märgatud maatriksi efektide vähenemist, samas selle tulemusel alaneb ka analüüsitava aine kontsentratsioon [28].

Teiseks võimaluseks on parandada proovi kromatograafilist lahutust. Varieerides statsionaarseid faase ja muutes mobiilse faasi omadusi, saab parandada analüüsitava ühendite ning muude ainete kromatograafilist lahutust, mis omakorda vähendab maatriksiefekte. Samas toimib selline lähenemine maatriksi mõjudele, mis esinevad piigi kujul. Kirjanduses on näidatud ka, et analüüsiv ühend ja maatriksi komponent elueeruvad koos, kuna analüütiline kolonn on ülekoormatud, sellisel juhul aitab kahe-dimensionaalse vedelikkromatograafia (2D-LC-LC) kasutamine [33,36].

Kolmas võimalus on kasutada ESI asemel APCI ionallikat, mis on maatriksiefektide suhtes vähem tundlik [37], samas ei pruugi APCI sobida kõikidele analüüsitavatele ainetele (vaata Joonis 2).



Joonis 2. AP allikate sobivus sõltuvalt aine polaarsusest ja molekulmassist.[38]

Maatriksiefekti arvesse võtmine/kompenseerimine

Maatriksiefektide arvesse võtmine või kompenseerimine saavutatakse enamasti erinevate kvantitatiivse analüüsi tehnikatega nagu maatriksvastav kalibratsioon, lisamismeetod, IDMS, ECHO piigi tehnika. Järgnevalt on tehtud ülevaade eespool nimetatud meetoditest ning nende positiivsetest ja negatiivsetest külgedest.

Paljuses teadusartiklites kasutatakse maatriksiefekti kompenseerimiseks maatriksvastavat kalibratsiooni [15,16,39,40], see tähendab, et kalibratsioonilahused valmistatakse kasutades uuritava maatriksi ekstrakti. Vaatamata laiale levikule on meetodil ka mõningad puudused:

- Kui tuleb analüüsida mitmeid eri maatrikseid, siis vajalike maatriksvastavate kalibratsioonilahuste valmistamine on suhteliselt töömahukas. SANCOs on öeldud, et rutiinseks kalibratsiooniks kasutatakse representatiivseid maatrikseid, kui on näidatud, et maatriksiefektid on sarnased. Samas kui tulemused on MRLi lähedased või ületavad seda, siis tuleb kalibratsioon teha samasse maatriksisse, mida analüüsitakse. Lisaks on öeldud ka, et kui maatriksiefekt erinevate proovide ja maatriksite osas muutub, siis tuleks kasutada lisamismeetodit või IDMS-i.[29]
- Kalibratsioonilahuste valmistamiseks kasutatavat maatriksiekstrakti tuleb eraldi analüüsida kinnitamaks, et tegu on pestitsiidijääkidest vaba maatriksiga. Samas võib osutuda juba sobiva pestitsiidijääkidest puhta maatriksi hankimine problemaatiliseks.
- Ensümaatiline lagunemine, hüdroolüüs ning termiline lagunemine on International Program on Chemical Safety pestitsiidide monograafiate [1] põhjal ühtedeks põhilisteks pestitsiidijääkide lagunemise teedeks. Seega olenevalt pestitsiidijääkide omadustest on võimalik nende lagunemine maatriksi ekstraktis. Samas ühes töös leiti, et standardite lahjendamine lahja banaaniekstraktiga jällegi stabiliseeris mõningaid pestitsiidijääke [41].
- Sarnaste maatriksite vaheline erinevus (sõltuvus sordist, korje ajast ning tingimustest, geograafilisest asukohast) [42;43].

Viimane punkt on eriti oluline kuna, proovi veesisaldus ja happelisus mõjutavad ühendite faaside vahelist jaotumist proovi ettevalmistuse käigus. See ei mõjuta ainult analüüsitava ühendi saagist vaid ka kaasa ekstraheeruvate ühendite hulka.[40] Seega võib, kasutades näiteks maatriksvastavat kalibratsiooni, toimuda maatriksiefekti ala- või ülekompanseerimine. Meie teada ei ole veel avaldatud laiaulatuslikku uurimust maatriksiefektide varieeruvuse kohta erinevate maatriksite ning maatriksirühmade siseselt, sama on korduvalt toonitanud ka Niessens et al. artiklis [28]. Meie uurimisgrupi veel mitte avaldatud tulemustel on sama liigi sisesed erinevused piisavad, et avaldada mõju tulemustele [34]. Seega võib juhtuda, et maatriksvastava kalibratsiooniga saadakse mõnevõrra halvemad tulemused kui loodetud.

Lisamismeetodil, võrreldes maatriksvastava kalibratsiooniga, on mõningad eelised, kuna see ei vaja pestitsiidijääkidest vabu maatrikseid. Samuti ei mõjuta analüüsi sortide vahelised ning sisesed erinevused, lisaks ka erinevused analüüsitava maatriksi ning representatiivse maatriksi vahel. Võib öelda, et lisamismeetod on „ülim maatriksvastav-kalibratsioon”, kuna see tehakse analüüsitava maatriksisse. Samas rutiinanalüüsilabori seisukohast tekitab lisamismeetod mõningaid komplikatsioone, kuna proovide ettevalmistus ning analüüs tuleb läbi viia vähemalt kaks korda ühe proovi jaoks (ilma lisamiseta ning lisamisega). Selline lähenemine võib enamus juhtudel osutuda ebapraktiliseks.

Lisaks eelnevatele võib kasutada maatriksiefekti kompenseerimiseks ECHO piigi tehnikat [44,45] või IDMS analüüsi [46]. ECHO piigi tehnika puhul süstitakse järjest proov ning standard tekitades olukorra, kus standardi ning proovi analüüsitava aine piigid elueeruvad lähestikku. See tehnika ei sobi kasutamiseks kui piigid tugevalt „sabatavad” või kui maatriksiefekti põhjustavad komponendid elueeruvad piigina.

IDMS meetod on lisamismeetodi erijuht, kus lisatakse analüüsitava aine isotoopärgistatud analoogi, ning kvantiseerimine viiakse läbi massispektri joonte suhete alusel proovis, lisatavas lahuses ning rikastatud proovi lahuses. IDMS analüüs annab tavalise lisamismeetodiga võrreldava või parema tulemuse. Vajalike võimaluste ning oskuste baasil on IDMS analüüsi võimalik läbi viia ka primaarmetodi tasemel, mis annaks eelpool nimetatutest ehk kõige täpsema ja paremini jälgitava tulemuse. Samas isotoopmürgistatud analoogid on kallid ning neid ei ole kaubanduslikult võimalik osta kõigi uuritavate pestitsiidide jaoks. Lisaks sellele tekib IDMS analüüsi puhul takistus ka instrumentaalanalüüsi poolt, kui kasutatakse pestitsiidijääkide määramiseks multimeetodeid. Nimelt IDMSiga kahekordistub analüüsitavate ühendite arv ning vastavalt suureneb ka vajadus registreerida kromatograafilise jooksu ajal rohkem andmepunkte. Andmepunktide arv on oluline piigi kuju väljajoonistumise seisukohast. Samas on IDMS näol tegu väga hea meetodiga näiteks referentsstandardite referentsväärtuse määramiseks.

1.6 Valideerimise nõuded

Pestitsiidijääkide analüüsi meetodite valideerimise kohta leidub teavet erinevate riiklike ja ühenduste poolt koostatud juhenditest. Antud töö puhul on aluseks võetud EL kvaliteedikontrolli protseduuride juhend pestitsiidijääkide analüüsil (Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis. Document N° SANCO/10232/2006

24/March/2006) [29]. Selle juhendi eesmärgiks on kirjeldada meetodi analüütilise kvaliteedi kontrolli nõudeid, et tagada saadud tulemuste kehtivust, kui kontrollitakse vastavust MRLidega, või hindamaks tarbijani jõudvat pestitsiidijääkide kogust.

Antud juhend on kooskõlas ISO/EIC 17025 ning peab tagama et ei antaks vale positiivseid tulemusi ning et saadud tulemused oleksid võimalikult hea täpsusega.

Standardlahuste hoidmine

Vastavalt SANCOle tuleb pestitsiidi standardaineid hoida pimedas ja jahedas (soovitavalt sügavkülmas) et vähendada valgusest, niiskusest ning temperatuurist tingitud lagunemist. Standardite puhtus on antud valmistaja poolt, säilivustähtaega võib pikendada kuna tootja annab need enamasti vähem rangete hoiutingimuste jaoks. Seega võib hoida standardeid nii kaua, kuni ei ole märgata standardainete märkimisväärset lagunemist.

Valideerimise ning maatriksvastava kalibratsiooni puhul võib kasutada esinduslikku maatriksit. See tähendab, et maatriksid grupeeritakse vastavalt nende keemilise koostise (vee hulk, happed, suhkrud, valgud, mitmesugused lagunemisproduktid ja muu), füüsikaliste karakteristikute ja/või maatriksiefektide järgi. EL seadusandluses on maatriksid jagatud 14 gruppi, millest kuuluvad antud töö valdkonda 11. Soovi korral on võimalik maatriksigruppide arvu tõsta.

Tabel 3. SANCO nõuded pestitsiidianalüüsi meetodi valideerimistulemustele. [29]

Kontsentratsioonivahemik (mg/kg)	Korratavus		Keskmise saagise vahemik %
	RSD _A %	RSD _L %	70 – 110
0,001 – 0,01	30	32	70 – 110
>0,01 – 0,1	20	22	70 – 110
>0,1 – 1	15	18	70 – 110
>1	10	14	70 – 110

RSD_A – analüüsi tulemuse suhteline standardhälve arvestamata proovi mittehomogeensuse panust.

RSD_L – labori tulemuse suhteline standardhälve arvestades 10% proovi võtmise heterogeensust.

Meetodi valideerimise käigus tuleb leida pestitsiidijäägi keskmine saagis, tulemuse täpsus ja meetodi tundlikkus. See tähendab, et tuleb läbi viia lisamiskatsed vähemalt viie paralleeliga madalal (nt. teatamispiir – *reporting limit*) ja kõrgel kontsentratsioonil (nt. MRL). Ning seda valitud representatiivsete maatriksitega. Kui kasutatakse multimeetodeid, siis valitakse lihtsalt madal ja kõrge kontsentratsioon. Saadud lisamiskatsete tulemused peavad vastama Tabelis 3 toodule.

1.7 Määramatus pestitsiidijääkide analüüsis

Kuna pestitsiidijääkide puhul analüüsitakse ühendite kontsentratsiooni järgedes sageli vägagi keerulistes maatriksites, siis määramatuse hinnangud on tavaliselt suhteliselt suured ning võivad ulatuda ka 50 – 100 % ($k=1$). Ühest küljest on see mõistetav, kuna tulemusi tavaliselt saagisega ei korrigeerita, võivad esineda tugevad maatriksiefektid, pestitsiidijäägid võivad laguneda (ka erinevas ulatuses) proovi ettevalmistuse käigus, valimi võtmine ning laboratoorse proovi saamine toob lisa määramatuse [29]. Samas võib tekkida küsimus, milline on saadud tulemuste tähendus.

Kõige parema (kuigi võib-olla ülehinnatud) ning selgemini interpreteeritava määramatuse hinnangu saab ISO GUM meetodil [47], kus identifitseeritakse kõik võimalikud määramatuse allikad ning antakse siis neile adekvaatne põhjendatud määramatuse hinnang. Ulatuslik määramatuse arvutus nagu näiteks simvastatiini HPLC analüüsil [48] on põhimõtteliselt võimalik kuid väga keeruline. Määramatuse allikad nagu näiteks laboratoorse proovi esinduslikkus, ekstraheerimise korratavus, LC-MS analüüsi korratavus on lihtsalt üles loetavad, kuid koosnevad mitmest komponendist, millede hindamine osutub sageli keeruliseks. Lisaks on oluline ka ajalise faktori ning tegeliku kasu vahekord (otstarbekus), kuna tegu on multimeetodiga, mis huvitab eriti rutiinanalüüsi laboreid.

Sarnaseid analüüse silmas pidades on loodud Nordtest määramatuse hindamise juhend [49], mis on vägagi sobilik pestitsiidijääkide analüüsis kasutamiseks. Tegemist on põhimõtteliselt ISO GUM piirjuhuga, kus tegeletakse üldiste statistiliselt leitavate määramatuse komponentidega – juhuslik ning süstemaatiline. Juhuslikku komponenti hinnatakse pikaajalise korratavuse alusel (saagise ja instrumentaalanalüüsi korratavus), süstemaatilist aga võrdlusmõõtmiste tulemuste alusel või kasutades standardreferentsmaterjale. Viimane on pestitsiidijääkide analüüsi puhul toidus keeruline, kuna vastavaid referentsmaterjale ei ole enamasti saada. Kuna rutiinanalüüsilaborid peavad

akrediteerimise ning kvaliteedikontrolli raames osalema võrdlusmõõtmistel ning koostama regulaarselt x-kaarte ja määrama proovi ettevalmistuse saagist mõnes maatriksis [29], siis on see sobiv ja mugav meetod määramatuse hindamiseks (näiteks [50]).

Samas lisaks Nordtest sarnastele lähenemistele loetakse SANCOs vastuvõetavaks ka juhud, kui tulemustele antakse kindel määramatuse hinnang. Näiteks EL pädevuskatsete raames (puu- ja juurviljadele kasutades multimeetodit) on leitud, et 50 % laiendmääramatust (95 % tõenäosusega) katab üldjuhtudel Euroopa laborite vahelised variatsioonid. Sama määramatust on soovitatud kasutada ka olukordades kus leiab aset MRLi ületamine. Seega võib labor anda oma tulemusele ka 50 % laiendmääramatuse kui on võimeline tõestama, et tema enda laiendmääramatus on alla 50 %.[29]

2 Eksperimentaalne osa

2.1 Aparatuur

Proovi ettevalmistuse käigus kasutati QuEChERS'i puhul Robot Coupe Blixer 4 (Robot Coupe USA, Jackson, MS, USA) ning Luke puhul samuti Blixer 4 ja lisaks ka Stephan Cutter UM 12 (Stephan U. Soehne GmbH & Co, Hamelen, Saksamaa). Luke proovi ettevalmistuse teises astmes rakendati ekstraheerimisel Waring tüüpi suure-kiiruselist segistit (Dynamics Corporation, New Hartford, CT, USA). QuEChERS ettevalmistuse käigus kasutati Eppendorf 5810 tsentrifuugi (Eppendorf AG, Hamburg, Saksamaa), proove hoiti 50 ml Teflon® tsentrifuugiküvettes (Nalgene, Rochester, NY, USA). Proovide lõppekstraktid filtreeriti kasutades 0,45 µm pooridega süstlafiltritega (Pall, East Hills, NY, USA). Proovide kaalumiseks ja tsentrifuugi tasakaalustamiseks kasutati kaalu Precisa 3500D (täpsusega kaks kohta peale koma) ning soolade kaalumiseks kaalu Precisa XT-320M (täpsusega kom kohta pärast koma) (Precisa, Dietikon, Šveits).

Proovide analüüsiks kasutati Waters/Micromass Quatro Premier kolmekordset kvadрупooli ES ionisatsiooniga, millele eelnes proovide kromatograafiline eraldamine Waters 2695 moodulil (Waters Finland, Helsinki, Soome) kasutades Purospher Star RP-18 (*double endcapped*) kolonnil, 3 × 125 mm 5 µm osakese suurusega (Merck, Darmstadt, Saksamaa). Aparatuuri juhtimiseks, andmete kogumiseks, integreerimiseks ja kalibratsioonigraafiku koostamiseks ning kvantiseerimiseks kasutati MassLynx 4.1 tarkvara (Waters Finland). Andmete edasine töötlemine ja esitamine viidi läbi kasutades Microsoft® Excel 2002 tarkvara.

2.2 Reaktiivid

Pestitsiidide (vaata Tabel 6) standardid osteti Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Saksamaa).

Standardlahused: individuaalsed pestitsiidide standardlahused (1000 ppm) valmistati atsetoonis, säilitatakse pimedas 4°C juures kaks aastat. Seda vahemikku pikendatakse või lühendatakse vastavalt sellele, kas võrreldes varasemate standardlahustega on näha olulist standardi lagunemist. 10 ppm pestitsiidide segu standardlahus valmistatakse samuti atsetoonis

ning valmistatakse iga poole aasta tagant uus (säilitamine pimedas 4°C juures). Kalibratsioonilahused (0,3, 0,1, 0,01, 0,005 ppm) valmistatakse 10 ppm segu standardlahusest lahjendamise teel metanoolis, kalibratsioonilahused valmistatakse iga järjendi (i.k. *sequence*) jaoks uued.

Proovi ettevalmistuse käigus kasutati järgmisi solvente ja reaktiive: atsetonitril (*isocratic grade*, VWR Prolabo), sipelghape (98% puhtus, DBH Aristar) (VWR International Oy, Espoo, Soome); atsetoon (*pestscan grade*), petroleeter (*reagent grade*, 40 – 60°C) (Labscan Limited, Dublin, Iirimaa); metanool (*HPLC gradient grade*), NaCl (*reagent grade*) (Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, Holland); NaSO₄ (*p.a.*, veevaba), ammooniumatsetaat (*p.a.*), MgSO₄ (*p.a.*, veevaba, peen pulber) (Merck); MgSO₄ (*reagent grade*, veevaba, jahvatatud, Fluka), dinatriumvesitsitraatseskvihüdraat (*purum p.a.*, ≥ 99,0 %, Fluka), trinaatriumtsitraatdihüdraat (*puriss.*, 99 – 100,5 % arvutatud kuivatatud aine kohta, Riedel-de-Haën) (Sigma-Aldrich GmbH (Stainheim, Saksamaa); Bondesil-PSA 40 µm (Varian, Palo Alto, CA, USA).

Magneesiumsulfaati kuumutati üleöö muhvelahjus 500°C, et eemaldada ftalaadid ja võimalikud kristallvee jäägid.

LC-MS eluendid: 1 mM ammooniumatsetaat + 0,1 % sipelghape deioniseeritud vees (A), metanool (B). Eluendi puhverlahuse valmistamiseks kasutati deioniseeritud vett Milli-Q-Plus seadmest ning puhverlahus filtreeriti läbi 0,45 µm pooridega HVLP membraanfiltrit (Millipore Oy, Espoo, Soome).

2.3 Proovid

Uuritavatest pestitsiidijääkidest vabad maatriksid olid Luke proovi ettevalmistusmeetodiga kasutatud lehtsalat, mandariin, rukis ning QuEChERSi puhul lehtsalat, apelsin, kaer. Lehtsalat osteti kohalikust toidupoest, apelsinid ning mandariinid osteti orgaaniliselt kasvatatud toiduainete poest, kaer ja rukis saadi kohalikult talumehelt, kes ei kasutanud pestitsiide. Kuna Luke ja QuEChERS eksperimendid viidi läbi poole aastase vahega, siis tsitruseliste ning teravilja grupis ei õnnestunud kasutada sama maatriksit. Kasutatud salat oli aga samalt tootjalt ning sama sort.

2.4 Proovi ettevalmistus

Proovide ettevalmistusel võrreldakse kahte modifitseeritud meetodit.

2.4.1 Luke

Luke meetod võrreldes [18] toodule on vähendatud proovi kogust (vastavalt vähendatud ka kasutatavate ekstraheerimis- ning puhastussolventide ruumalaid). Lõppekstrakt saadi metanoolis, mis on sobilik LC-MS analüüsis kasutamiseks.

50,0 g homogeniseeritud proovi kaalutakse kiirsegaja kannu ja lisatakse 100 ml atsetooni. 2 ekstraheerimise järel vaakumfiltreeritakse segu läbi paberfiltri. Filtrikook ning kiirsegaja kann pestakse 30 ml atsetooniga. Saadud lahuse ruumala mõõdetakse gradueeritud silindris ning märgitakse üles edasisteks arvutusteks. 40 ml ekstrakti puhastatakse jaotuslehtis lisades 100 ml petrooleeter:diklorometaan segu 1:1 ja ekstraheerides 2 minutit. Alumine (vee) faas kogutakse varem kasutatud mõõtsilindrisse, ülemine orgaanika kiht filtreeritakse läbi 3 – 4 cm veevaba NaSO₄ kihi (lehtis, mille ava on suletud vatiga). Saadud kuivatatud ekstrakt kogutakse 500 ml rotaatorkolbi. Eraldatud vee kiht kantakse tagasi jaotuslehtisse, vedelik küllastatakse NaCl-ga ning ekstraheeritakse kaks korda (1 minut jooksul) 50 ml diklorometaaniga. Mõlemal juhul filtreeritakse alumine orgaanika kiht läbi NaSO₄ ning lisatakse varem kogutud ekstraktile. Seejärel kasutades rotaatoraurutit viiakse ekstrakti ruumala ligikaudu 2 ml. Viimane lahusti kogus eemaldatakse õrnas N₂ joas (ei tohi päris kuivaks aurutada) ning jääk lahustatakse 10 ml metanoolis. Saadud ekstrakt filtreeritakse läbi süstlafiltrini ning analüüsitakse LC-MS meetodil.

2.4.2 QuEChERS

QuEChERS erineb vaid mõnevõrra viites [40] tooduga.

Jahutatud (mitte läbi külmunud) proov homogeniseeritakse kasutades Blixer 4 purustajat/homogeniseerijat. 10,0 g proovi kaalutakse korgiga suletavasse 50 ml Teflon tsentrifuugiviaali. Samas lisatakse ka vajadusel vajalik kogus standardainete segu, samuti võib lisada sisestandardi. Tsentrifuugiviaali loksutakse intensiivselt käes ühe minuti jooksul, mille järgi lisatakse soolade segu (soolade segu koostis 4 g veevaba MgSO₄, 1 g NaCl, 1 g

trinaatriumtsitraatdihüdraat, 0,5 g dinaatriumvesiniktsitraateskvihüdraat). Seejärel loksutakse intensiivselt 1 minuti vältel, saadud segu tsentrifuugitakse 5 minutit 4000 p/min juures. Selle tulemusel moodustusid enamasti neli kihti (ülemine orgaanika, proovi maatriks, keskmine vesilahus, alumine soolad ja proovi maatriks). 8 ml ülemist orgaanika kihti puhastatakse ja kuivatatakse PSA (0,2 g) ja MgSO₄ (1,2 g) lisamisega. Saadud segu loksutatakse intensiivselt 30 sekundit ning tsentrifuugitakse 5 minutit 4000 p/min. 5 ml puhastatud ekstrakti kantakse üle lihvkorgiga katseklaasi ning hapustatakse 50 µl 5 % sipelghappe lahusega atsetonitriilis. Saadud lahus segatakse, filtreeritakse läbi süstlafiltri ning analüüsitakse LC-MS meetodil.

2.5 LC-MS analüüs

Kasutatav LC-MS meetod oli eelnevalt välja töötatud ning valideeritud. Analüüsid viidi läbi seadme lineaarses alas, lineaarsuse kontrollimiseks jälgiti kalibreerimisgraafikute R² ning residuaale.

Vedelik-kromatograafiline eraldamine viidi läbi eluendi voolukiirusel 0,3 ml/min, süsti suuruseks 5 µm. Binaarne gradient-elueerimis programm on toodud Tabelis 4.

ESI-MS/MS analüüs viidi läbi positiivses polaarsuses kasutades Tabelites 5, 6 ja 7 toodud seadeid.

Tabel 4. Gradiendi programm.

Aeg (min)	B (%)
0	10
20	100
25	100
25,1	10
32	10

Tabel 5. Üldised MS parameetrid.

Parameeter	Väärtus
Kapillaari pinge	3,0 kV
Ekstraktori pinge	5,0 V
Läätse raadiosageduslik pinge	0,2 V
Ioonallika temperatuur	120°C
Desolvateerimis-temperatuur	400°C
Koonusegaasi voolukiirus (N ₂)	50 l/h
Desolvateerimisgaasi voolukiirus (N ₂)	750 l/h
Põrkegaasi rõhk (Ar)	4×10 ⁻³ mbar
Monitoorimisaeg (<i>dwel time</i>)	20 ms

Tabel 6. Aimest sõltuvad LC-MS parameetrid.

Ühend [CAS]	Molekulmass	MRM üleminek (m/z)	Koonuse pinge (V)	Põrkeenergia (eV)	Retent- siooniaeg (min)
Atsetaamipriid [135410-20-7]	222,1	223→126 223→56	28	22 22	13,4
Aldikarb [116-06-3]	190,1	208 ^a (M+NH ₄ ⁺)→116 208 ^a (M+NH ₄ ⁺)→89	10	10 10	15,4
Buprofeiin [69327-76-0]	305,1	306→201 306→116	22	16 16	23,7
Butokarboksiim [34681-10-2]	190,1	191→75	10	10	15,2
Dietofenkarb [87130-20-9]	267,1	268→226 268→180	22	16 16	19,9
Difenokonasool [119446-68-3]	405,1	406→251 406→188	34	28 46	22,9
Diflubensuroon [35367-38-5]	310,0	311→158 311→141	16	16 34	21,8
Dimetootat [60-51-5]	229,0	230→199 230→171	16	10 16	13,4
Dimetomorf [110488-70-5]	387,1	388→301 388→165	34	22 34	20,0 + 20,5 ^b
Dinikonasool [83657-24-3]	325,1	326→70 326→159	34	28 28	23,0
Epoksikonasool [133855-98-8]	329,1	330→121 330→101	28	22 46	21,4
Etiofenkarb [29973-13-5]	225,1	226→107 226→79	22	22 22	18,0
Etirimol [23947-60-6]	209,2	210→140 210→98	40	28 28	13,7
Etofenproks [80844-07-1]	376,2	394 ^a (M+NH ₄ ⁺)→359 394 ^a (M+NH ₄ ⁺)→177	16	16 16	26,3
Etüültrineksapak	252,1	253→207	22	16	19,4

[95266-40-3]		253→69		22	
Famoksadoon [131807-57-3]	374,1	392 ^a (M+NH ₄ ⁺)→331 392 ^a (M+NH ₄ ⁺)→238	16	10 22	22,2
Fenamifoss [22224-92-6]	303,1	304→217 304→202	34	22 40	21,6
Fenbukonasool [114369-43-6]	336,1	337→125 337→70	34	22 22	21,4
Fenheksamiid [126833-17-8]	301,1	302→97 302→55	40	28 35	21,0
Fenoksükarb [3766-81-2]	301,1	302→116 302→88	22	16 22	21,8
Flukviinkonasool [136426-54-5]	375,0	376→307 376→272	34	28 34	21,2
Foksiim [14816-18-3]	298,1	299→129 299→97	22	10 22	22,8
Foraat [298-02-2]	260,0	261→75 261→199	10	10 10	23,0
Heksütiasoks [78587-05-0]	352,1	353→168 353→228	22	28 28	24,3
Imasaliil [35554-44-0]	296,0	297→159 297→255	34	28 28	16,5
Imasamoks [114311-32-9]	305,1	306→261 306→193	40	22 22	14,1
Imidaklopriid [138261-41-3]	255,1	256→175 256→209	28	22 22	12,2
Kinoksüfeen [124495-18-7]	307,0	308→197 308→162	34	34 40	24,8
Karbendasiim [10605-21-7]	191,1	192→160 192→132	28	34 34	9,6
Klofentesiin [74115-24-5]	302,0	303→138 303→102	22	22 22	23,4
Mepanipüriim [110235-47-7]	223,1	224→106 224→77	40	34 34	22,0

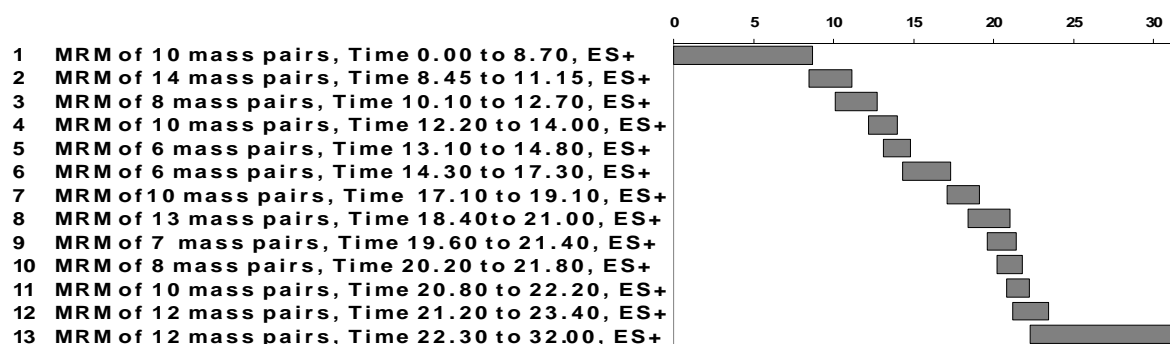
Metiokarb [2032-65-7]	225,1	226→121 226→169	22 22	22 22	20,4
Metomüül [16752-77-5]	162,0	163→88 163→106	16	10 10	10,2
Metüülöksüdemetoon [301-12-2]	246,0	247→169 247→105	22	16 16	9,8
Mükobutaniil [88671-89-0]	288,1	289→70 289→125	28	22 22	20,6
Oksamüül [23135-22-0]	219,1	237 ^a (M+NH ₄ ⁺)→72 237 ^a (M+NH ₄ ⁺)→90	10	16 16	9,2
Paklobutrasool [76738-62-0]	293,1	294→70 294→125	28	22 40	20,4
Propamokarb [24579-73-5]	188,2	189→102 189→144	22	20 20	7,0
Pümetrosiin [123312-89-0]	217,1	218→105 218→79	34	28 28	6,3
Spinosad A [131929-60-7]	731,5	732,5→142	50	34	20,3
Spinosad D [131929-63-0]	745,5	746,5→142	50	34	20,8
Spiroksamiin [118134-30-8]	297,3	298→144 298→100	28	20 20	18,2
Tebufenpüraad [119168-77-3]	333,2	334→145 334→117	34	28 34	23,8
Tiabendasool [148-79-8]	201,0	202→175 202→131	40	34 34	11,1
Tiaklopriid [111988-49-9]	252,0	253→126 253→99	34	28 28	14,4
Tiametoksaam [153719-23-4]	291,0	292→211 292→132	22	16 16	10,6
Triflumuroon [64628-44-0]	358,0	359→156 359→139	22	16 34	22,5
Tsüasofamiid	324,0	325→108	22	16	21,4

[120116-88-3]		325→103		40	
Tsüprokonasool	291,1	292→70	32	22	20,3 +
[94361-06-5]		292→125		28	21,0 ^b
Vamidotioon	287,0	288→146	16	16	13,0
[2275-23-2]		288→118		22	

^a Adduktsioon

^b Kromatograafiliselt osaliselt eraldatud isomeeride segu, mis integreeriti ühepiigina

Table 7. MRM kanalids.



2.6 Protsessi efektiivsuse, maatriksi efekti ning saagise määramine

Protsessi efektiivsused määrati rikastamiskatsetest kontsentratsioonil 0.1 ja 0.01 mg/kg. Iga maatriksi ning kontsentratsioonitaseme puhul viidi läbi kuus paralleelmõõtmist, mille tulemuste põhjal arvutati ka protsessi efektiivsuse suhteline standardmääramatus. Maatriksi efektide määramiseks kasutati maatriksi ekstrakti (pestitsiidijääkidest vaba), mida rikastati 0.1 mg/kg tasemel kasutades pestitsiidide segu standardit metanoolis. Maatriksiefekti määramine viidi mõlema meetodi puhul läbi igas maatriksis ühe korra.

Protsessi efektiivsuse ja maatriksi efekti määramise tulemustest arvutati Võrrandi 2 põhjal saagised.

3 Tulemused ja arutelu

Töö käigus mõõdetud ning arvutatud tulemused, 50 pestitsiidijäägi kohta kasutades kahte erinevat proovi ettevalmistusmeetodit, on toodud koondtabelina Lisas 1. Pestitsiidijäägid on järjestatud retentsioonaja kasvamise alusel. Saadud tulemuste võrdlemine võimaldab hinnata QuEChERS ja Luke proovi ettevalmistusmeetodi sobivust valitud polaarsete pestitsiidijääkide analüüsil väherasvastes maatriksites.

Luke puhul leidis aset mõningate pestitsiidijääkide lagunemine proovi ettevalmistuse käigus (Etiofenkarb, Foraat, Metiokarb, Metüüloksüdemeton), seega määrati ka metaboliitide hulgad ning tulemus väljendati pestitsiidi ning selle metaboliitide summana. QuEChERS puhul olid mõnel üksikul juhul näha metaboliitide jälgi, kuid kontsentratsioonid jäid kaugelt alla madalaima kalibreeritud punkti, seega ei olnud vajadust metaboliitidega tulemust korrigeerida.

Protsessi efektiivsus on parameeter, mis võtab endas arvesse nii saagist kui maatriksi efekti. Seega proovi ettevalmistusmeetodite protsessi efektiivsuste võrdlemine annab ülevaate kahe meetodi sobivusest ning võimekusest.

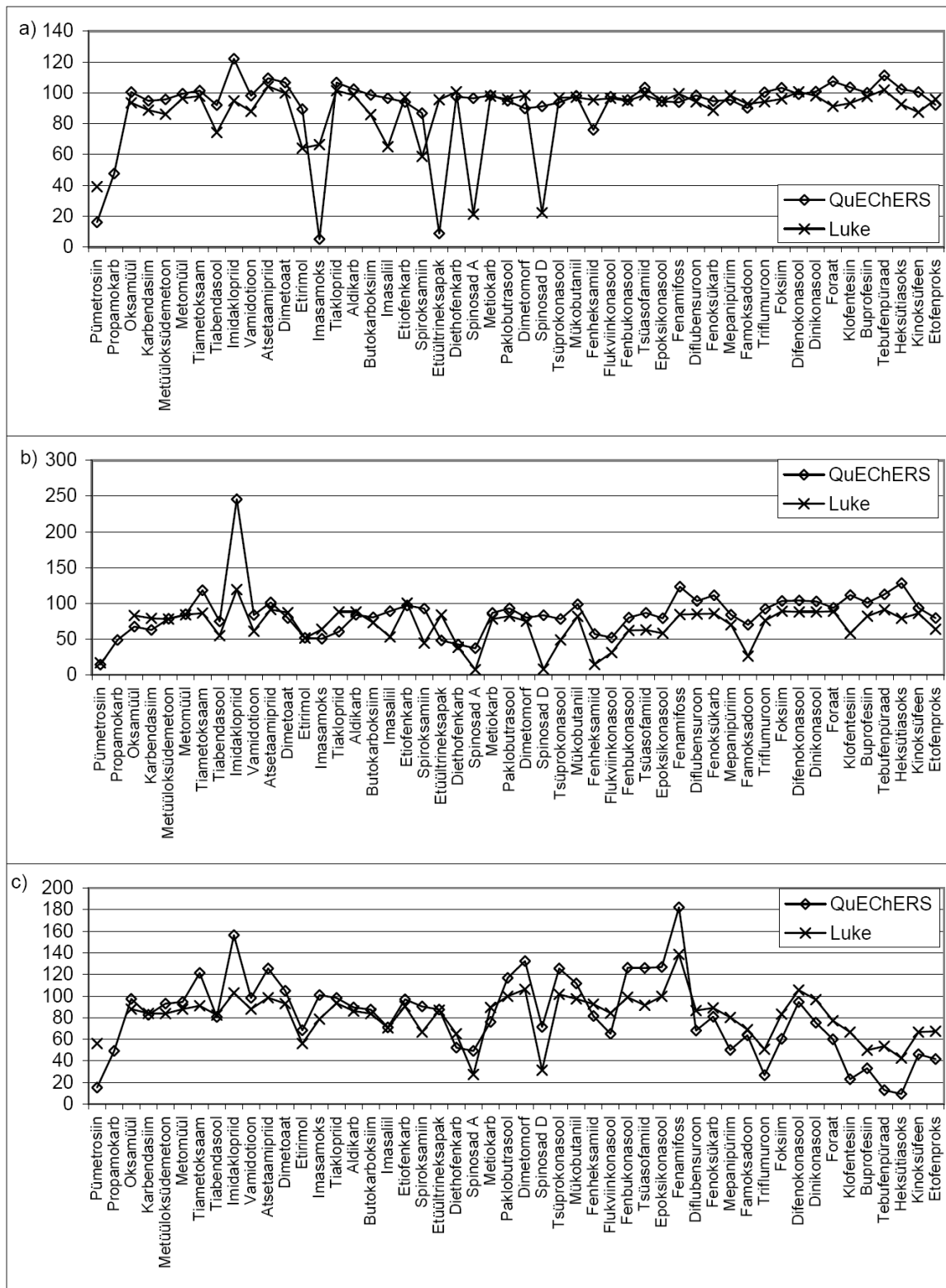
Jooniselt 3 on näha, et kahe meetodi protsessi efektiivsuse graafikud on võrreldavad. Samas võib märgata, et esinevad pestitsiidijäägid mille puhul on madal protsessi efektiivsus vaid ühe proovi ettevalmistusmeetodiga. Näiteks võib tuua Spinosad A ning D Luke meetodi puhul ja Imasamoksi ning Etüültrineksapak QuEChERS meetodiga. Selle põhjuseks võib olla kas madal saagis või ionisatsiooni efektiivsust vähendav maatriksi efekt. Samas üldine meetodi tulemuste hajusus 100 % protsessi efektiivsuse ümber on sarnane.

Pestitsiidijääkide analüüsi multimeetodite puhul on soovituslik saada võimalikult sarnased maatriksi efektid erinevates maatriksites. See võimaldaks lihtsat tulemuste interpreteerimist erinevates proovides. Samas võiks siis ka kasutada lehtsalati ekstraktis valmistatud kalibratsiooni lahuseid (maatriksvastav kalibratsioon) pestitsiidijääkide analüüsiks näiteks apelsinis. Luke ja QuEChERSi puhul ei ole see aga võimalik kuna protsessi efektiivsused on tugevalt sõltuvuses maatriksist ja pestitsiidijäägist.

Teiseks oluliseks näitajaks on proovi ettevalmistusmeetodi korratavus, mida võib väljendada selle suhtelise standardhällbega (RSD).

QuEChERS proovi ettevalmistusmeetodi puhul jäid RSD väärtused vahemikku 0,6 – 51,5 % (keskmise 5,1 %) kontsentratsioonil 0,1 mg/kg ning 0,9 – 48,8 % (keskmise 6,5 %)

kontsentratsioonil 0.01mg/kg. Samad suurused Luke puul olid 1,5 – 74,8 % (keskmine 7,6) ning 0,5 – 46,9 % (keskmine 6,4).



Joonis 3. QuEChERS ja Luke protsessi efektiivsused kontsentratsioonil 0,1 mg/kg vastavalt a) lehtsalat, b) apelsin/mandariin, c) kaer/rukis.

Kuna protsessi efektiivsus koosneb saagisest ja maatriksiefektist, siis võib protsessi efektiivsuse suhtelist standardhälvet kasutada ka suhteliselt usaldusväärse saagise RSD hinnanguna. Vastavalt EL juhenditele peaks aga saagise RSD olema väiksem 20 % kui rikastamiskontsentratsioon jääb vahemikku 0,1 – 0,01 mg/kg ning 30 % kui rikastamiskontsentratsioon jääb vahemikku 0,01 – 0,001 mg/kg.[29] Tabelis 8 on ära märgitud pestitsiidijäägid, millede puhul RSD väärtused ületavad eespool toodud piire.

Konts. tase	Meetod	n*	Pestitsiidijääk (maatriks, RSD)
0.1 mg/kg	QuEChERS	5	Imasamoks (lehtsalat, 21 %), Famoksadoon (lehtsalat, 23 %), Etofenproks (lehtsalat/apelsin, 26/52 %), Spiroksamiin (apelsin, 21 %)
	Luke	10	Spinosad A (kõikides maatriksites, maksimaalne 78 %), Spinosad D (kõikides maatriksites, maksimaalne 73 %), Pümetrosiin (mandariin, 21 %), Spiroksamiin (mandariin, 24 %), Etofenproks (mandariin, 28 %), Heksütiasoks (rukis, 22%)
0.01 mg/kg	QuEChERS	1	Etofenproks (apelsin, 49 %),
	Luke	3	Tiabendasool (mandariin, 46 %), Imasamoks (mandariin, 47 %), Spinosad D (rukis, 35 %)

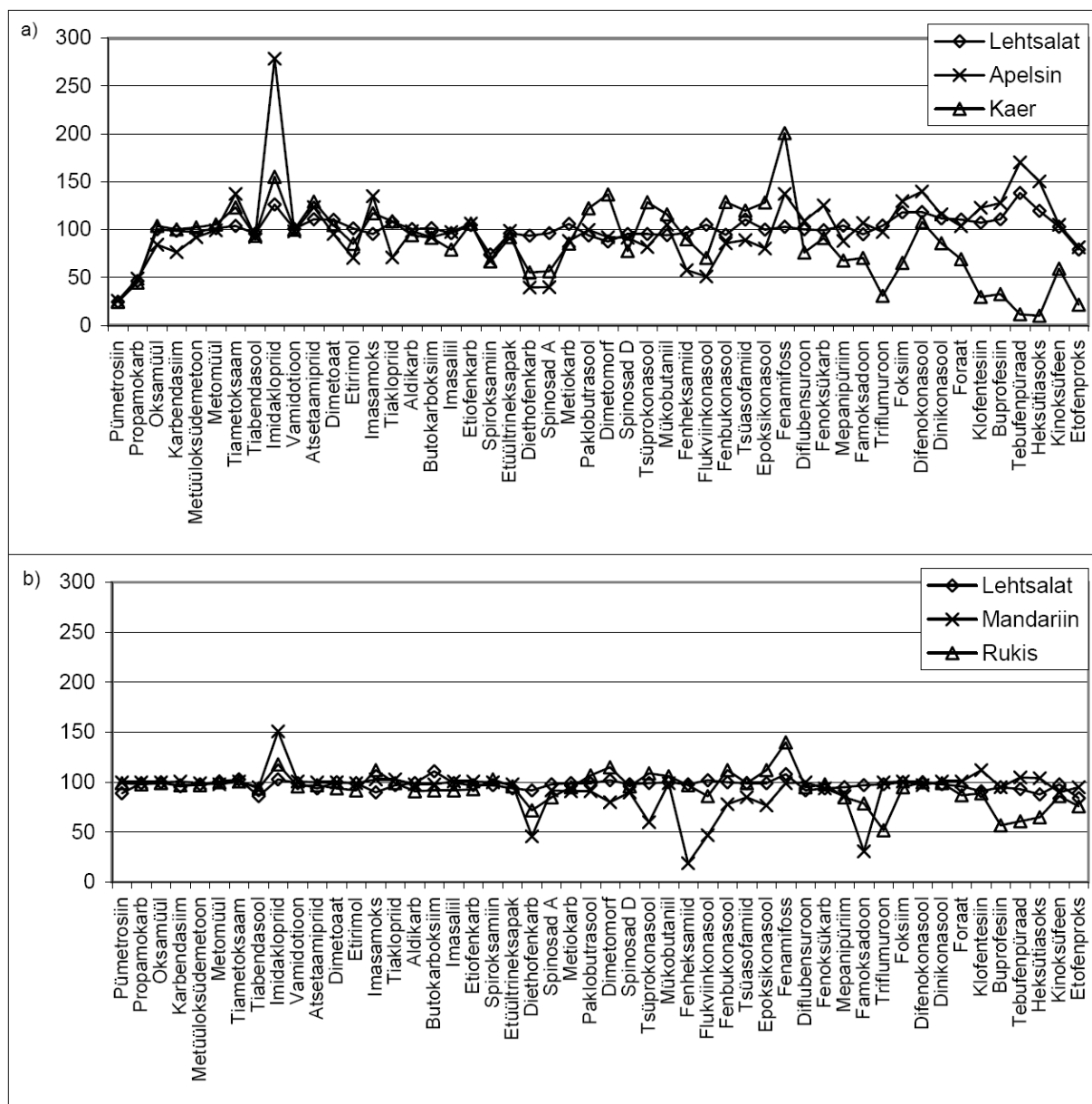
*Pestitsiidijääkide arv mis ületavad allikas [29] toodud RSD piire.

Protsessi efektiivsuse andmed ei andnud selget alust eelistamiseks ühte proovi ettevalmistusmeetodit teisele. Sellisel juhul on QuEChERS parimaks valikuks kui kiire ja ökonoomne meetod.

Luke ja QuEChERS edasiseks uurimiseks hinnati nende maatriksi efekte ning saagist. Maatriksi efektid Luke puhul kõigis valitud proovides on suhteliselt väikesed (100 % lähedal), vaid suuremate retentsiooniaegadega ühenditele on see mõnevõrra suurem (vaata Joonis 4). QuEChERSi puhul aga on efektid ning nende ulatus tugevalt sõltuvuses uuritavast maatriksist ja ühendist nagu märgitud ka Anastassiades et al. [16,40] poolt. Suuremad mõjud on tingitud atsetonitriili paremast ekstraheerimisvõimest polaarsete ühendite suhtes võrreldes atsetooniga.

Jooniselt 4 võib näha kuni Propamokarbini (retentsiooni aeg 7 minutit) tugevat ionisatsiooni efektiivsuse maha surumist kõigis kolmes maatriksis. See on tingitud pestitsiidijääkidega koos elueeruvatest sooladest (osaliselt lahustunud soolad, mida kasutati proovi ettevalmistuse käigus) ning väga polaarsetest ekstrakti komponentidest. Ionisatsiooni maha surumist saab antud juhul vähendada juhtides kromatogrammi alguse osa jääkidesse, sellisel juhul alaneb ionisatsiooniallikas polaarsete ning iooniliste ühendite hulk. Teise võimalusena võib madaldada gradiendi alguspunkti organilise komponendi sisaldust, kuid antud meetodi puhul on see juba suhteliselt madal (10 %).

Luke ja QuEChERS maatriksi efekti graafikute (Joonis 4) võrdlemisel võib näha



Joonis 4. Maatriki efekt a) QuEChERS ja b) Luke proovi ettevalmistus meetodiga.

mõningaid sarnasusi. Näiteks Imidaklopriidi puhul esineb mõlemal juhul suur ionisatsiooni tugevdamine, sarnase tulemuse annavad väiksemas ulatuses ka Dietofenkarb (maha surumine) ja Fenamifoss (tugevdamine). Selliste tugevate maatriksi efektide põhjused vajavad põhjaliku uurimist, kuid see ei olnud antud töö eesmärgiks. Siinjuures võib vaid meelde tuletada, et LC-ESI-MS analüüsi puhul tekib maatriksiefekt analüüsitava aine ionisatsiooni efektiivsust mõjutavate ühendite esinemise tagajärjel. See muutus on arvatavasti tingitud analüüsitava aine ja segava ühendi vahelisest konkurentsist koha eest tilga pinnal ja/või konkurentsist laengu või laetud osakese üle. Seega tuleneb maatriksiefekt antud ühendi (hetke)omadustest eluendi, uuritava ekstrakti komponentide, seadme parameetrite, seadme ehituse ning muude omaduste koosmõjul.

Lisaks maatriksi efektile arutati Valemi 2 põhjal saagised, mis näitavad otseselt proovi ettevalmistuse protsessi efektiivsust. Kuna atsetonitriil ekstraheerib maatriksist paremini välja polaarseid ühendeid kui atsetoon, siis on ka QuEChERS meetodi saagised (vt. Lisa 3) paremad Luke omadest (vt. Joonis 5). Enamus pestitsiid-maatriks paaride puhul jäid saagised vahemikku 70 – 110 (vaata Lisa 1). Tabelis 9 on toodud pestitsiidijäägid, mis viites [29] toodud tingimustele ei vastanud.

Tabel 9. Luke and QuEChERS proovi ettevalmistusmeetodi saagised.

Meetod ja maatriks	R vahemik [%]	n*	Pestitsiidijääk (saagis)
QuEChERS Lehtsalat	5 – 117	5	Pümetroosiin (66 %), Imasamoks (5.4 %), Spiroksamiin (117 %), Etüültrineksapak (9.3 %), Etofenproks (116 %)
Luke Lehtsalat	19 – 114	8	Pümetroosiin (44 %), Atsetaamipriid (111 %), Etirimol (65 %), Imasaliil (66 %), Spiroksamiin (61 %), Spinosad A (22 %), Spinosad D (23 %), Etofenproks (114 %)
QuEChERS Apelsin	37 – 137	6	Pümetroosiin (55 %), Imasamoks (37 %), Spiroksamiin (137 %), Etüültrineksapak (49 %), Famoksadoon (66 %), Tebufenpüraad (66 %)
Luke Mandariin	8 – 99	12	Pümetroosiin (17 %), Tiabendasool (58 %), Vamidiotion (61), Etirimol (52 %), Imasamoks (62 %), Imasaliil (53 %), Spiroksamiin (45 %), Spinosad A (8 %), Spinosad D (9 %), Flukvikonasool (67 %), Klofentesiin (52 %), Etofenproks (67 %)
QuEChERS Kaer	62 – 194	3	Pümetroosiin (62 %), Spiroksamiin (135 %), Etofenproks (194 %)
Luke Rukis	11 – 106	6	Pümetroosiin (57 %), Etirimol (61%), Spiroksamiin (65 %), Spinosad A (32 %), Spinosad D (33 %), Heksütiasoks (66%)

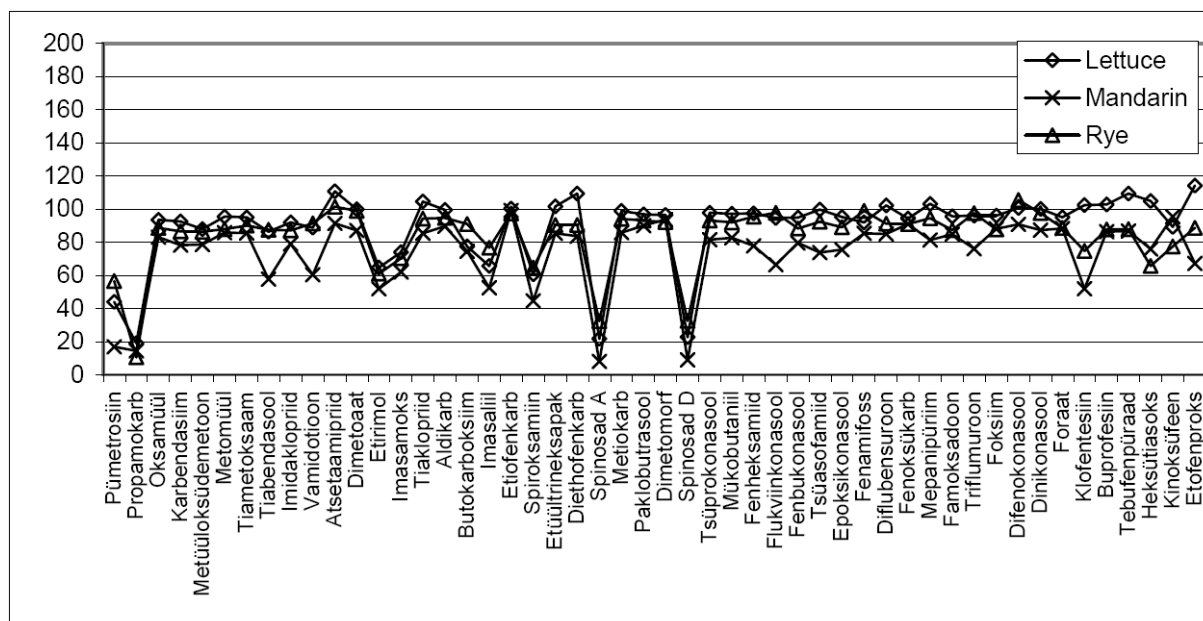
Pümetrosiini näol on tegu ühe problemaatilise pestitsiidijäägiga mida soovitatakse määrata eraldi meetodiga. Raskused tingib antud pestitsiidi tundlikus hapete/happelise keskkonna suhtes [51]. Multimeetodite puhul võib problemaatiliste pestitsiidide saagist tõsta kasutades ekstraheerimiskeskkonna puhverdamist ja lõppekstrakti pH muutmist, kuid antud juhul tekib ikkagi vasturääkivus. Enamus kergelt lagunevaid pestitsiidijääke on tundlikud aluselise keskkonna suhtes, mistõttu sageli viiakse lahuste pH madalamaks. Pümetrosiinile sobivaks ekstraheerimiskeskkonna pH on 6 – 7 samas kui mõne pestitsiidijäägi puhul võiks see olla 4 – 5. Seetõttu tehakse tingimuste valikul kompromis, kusjuures enamasti eelistades aluselises keskkonnas halvasti ekstraheeruvaid jääke.[51]

Käesolevas töös kasutatud QuEChERS meetodis kasutatakse keskkonna puhverdamist, mille tulemusena peaks ekstrakti pH olema vahemikus 5 – 5,5, happeliste proovide puhul (pH alla kolme, nt. sidrun) soovitatakse ekstraheerimisel pH-d tõsta lisades NaOH lahust [40]. Parandamiseks tulemusi Pümetrosiini puhul tuleks mõnevõrra korrigeerida ekstraheerimiskeskkonna pH-d, samas tuleb jälgida ka et teiste pestitsiidijääkide saagised oluliselt ei väheneks.

QuEChERSi puhul olid veel problemaatilisteks pestitsiidideks Imasamoks ja Etüültrineksapak apelsinis ning lehtsalatis. Mõlemad on happeliste omadustega (sisaldavad happelist vesinikku, vaata Lisa 2), interakteerudes PSAga nende saagis väheneb. Kaera puhul on saagis parem kuna PSA võib olla maatriksi poolt küllastatud. See ei saa toimuda teiste proovidega, kuna tahke proovi osa on lehtsalati puhul 0,5 g, apelsini ja mandariini puhul 1,5 – 2 g samas kui teraviljade proovi suuruseks on 5 g. Seega küllastumine on kõige tõenäolisem teraviljaproovides ning kõige vähem lehtsalatis. Kui PSA koormatakse maatriksiga, siis väheneb interaktsioon happeliste pestitsiididega.

Tõstmaks Etüültrineksapaki ja Imasamoksi saagiseid tuleb antud pestitsiidijääkide analüüsil vältida PSA kasutamist ning ekstrakti puhastamist ja kuivatamist läbi viia vaid $MgSO_4$ -ga [40].

Luke proovi ettevalmistusmeetodiga oli halb saagis kõigis kolmes maatriksis järgnevatel pestitsiididel: Spinosad A ja D, Etirimol, Spiroksamiin, Propamokarb, Pümetrosiin. See viitab halvale jaotumisele orgaanika ja vee faasi vahel ning lisaks ka võimalikule lagunemisele Pümetrosiini puhul. Lisaks on Joonisel 5 selgelt näha, et happelisem mandariini maatriks annab märgatavalt madalamaid saagiseid. Tulemusi võib parandada ekstrakti pH tõstmine, mille tulemusena aluselised pestitsiidijäägid ei oleks protoneeritud. Siiski annab Luke meetod QuEChERSiga võrreldes halvemaid ning mitte nii hästi kokku langevaid tulemusi erinevates maatriksites.



Joonis 5. Luke meetodi saagised kolmes maatriksis.

3.1 Lahjendamine

Valideerimise käigus vaadeldi ka lahjendamise mõju protsessi efektiivsusele. Seda uuriti kõrgemal tasemel saadud protsessi efektiivsuse proovide kümnekordsel lahjendamisel atseetonitriiliga. Tulemuste põhjal võib öelda, et esineb mõningane protsessi efektiivsuse paranemine (tulemused esitatud graafiliselt Lisas 4). Eriti hästi on see märgatav QuEChERSi puhul kaeras, vähem apelsinis ning Luke puhul mandariinis ja rukkis. Lehtsalati puhul jäi lahjendamise mõju tagasihoidlikumaks. Lahjendamist on ühe maatriksi efekti vähendamise meetodina käsitletud ka artiklites [28], kuid sellel on oma puudus. Selle tulemusena väheneb ka analüüsitava ühendi kontsentratsioon, mis pestitsiidijääkide analüüsi puhul on niigi madal. Teisalt viies seadmesse vähem maatriksi komponente suureneb ka hooldusintervall.

Luke prooviettevalmistusmeetodi puhul ei saagi oodata olulist tulemuste paranemist kuna maatriksi efektid olid väikesed. Mandariini puhul toimub enamus protsessi efektiivsuste nihkumine suuremate väärtuste poole. Rukki puhul paraneb kromatogrammi lõpus asuv maha surumine. QuEChERSi maatriksi efektid olid suuremad, seega on mõistetav, miks lahjenduse mõjub rohkem. Huvitav tähelepanek kaera puhul on see, et Tiaklopriid, Fenoksükarb, Foksiim, Difenkonasool, Dinikonasool saavad protsessi efektiivsuse tunduvalt üle 100 %.

Kokkuvõttes võib öelda, et Luke meetodiga ei ole põhjust lahjendada samas kui QuEChERSiga mõne pestitsiidijäägi ja maatriksi korral lahjendamine parandaks tulemust. Samas tuleb arvesse võtta ka vajalikud määramispiirid ning seadme tundlikkust.

3.2 Praktilised tähelepanekud QuEChERS proovi ettevalmistusmeetodi puhul

Kuna QuEChERSi puhul ei kasutata lisa homogeniseerimist, siis peab proovide homogeniseerimine tagama piisava peenestus astme. Seetõttu kasutati ainult Blixer 4 homogeniseerijat/purustajat samas kui Luke jaoks valimistati proove ette nii Blixer 4 kui ka UM12 seadmega.

Lisatud soolade ning PSA kogus tuleb hoida võimalikult fikseerituna, et vähendada nende mõju analüüsi tulemustele. Soolade koguse mõõtmiseks on mitmeid võimalusi: segamine ning osadeks jagamine, ruumala mõõtmine, kaalumine, proovi jagajate kasutamine. Soolade kaalumisel suures koguses ning seejärel kokku segades ei saavutata head täpsust. Vajalikku segu kogust saab täpselt kaaluda, kuid erinevate soolade osakeste suurused ei lange enamasti kokku, seega segu ei saa homogeenne. Üheks võimaluseks on kõik komponendid jahvatada, kuid sorbentide puhul muutuvad seeläbi omadused. Ruumala mõõtmine on suhteliselt kerge ning kiire, vajaliku suuruse ning kujuga mõõtevahendeid valmistatakse ka eritellimuste alusel. Samas sõltub mõõdetav kogus materjali kokku surumisest ning ka osakeste suurusest, sest granulomeetiline jaotus erinevate tootjate ja ka sama margi piires võivad oluliselt erineda. Käesolevas töös kasutati tahkete lisatavate ainete koguse mõõtmist massi järgi, enne proovi ettevalmistust kaaluti valmis vajalikud portsjonid kaalualustele ning neid säilitati eksikaatoris. Samas on selline protseduur suhteliselt ajamahukas, muidugi sõltuvalt ka kogemusest ning näpuosavusest. Rutiinanalüüsi puhul, kus viiakse läbi suur hulk proovi ettevalmistusi võib osutada mõistlikuks osta proovi jagaja – seade, mis jagab suure täpsusega mingi koguse tahket materjali väiksemateks võrdseteks portsjonideks. Samas võib takistuseks osutada selliste süsteemide maksumus.

Proovi ettevalmistusel on soovitav leida sobiv reagentide tootja/mark, ning võimaluse korral seda alati kasutada. Näiteks $MgSO_4$ puhul sõltub vee sidumise (soojuse eraldumise) kiirus osakeste pindala ja massi suhtes. Kui soojus eraldub kiirelt, siis see ei jõua keskkonda laiali hajuda, seega proov soojeneb. Temperatuuri tõus võib hakata lagundama mõningaid tugevalt termolabiilseid pestitsiidijääke. Samas mõnevõrra kõrgem temperatuur soodustab jällegi jääkide ekstraheerumist. Selles töös kasutati jahvatatud aga mitte pulbrilist $MgSO_4$, mille tulemusel proov soojeneb mõõdukalt ekstraheerimise käigus. Alguses prooviti ka pulbrilist, kuid sellega oli soodustatud tükkide teke ning toimus kiire temperatuuri tõus.

Proovide tsentrifuugimise tulemusena moodustuvad kihid – orgaanika lahus, proovi maatriks, vesilahus, soolad ja proovi maatriks. 8 ml atseetonitriili ekstrakti pipeteeriti teise

tsentrifuugiviaali ning lisati 0,2 g (25 mg/1ml lahuse kohta) PSAd. Samas maatriksi osa, mis asub orgaanika ja vesilahuse vahel moodustab punni. Seega võib orgaanika ekstrakti ka dekanteerida, kuid siis saadakse mõnevõrra ebatäpne ruumala ning väikese tahke aine sisaldusega proovides (nt . lehtsalat) esineb selle „vaheseina” lagunemise oht.

3.3 Analüüsi protseduur

Käesolevaid töös saadud tulemuste põhjal pakume välja järgmise analüüsi meetoodika, mis on mõeldud pestitsiidijääkide määramiseks toidus kasutamata maatriksvastavat kalibratsiooni. Vastavalt nõuetele [29] viiakse läbi meetodi laborisisene valideerimine algse maatriksite komplektiga. Nendeks võivad olla näiteks enim analüüsitavad maatriksid või võib lähtuda EL jaotustest. Saadud tulemused on suurema andmestu aluseks. Tavatöö käigus viiakse rutiinselt läbi protsessi efektiivsuste/saagiste määramisi erinevates maatriksites ning lisatakse saadud tulemused andmebaasi.

Ideaalsel juhul oleks tulemuseks protsessi efektiivsuse (ja saagise) andmebaas kõikide analüüsitavate pestitsiidijääkide ning maatriksite kombinatsioonide jaoks. Lisaks tuleb koguda ka tulemusi sama vilja kohta saades hinnangu grupi sisestele variatsioonidele ehk suhtelisele maatriksiefektile [28]. See toob meid antud lähenemise tuumani – esmalt saab analüütik kogutud andmebaasi alusel hinnata, kas saadud tulemus (antud pestitsiidijäägi puhul kindlas maatriksis) on MRLi lähedal/ületab seda või mitte. Kui jah, siis seejärel viiakse läbi lisamismeetod (maatriksiefekt on sisuliselt kompenseeritud), et põhjalikult ning täpselt leida tulemusele kinnitust. Sellise lähenemise korral ei ole vajadust valmistada maatriksvastavaid kalibratsioonilahuseid erinevates maatriksites. Lisamismeetodit tuleb rakendada vaid siis, kui on alust eeldada võimalikku piirnormi ületamist.

Seda meetodikat võib kasutada kõigi multimeetodite puhul. Samuti on võimalik protseduuri suhteliselt lihtsalt kaasata olemasolevasse kvaliteedisüsteemi. Tegelikult võib kvaliteedisüsteem osutada vägagi abistavaks kuna labori rutiinse töö käigus on enamasti kogutud mingi hulk protsessi efektiivsuste (ja saagiste) väärtuseid erinevates maatriksites (nagu on soovitatud SANCOs [29]).

Eespool välja pakutud lähenemine on eriti sobilik laboritele, kes rutiinselt rakendavad multimeetodeid ning seetõttu ei saa kasutada maatriksvastavat kalibratsiooni oma töös kuna ühe järjendi käigus tuleb määrata pestitsiidijääke mitmes erinevas maatriksis. Kui minnakse üle vanalt proovi ettevalmistusmeetodilt (näiteks atsetoonekstraktsioonilt) üle uuele vähese

solvendi ning materjalikuluga meetodile (nagu näiteks QuEChERS), siis on see hea lahendus mõnevõrra suurenenud maatriksiefektidega toime tulemiseks. Kuna QuEChERS puhul on proovi ettevalmistus kordades kiirem, siis mõningate lisamismeetodi proovide analüüs ei muutu liialt tömahukaks. Samal ajal võib takistuseks osutada hoopis instrumentaalse- ning tulemuste analüüsile kuluv aeg.

Kokkuvõte

Töös anti lühike ülevaade pestitsiidijääkide analüüsist LC-MS meetodil. Defineeriti protsessi efektiivsuse, maatriksi efekti ning saagise mõisted, et tagada tulemuste ühest mõistmist. Samuti näidati, et erinevates artiklites, juhendites ning artiklites antud saagise definitsioonid võimaldavad erinevat interpreteerimist, kui vaadata neid LC-ESI-MS analüüsi seisukohast.

Eksperimentaalses osas kasutati kahte proovi ettevalmistusmeetodit – atsetoon ekstraktsiooni ehk Luke meetodit ja atsetonitriil ekstraheerimist/jaotumist ehk QuEChERS meetodit. Mõlema meetodiga määrati 50 pestitsiidi jaoks kolmes maatriksi tüübis protsessi efektiivsus (kuus paralleelkatset kahel kontsentratsiooni tasemel) ja maatriksi efekt (üksikmõõtmine kõrgemal kontsentratsiooni tasemel).

Kogutud andmete põhjal võrreldi meetodeid otsustamaks kas vaadeldud ühendite vahemikus võib Luke asendada QuEChERS proovi ettevalmistus meetodit pestitsiidijääkide LC-ESI-MS analüüsil. Protsessi efektiivsuste põhjal käitusid mõlemad meetodid sarnaselt, korratavus oli mõnevõrra parem QuEChERSi puhul. Protsessi efektiivsuse eksperimentide põhjal ei selgunud otsest põhjust miks üht või teist meetodit peaks eelistama. Kuna aga QuEChERS on tunduvalt ökonoomsem, siis langeb otsus selle kasuks.

Kahe meetodi edasine uurimine näitas, et Luke maatriksiefektid on väiksemad kui QuEChERSi puhul. Samas QuEChERSi saagised olid paremad Luke omadest.

Lisaks pakuti välja kaheastmeline analüüsitulemuste kinnitamise meetod. Protseduur koosneb proovi analüüsist kasutades kalibratsioonilahuseid solvendis, tulemuse korrigeerimist protsessi efektiivsusega kogutud andmebaasi alusel ning, kui osutub vajalikuks, siis proovi uuesti analüüsimisest kasutades lisamiste meetodit.

Summary

In this work a short overview was given of the pesticide residues analysis using LC-MS. The definitions of recovery, matrix effect and process efficiency were presented for the unambiguous understanding of the results. It was also shown that the definitions for recovery in various guidelines, databases and articles leave room for different interpretations when LC-ESI-MS is taken under consideration.

In the experimental section two sample preparation methods were used, namely acetone extraction or Luke and acetonitrile extraction/partitioning or QuEChERS. Process efficiency (in six parallel determinations at two concentration levels) and matrix effect (single experiment at the higher concentration level) determinations were carried out for 50 pesticide residues in three different matrix types.

Based on the gathered data two methods were compared in respect of whether QuEChERS can replace Luke in LC-ESI-MS multi-residue analysis of the selected compounds. Based on the process efficiency studies the two methods performed in a similar fashion. The repeatability of process efficiency experiments was slightly better in case of QuEChERS. In case of analysis of the 50 stable pesticide residues, process efficiency studies reveal on clear preference of QuEChERS or Luke method over each other. Thus QuEChERS is preferred as method that is more economical.

Further study of the two methods showed that regarding matrix effects, Luke performs better than QuEChERS. At the same time, recoveries for QuEChERS were better than for Luke method.

In addition, a two-step procedure for conformation of analytical results was proposed. The procedure consists of analysis of the sample using calibration in solvent, correcting the result for process efficiency using pooled database and, if needed, reanalyzing the sample using method of standard additions.

Kasutatud kirjandus

- 1 International Programme on Chemical Safety. <http://www.inchem.org> viimati alla laetud 09.05.2007.
- 2 Introduction to EC pesticides residues legislation. http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/intro_en.pdf viimati alla laetud 09.05.2007.
- 3 S.C. Cunha, S.J. Lehotay, K. Mastovska, J.O. Fernandes, M. Beatriz, P.P. Oliveira. Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for analysis of pesticide residues in olives. *J. Sep. Sci.* 30 (2007) 620.
- 4 Compendium of Pesticide Common Names. <http://www.alanwood.net/pesticides> uuendatud 02.2007.
- 5 FDA Pestrac Files. <http://www.cfsan.fda.gov/~frf/pestdata.html> viimati uuendatud 06.2005.
- 6 SANCO 3010 rev. 17/10/2006 EL aktiivainete staatus. http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/stat_active_subs_3010_en.xls viimati alla laetud 09.05.2007.
- 7 K. Bester, G. Bordin, A. Rodriguez, H. Schimmel, J. Pauwels, G. VanVyncht. How to overcome matrix effects in the determination of pesticides in fruit by HPLC-ESI-MS-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* 371 (2001) 550.
- 8 D. Ortelli, P. Edder, C. Corvi. Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 520 (2004) 33.
- 9 C.L. Hetherton, M.D. Sykes, R.J. Fussell, D.M. Goodall. A multi residue screening method for the determination of 73 pesticides and metabolites in fruit and vegetables using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18 (2004) 2443.
- 10 A. Sannino, L. Bolzoni, L. Bandini. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables. *J. Chrom. A* 1036 (2004) 161.
- 11 C.M. Torres, Y. Picó, J. Mañes. Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *J. Chrom. A* 754 (1996) 301.

- 12 M. Carrery, F. Bianchi, C. Corradini. Recent advances in application of mass spectrometry in food-related analysis. *J. Chrom. A* 970 (2002) 3.
- 13 Y. Picó, G. Font, J.C. Moltó, J. Mañes. Pesticide residue determination in fruit and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chrom. A* 882 (2000) 153.
- 14 B.L. Halvorsen, C. Thomsen, T. Greibrokk, E. Lundanes. Determination of fenpyroximate in apples by supercritical fluid extraction and packed capillary liquid chromatography with UV detection. *J. Chrom. A* 880 (2000) 121.
- 15 C. Díez, W.A. Traag, P. Zommer, P. Marinero, J. Atienza. Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and „dispersive solid-phase extraction” method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples. *J. Chrom. A* 1131 (2006) 11.
- 16 M. Anastassiades, S.J. Lehotay, D. Štajnbaher, F.J. Schenck. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and „Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *J. AOAC Int.* 86 (2003) 412.
- 17 M.A. Luke, J.E. Forberg, H.T. Masumoto. Extraction and cleanup of organochlorine, organophosphate, organonitrogen, and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid-chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 58 (1975) 1020.
- 18 AOAC Official Method 985.22 Organochlorine and Organophosphorus Pesticide Residues Gas Chromatographic Method.
- 19 W. Krijgsman, C.G. van de Kamp. Analysis of organophosphorus pesticides by capillary gas chromatography with flame photometric detection. *J. Chrom. A* 117 (1976) 201.
- 20 B.N. Pramanik, A.K. Ganguly, M.L. Gross. Applied electrospray mass spectrometry. Marcel Dekker, Inc., New York, 2002, pp. 2 – 35.
- 21 W.M.A. Niessen. Liquid chromatography-mass spectrometry. Second edition. Marcel Dekker, Inc., New York, 2002, pp. 260 – 278.
- 22 M. Dole, L.L. Mack, R.L. Hines, R.C. Mobley, L.D. Ferguson, M.B. Alice. Molecular beams of macroions. *J. Chem. Phys.* 49 (1968) 2240.
- 23 M. Dole, R.L. Hines, L.L. Mack, R.C. Mobley, D.L. Ferguson, M.B. Alice. Gas phase macroions. *Macromolecules* 1 (1968) 96.
- 24 J.V. Iribarne, B.A. Thomson. On the evaporation of small ions from droplets. *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 2287.
- 25 C.L. Gatlin, F. Tureček. Acidity determination in droplets formed by electrospraying methanol-water solutions. *Anal. Chem.* 66 (1994) 712.

- 26 Waters Micromass Quatro Premier Mass Spectrometer Operator's Guide. 71500073002 Revision B. Waters Corporation, Milford, USA, 2004, pp. 249 – 258.
- 27 P.J. Taylor. Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Clin. Biochem.* 38 (2005) 328.
- 28 W.M.A Niessen, P. Manini, R. Andreoli. Matrix effects in quantitative pesticide analysis using liquid chromatography-mass spectrometry. *Mass. Spectrom. Rev.* 25 (2006) 881.
- 29 Quality control procedures for pesticide residues analysis, SANCO/10232/2006. http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol_en.pdf viimati uuendatud 20.04.2006.
- 30 The IUPAC Compendium of Chemical Terminology (Gold Book). <http://www.iupac.org/publications/compendium/index.html> viimati uuendatud 19.10.2006.
- 31 T.D. Burns, K. Danzer, A. Townshend. Use of the terms „recovery” and „apparent recovery” in analytical procedures (IUPAC Recommendations 2002). *Pure Appl. Chem.* 74 (2002) 2201.
- 32 D.L. Buhman, P.I. Price, P.J. Rudewicz. Quantitation of SR 27417 in human plasma using electrospray liquid chromatography-tandem mass spectrometry: a study of ion suppression. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7 (1996) 1099.
- 33 B.K. Choi, D.M. Hercules, A.I. Gusev. Effect of liquid chromatography separation of complex matrices on liquid chromatography-tandem mass spectrometry signal suppression. *J Chrom. A* 907 (2001) 337.
- 34 A. Kruve, A. Künnapas, K. Herodes, I. Leito. Comparison of matrix effects, recoveries and process efficiencies of three sample preparation methods. Saadetud avaldamiseks *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- 35 H. Mei, Y. Hsieh, C. Nardo, X. Xu, S. Wang, K. Ng, W.A. Korfmacher. Investigation of matrix effects in bioanalytical high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric assays: application to drug discovery. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 17 (2003) 97.
- 36 B.K. Choi, D.M. Hercules, A.I. Gusev. LC-MS/MS signal suppression effects in the analysis of pesticides in complex environmental matrices. *Freseinius J. Anal. Chem.* 369 (2001) 370.
- 37 L.L. Jessome, D.A. Volmer. Ion suppression: a major concern in mass spectrometry. *LCGC N. Am.* 24 (2006) 498.
- 38 Agilent 1100 Series LC/MSD Trap Techniques and Operation. Course Number H8966A.

Volume 1. Student Manual. January 2003 USA.

- 39 F.J. Schenck, S.J. Lehotay, V. Vega. Comparison of solid-phase extraction sorbents for cleanup in pesticide residue analysis of fresh fruits and vegetables. *J. Sep. Sci.* 25 (2002) 883.
- 40 M. Anastassiades. QuEChERS A Mini Multi-Residues for the Analysis of Pesticide Residues in Low-Fat Products. http://www.quechers.com/docs/quechers_en_oct2005.pdf viimati alla laetud 09.05.2007.
- 41 C. Jansson, T. Pihlström, B.-G. Österdahl, K.E. Markides. A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *J. Chrom. A* 1023 (2004) 93.
- 42 E.T. Bartholomew. Internal decline of lemons. II. Growth, Rate, water content, and acidity of lemons at different stages of maturity. *Am. J. of Botany* 10 (1923) 117.
- 43 B. Quilot, M. Génard, J. Kervella, F. Lescourret. Analysis of genotypic variation in fruit flesh total sugar content via an ecophysiological model applied to peach. *Theor. Appl. Genet.* 109 (2004) 440.
- 44 L. Alder, S. Lüderitz, K. Lindtner, H.-J. Stan. The ECHO technique – the more effective way of data evaluation in liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis. *J. Chrom. A* 1058 (2004) 67.
- 45 J. Zrostliková, J. Hajšlová, J. Poustka, P. Begany. Alternative calibration approaches to compensate co-extracted matrix components in liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry analysis of pesticide residues in plant materials. *J. Chrom. A* 973 (2002) 13.
- 46 L. Grey, B. Nguyen, P. Yang. Liquid chromatography-electrospray ionization isotope dilution mass spectrometry analysis of paraquat and diquat using conventional and multilayer solid-phase extraction cartridges. *J. Chrom. A* 958 (2002) 25.
- 47 ISO Guide to Expression of Uncertainty in Measurement. 1995. (ISO GUM)
- 48 S. Leito, K.Mölder, A. Künnapas, K. Herodes, I. Leito. Uncertainty in liquid chromatographic analysis of pharmaceutical product: Influence of various uncertainty sources. *J. Chrom. A* 1121 (2006) 55.
- 49 NORDTEST. <http://www.nordicinnovation.net/nordtestfiler/tec537.pdf> alla laetud 09.05.2007.
- 50 A. Künnapas, K. Herodes, I. Leito. Train MiC example Determination of polar pesticides by liquid chromatography mass spectrometry. In EUR – DG Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements – Traceability, measurement

uncertainty and validation in chemistry, Practical examples, Vol 1. Editors: Nineta Majcen, Philip Taylor. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. 2006. Scientific and Technical Research series

- 51 S.J. Lehotay, K. Maštovská, A.R. Lightfield. Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables. *J. AOAC Int.* 88 (2005) 615.

Lisad

Lisa 1

Järgnevalt on toodud tulemuste koondtabel, mis on jaotatud vastavalt proovi ettevalmistusmeetodile ning maatriksile. Pestitsiidijäägid sisestati tabelisse kasvava retentsiooniaja järjekorras.

Boldis on märgitud järgmised tulemused:

Kõrge kontsentratsioonitaseme Pe RSD üle 20 %

Lahjenduse Pe RSD üle 30 %

Madala kontsentratsioonitaseme Pe RSD üle 30 %

Saagis ei ole vahemikus 70 – 110 %

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT [min]	Pe kõrge [%]	RSD [%]	Pe kõrge 1/10 [%]	RSD [%]	Pe madal [%]	RSD [%]	Me [%]	R [%]
QuEChERS	Lehtsalat	Pümetrosiin	6,30	16,24	4,03	12,33	19,64	13,87	4,71	24,60	66,02
QuEChERS	Lehtsalat	Propamokarb	7,00	47,74	4,65	36,00	4,97	35,07	7,83	46,30	103,11
QuEChERS	Lehtsalat	Oksamüül	9,20	100,56	0,62	95,33	3,02	95,47	2,69	100,50	100,06
QuEChERS	Lehtsalat	Karbendasiim	9,60	94,80	2,16	89,50	3,22	89,47	2,07	98,90	95,85
QuEChERS	Lehtsalat	Metüüloksüdemetoon	9,80	95,86	0,93	89,83	1,64	89,33	1,35	97,70	98,12
QuEChERS	Lehtsalat	Metomüül	10,20	99,46	1,56	99,83	2,41	94,67	3,92	101,60	97,89
QuEChERS	Lehtsalat	Tiametoksaam	10,60	101,44	1,97	91,83	6,02	91,33	6,30	104,10	97,44
QuEChERS	Lehtsalat	Tiabendasool	11,10	92,04	1,68	87,50	2,96	87,33	4,07	95,80	96,08
QuEChERS	Lehtsalat	Imidaklopriid	12,20	122,12	3,87	97,00	4,97	132,53	5,19	126,30	96,69
QuEChERS	Lehtsalat	Vamidotioon	13,00	98,22	1,17	92,50	1,49	88,27	2,20	101,00	97,25
QuEChERS	Lehtsalat	Atsetaamipriid	13,40	109,46	1,12	97,00	2,92	100,67	2,73	110,90	98,70
QuEChERS	Lehtsalat	Dimetooat	13,40	106,80	1,14	96,33	3,13	94,40	2,94	110,40	96,74
QuEChERS	Lehtsalat	Etirimol	13,70	89,42	2,34	84,17	3,64	75,47	2,82	101,20	88,36
QuEChERS	Lehtsalat	Imasamoks	14,10	5,16	20,45			7,73	27,50	95,70	5,39
QuEChERS	Lehtsalat	Tiaklopriid	14,40	106,72	1,28	97,17	1,51	105,07	1,91	108,30	98,54
QuEChERS	Lehtsalat	Aldikarb	15,40	102,40	0,95	93,50	2,00	92,13	2,77	100,80	101,59
QuEChERS	Lehtsalat	Butokarboksiim	15,20	98,74	2,61	96,33	1,82	99,87	2,23	101,50	97,28
QuEChERS	Lehtsalat	Imasaliil	16,50	96,62	2,05	91,33	2,83	90,27	2,47	96,40	100,23
QuEChERS	Lehtsalat	Etiofenkarb	18,00	94,12	2,24	89,17	3,50	76,80	3,23	105,00	89,64
QuEChERS	Lehtsalat	Spiroksamiin	18,20	86,86	10,51	71,17	16,20	84,53	9,38	74,30	116,90
QuEChERS	Lehtsalat	Etüültrineksapak	19,40	8,98	12,85	1,80	24,85	13,20	19,82	96,10	9,34
QuEChERS	Lehtsalat	Diethofenkarb	19,90	97,60	4,59	99,17	10,74	88,93	3,62	93,70	104,16
QuEChERS	Lehtsalat	Spinosad A	20,30	96,62	2,78	96,67	2,23	75,20	3,30	96,60	100,02
QuEChERS	Lehtsalat	Metiokarb	20,40	98,48	2,25	96,17	3,11	89,73	3,01	106,00	92,91
QuEChERS	Lehtsalat	Paklobutrasool	20,40	94,82	6,31	98,67	4,61	89,73	5,57	94,20	100,66
QuEChERS	Lehtsalat	Dimetomorf	20,00	89,94	10,14	107,17	11,62	85,33	7,56	87,80	102,44
QuEChERS	Lehtsalat	Spinosad D	20,80	91,30	4,50	97,67	5,82	70,67	3,77	95,70	95,40

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
QuEChERS	Lehtsalat	Tsüprokonasool	20,30	93,74	6,30	92,33	5,25	90,80	5,10	95,60	98,05
QuEChERS	Lehtsalat	Mükobutaniil	20,60	98,08	4,33	98,00	6,55	90,00	4,89	94,40	103,90
QuEChERS	Lehtsalat	Fenheksamiid	21,00	76,14	5,65	71,17	6,43	72,27	5,27	96,90	78,58
QuEChERS	Lehtsalat	Flukviinkonasool	21,20	97,44	2,08	110,50	8,39	88,13	6,68	105,30	92,54
QuEChERS	Lehtsalat	Fenbukonasool	21,40	95,44	8,20	101,50	5,05	92,40	5,66	94,60	100,89
QuEChERS	Lehtsalat	Tsüasofamiid	21,40	103,44	3,29	107,83	4,08	84,67	3,01	110,80	93,36
QuEChERS	Lehtsalat	Epoksikonasool	21,40	94,58	4,81	98,33	3,06	90,27	3,56	100,10	94,49
QuEChERS	Lehtsalat	Fenamifoss	21,60	93,88	4,37	98,17	4,20	82,53	5,18	103,20	90,97
QuEChERS	Lehtsalat	Diflubensuroon	21,80	98,46	2,31	98,33	3,95	88,53	4,23	100,30	98,17
QuEChERS	Lehtsalat	Fenoksükarb	21,80	94,78	7,35	106,50	7,67	89,47	8,98	99,60	95,16
QuEChERS	Lehtsalat	Mepanipüriim	22,00	95,52	2,17	99,33	3,53	84,67	6,08	104,30	91,58
QuEChERS	Lehtsalat	Famoksadoon	22,20	90,20	22,66	121,83	9,42	78,93	19,76	95,40	94,55
QuEChERS	Lehtsalat	Triflumuroon	22,50	100,42	1,23	103,33	2,64	95,07	4,89	104,40	96,19
QuEChERS	Lehtsalat	Foksiim	22,80	103,40	4,47	94,33	3,95	86,13	11,80	118,20	87,48
QuEChERS	Lehtsalat	Difenokonasool	22,90	99,16	4,01	103,17	3,44	93,20	10,05	118,60	83,61
QuEChERS	Lehtsalat	Dinikonasool	23,00	100,86	2,94	100,67	5,50	94,53	6,41	112,00	90,05
QuEChERS	Lehtsalat	Foraat	23,00	107,50	6,05	97,83	3,90	98,67	4,19	110,80	97,02
QuEChERS	Lehtsalat	Klofentesiin	23,40	103,58	5,24	97,17	4,29	96,80	4,56	107,20	96,62
QuEChERS	Lehtsalat	Buprofesiin	23,70	100,12	4,94	106,83	4,12	88,40	8,13	110,90	90,28
QuEChERS	Lehtsalat	Tebufenpüraad	23,80	111,32	10,36	105,00	6,23	113,87	20,12	138,40	80,43
QuEChERS	Lehtsalat	Heksütiasoks	24,30	102,40	9,02	99,17	3,02	109,33	13,58	119,60	85,62
QuEChERS	Lehtsalat	Kinoksüfeen	24,80	100,60	3,67	94,50	7,85	82,53	4,60	103,20	97,48
QuEChERS	Lehtsalat	Etofenproks	26,30	92,32	26,13	51,67	43,87	91,07	20,57	79,40	116,27
QuEChERS	Apelsin	Pümetrosiin	6,30	14,26	4,23	17,20	4,86	17,67	4,62	25,90	55,06
QuEChERS	Apelsin	Propamokarb	7,00	48,94	1,91	41,80	3,93	50,33	5,13	49,10	99,67
QuEChERS	Apelsin	Oksamüül	9,20	67,52	1,44	86,60	2,78	62,50	0,88	84,40	80,00
QuEChERS	Apelsin	Karbendasiim	9,60	62,74	1,43	82,60	3,49	59,17	3,61	76,60	81,91
QuEChERS	Apelsin	Metüüloksüdemetoon	9,80	78,62	1,14	91,40	5,28	81,83	1,43	92,20	85,27

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
QuEChERS	Apelsin	Metomüül	10,20	84,72	2,56	96,20	3,40	85,83	4,39	99,50	85,15
QuEChERS	Apelsin	Tiametoksaam	10,60	118,38	4,47	108,80	3,97	116,17	6,19	137,60	86,03
QuEChERS	Apelsin	Tiabendasool	11,10	74,70	0,84	86,60	4,37	76,33	3,94	92,60	80,67
QuEChERS	Apelsin	Imidaklopiid	12,20	245,88	2,04	136,60	6,56	261,50	4,03	278,60	88,26
QuEChERS	Apelsin	Vamidotioon	13,00	83,84	2,77	91,60	3,15	81,33	1,00	98,20	85,38
QuEChERS	Apelsin	Atsetaamipriid	13,40	101,56	2,04	113,40	5,09	85,00	4,34	123,70	82,10
QuEChERS	Apelsin	Dimetoot	13,40	79,34	2,38	93,60	4,87	64,50	3,36	95,50	83,08
QuEChERS	Apelsin	Etirimol	13,70	51,84	2,53	82,80	3,46	50,00	4,38	70,50	73,53
QuEChERS	Apelsin	Imasamoks	14,10	50,52	9,80	51,00	10,09	64,00	9,27	135,00	37,42
QuEChERS	Apelsin	Tiaklopiid	14,40	60,48	10,57	102,20	6,13	68,50	3,03	71,20	84,94
QuEChERS	Apelsin	Aldikarb	15,40	84,28	1,92	96,00	3,68	80,33	2,18	98,60	85,48
QuEChERS	Apelsin	Butokarboksiim	15,20	80,58	3,02	96,00	4,48	82,33	1,98	92,20	87,40
QuEChERS	Apelsin	Imasaliil	16,50	89,14	2,93	95,40	4,61	87,83	1,96	97,70	91,24
QuEChERS	Apelsin	Etiofenkarb	18,00	97,00	2,00	101,60	3,91	95,67	2,62	106,40	91,17
QuEChERS	Apelsin	Spiroksamiin	18,20	92,88	20,53	123,80	10,41	94,33	10,18	67,60	137,40
QuEChERS	Apelsin	Etüültrineksapak	19,40	48,22	8,10	46,40	8,01	49,50	7,95	98,90	48,76
QuEChERS	Apelsin	Diethofenkarb	19,90	42,48	6,51	73,80	6,46	34,83	7,13	39,70	107,00
QuEChERS	Apelsin	Spinosad A	20,30	37,36	2,53	79,20	4,13	40,33	3,73	40,00	93,40
QuEChERS	Apelsin	Metiokarb	20,40	86,94	1,88	97,00	4,12	78,67	2,86	88,30	98,46
QuEChERS	Apelsin	Paklobutrasool	20,40	93,24	7,94	95,80	4,27	80,83	4,02	99,70	93,52
QuEChERS	Apelsin	Dimetomorf	20,00	80,02	11,99	95,40	7,83	62,00	5,86	92,40	86,60
QuEChERS	Apelsin	Spinosad D	20,80	83,64	4,75	97,40	5,74	87,33	2,87	91,60	91,31
QuEChERS	Apelsin	Tsüprokonasool	20,30	78,04	4,39	89,40	8,93	66,00	8,78	81,90	95,29
QuEChERS	Apelsin	Mükobutaniil	20,60	98,66	5,35	99,40	7,24	88,67	3,32	105,20	93,78
QuEChERS	Apelsin	Fenheksamiid	21,00	57,06	2,39	80,80	4,58	47,33	6,22	57,90	98,55
QuEChERS	Apelsin	Flukviinkonasool	21,20	52,20	2,96	81,00	1,95	43,50	7,66	51,20	101,95
QuEChERS	Apelsin	Fenbukonasool	21,40	80,30	6,86	95,40	5,38	69,17	7,56	85,80	93,59
QuEChERS	Apelsin	Tsüasofamiid	21,40	86,78	2,92	98,80	5,92	80,83	4,39	89,10	97,40

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
QuEChERS	Apelsin	Epoksikonasool	21,40	79,10	2,75	98,00	7,46	74,33	5,43	80,50	98,26
QuEChERS	Apelsin	Fenamifoss	21,60	123,30	4,18	99,20	5,26	112,50	4,86	137,40	89,74
QuEChERS	Apelsin	Diflubensuroon	21,80	103,42	2,55	100,80	4,40	97,83	5,23	109,00	94,88
QuEChERS	Apelsin	Fenoksükarb	21,80	111,46	5,29	103,60	4,35	94,00	4,76	125,50	88,81
QuEChERS	Apelsin	Mepanipüriim	22,00	84,18	3,96	96,80	6,17	83,00	4,03	88,20	95,44
QuEChERS	Apelsin	Famoksadoon	22,20	70,28	14,27	94,20	13,08	47,17	11,33	106,90	65,74
QuEChERS	Apelsin	Triflumuroon	22,50	92,56	2,11	102,20	6,39	88,33	3,33	97,80	94,64
QuEChERS	Apelsin	Foksiim	22,80	103,60	1,19	100,20	2,58	92,50	1,64	129,90	79,75
QuEChERS	Apelsin	Difenokonasool	22,90	104,22	2,95	103,20	8,21	93,50	4,77	139,80	74,55
QuEChERS	Apelsin	Dinikonasool	23,00	102,68	2,16	95,60	3,01	93,17	4,57	116,10	88,44
QuEChERS	Apelsin	Foraat	23,00	93,88	3,54	97,80	4,42	94,00	5,21	103,70	90,53
QuEChERS	Apelsin	Klofentesiin	23,40	111,76	3,08	96,80	10,62	115,67	4,04	123,00	90,86
QuEChERS	Apelsin	Buprofesiin	23,70	101,14	6,05	103,20	4,19	86,17	5,11	127,70	79,20
QuEChERS	Apelsin	Tebufenpüraad	23,80	112,64	6,55	107,40	4,09	100,33	5,34	170,30	66,14
QuEChERS	Apelsin	Heksütiasoks	24,30	128,50	8,49	105,80	15,33	116,83	8,51	150,60	85,33
QuEChERS	Apelsin	Kinoksüfeen	24,80	93,64	2,28	105,80	9,83	88,33	5,71	105,30	88,93
QuEChERS	Apelsin	Etofenproks	26,30	79,40	51,50	124,20	21,99	75,83	48,84	81,80	97,07
QuEChERS	Kaer	Pümetrosiin	6,30	15,30	8,58	18,67	11,07	18,33	8,21	24,60	62,20
QuEChERS	Kaer	Propamokarb	7,00	49,23	5,42	44,00	5,75	51,67	9,30	44,90	109,65
QuEChERS	Kaer	Oksamüül	9,20	97,40	1,68	98,00	2,24	94,33	2,48	103,90	93,74
QuEChERS	Kaer	Karbensasiim	9,60	82,70	1,42	84,33	3,49	79,00	3,49	100,50	82,29
QuEChERS	Kaer	Metüüloksüdemetoon	9,80	93,00	2,27	96,00	2,64	88,00	3,21	102,40	90,82
QuEChERS	Kaer	Metomüül	10,20	94,57	2,10	98,67	3,99	93,00	4,66	105,40	89,72
QuEChERS	Kaer	Tiametoksaam	10,60	121,47	3,34	104,33	8,08	111,67	8,51	123,30	98,51
QuEChERS	Kaer	Tiabendasool	11,10	80,70	1,46	90,33	4,73	75,33	5,22	93,70	86,13
QuEChERS	Kaer	Imidaklopriid	12,20	156,37	2,77	110,67	5,56	154,33	4,05	155,30	100,69
QuEChERS	Kaer	Vamidotioon	13,00	98,40	2,93	98,00	2,58	92,00	2,75	100,20	98,20
QuEChERS	Kaer	Atsetaamipriid	13,40	125,53	1,90	101,33	4,78	105,33	3,33	129,20	97,16

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
QuEChERS	Kaer	Dimetooat	13,40	104,93	1,58	94,00	2,69	85,67	3,44	105,00	99,94
QuEChERS	Kaer	Etirimol	13,70	68,37	2,76	79,67	4,87	61,67	1,32	85,20	80,24
QuEChERS	Kaer	Imasamoks	14,10	100,93	4,83	74,00	9,52	102,00	9,11	117,20	86,12
QuEChERS	Kaer	Tiaklopriid	14,40	98,30	1,94	145,00	2,58	99,33	4,71	108,80	90,35
QuEChERS	Kaer	Aldikarb	15,40	89,60	1,81	101,33	2,39	85,00	4,65	94,40	94,92
QuEChERS	Kaer	Butokarboksiim	15,20	87,53	3,03	96,67	4,84	83,33	4,96	91,80	95,35
QuEChERS	Kaer	Imasaliil	16,50	71,17	1,44	94,00	6,59	70,33	4,56	79,30	89,74
QuEChERS	Kaer	Etiofenkarb	18,00	96,97	2,49	101,33	2,04	94,00	1,35	106,50	91,05
QuEChERS	Kaer	Spiroksamiin	18,20	90,43	13,15	89,67	14,82	103,33	7,71	67,00	134,98
QuEChERS	Kaer	Etüültrineksapak	19,40	87,47	3,00	95,67	15,10	113,33	12,56	92,30	94,76
QuEChERS	Kaer	Diethofenkarb	19,90	52,33	4,24	95,00	9,20	49,33	11,08	55,40	94,46
QuEChERS	Kaer	Spinosad A	20,30	49,30	3,80	94,67	5,45	52,00	5,96	56,60	87,10
QuEChERS	Kaer	Metiokarb	20,40	76,07	3,06	104,00	5,44	76,00	2,88	85,70	88,76
QuEChERS	Kaer	Paklobutrasool	20,40	116,77	4,00	110,67	5,68	106,67	4,54	122,40	95,40
QuEChERS	Kaer	Dimetomorf	20,00	132,53	4,86	130,00	9,43	129,33	7,23	137,00	96,74
QuEChERS	Kaer	Spinosad D	20,80	71,40	6,75	104,67	4,30	74,33	6,46	77,80	91,77
QuEChERS	Kaer	Tsüprokonasool	20,30	125,53	5,57	99,33	4,88	112,00	6,08	128,60	97,62
QuEChERS	Kaer	Mükobutaniil	20,60	111,70	2,02	101,67	6,75	106,67	6,12	116,20	96,13
QuEChERS	Kaer	Fenheksamiid	21,00	81,57	6,71	99,33	6,06	76,67	6,74	90,10	90,53
QuEChERS	Kaer	Flukviinkonasool	21,20	65,10	6,39	113,67	5,72	58,67	18,25	70,70	92,08
QuEChERS	Kaer	Fenbukonasool	21,40	126,40	4,67	119,00	7,11	122,33	11,25	128,90	98,06
QuEChERS	Kaer	Tsüasofamiid	21,40	126,03	2,72	156,33	2,35	114,67	8,08	120,00	105,03
QuEChERS	Kaer	Epoksikonasool	21,40	127,03	5,27	119,33	5,37	166,33	3,08	128,30	99,01
QuEChERS	Kaer	Fenamifoss	21,60	182,27	2,64	149,33	7,22	181,67	4,94	200,90	90,73
QuEChERS	Kaer	Diflubensuroon	21,80	68,10	4,76	104,33	5,34	65,00	9,68	76,20	89,37
QuEChERS	Kaer	Fenoksükarb	21,80	80,87	6,98	128,33	10,31	72,67	6,20	91,40	88,48
QuEChERS	Kaer	Mepanipüriim	22,00	50,13	5,49	104,00	2,72	42,00	17,30	67,90	73,83
QuEChERS	Kaer	Famoksadoon	22,20	63,87	10,61	93,00	19,37	69,33	22,69	70,50	90,59

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
QuEChERS	Kaer	Triflumuroon	22,50	26,73	4,60	91,67	4,00	28,67	5,70	31,10	85,96
QuEChERS	Kaer	Foksiim	22,80	60,43	3,00	115,00	2,40	60,33	4,41	65,40	92,41
QuEChERS	Kaer	Difenokonasool	22,90	94,63	3,46	146,00	4,42	93,33	7,98	108,30	87,38
QuEChERS	Kaer	Dinikonasool	23,00	75,53	3,16	109,33	5,26	74,33	8,75	85,90	87,93
QuEChERS	Kaer	Foraat	23,00	60,07	2,53	102,00	7,23	59,33	10,37	69,40	86,55
QuEChERS	Kaer	Klofentesiin	23,40	23,17	7,63	76,67	6,32	34,33	7,74	29,90	77,48
QuEChERS	Kaer	Buprofesiin	23,70	33,20	6,05	57,67	9,15	23,67	13,54	32,80	101,22
QuEChERS	Kaer	Tebufenpüraad	23,80	13,07	7,48	55,33	10,64	0,00	0,00	11,90	109,80
QuEChERS	Kaer	Heksütiasoks	24,30	9,57	9,48	69,67	3,36	23,33	4,43	10,40	91,99
QuEChERS	Kaer	Kinoksüfeen	24,80	46,13	10,61	68,67	9,86	36,33	17,20	59,40	77,67
QuEChERS	Kaer	Etofenproks	26,30	41,87	12,13	97,33	10,45	62,00	5,77	21,60	193,83
Luke	Lehtsalat	Pümetrosiin	6,30	39,30	14,25	44,2	5,8	49,70		89,00	44,16
Luke	Lehtsalat	Propamokarb	7,00					18,90		99,00	19,09
Luke	Lehtsalat	Oksamüül	9,20	93,70	4,91	94,0	4,4	94,30	0,64	100,00	93,70
Luke	Lehtsalat	Karbendasim	9,60	88,90	3,82	88,7	5,4	90,40	2,77	96,00	92,60
Luke	Lehtsalat	Metüülöksüdemetoon	9,80	86,20	6,26	88,4	5,2	88,60	4,40	98,00	87,96
Luke	Lehtsalat	Metomüül	10,20	96,50	3,94	96,4	5,6	97,10	2,27	101,00	95,54
Luke	Lehtsalat	Tiametoksaam	10,60	98,00	4,39	94,7	3,0	90,40	1,44	103,00	95,15
Luke	Lehtsalat	Tiabendasool	11,10	74,40	4,30	94,4	3,9	87,60	5,37	86,00	86,51
Luke	Lehtsalat	Imidaklopiid	12,20	94,90	4,21	97,8	6,6	97,10	1,96	103,00	92,14
Luke	Lehtsalat	Vamidotioon	13,00	88,10	5,45	92,1	4,8	87,50	2,40	99,00	88,99
Luke	Lehtsalat	Atsetaamipriid	13,40	104,20	4,22	103,0	4,8	97,10	2,57	94,00	110,85
Luke	Lehtsalat	Dimetooat	13,40	100,00	3,90	101,8	5,2	96,10	2,60	100,00	100,00
Luke	Lehtsalat	Etirimol	13,70	64,20	12,93	64,3	4,9	74,50	5,50	99,00	64,85
Luke	Lehtsalat	Imasamoks	14,10	66,60	9,01	75,8	5,7	80,80	4,46	90,00	74,00
Luke	Lehtsalat	Tiaklopiid	14,40	101,50	3,84	104,2	2,6	101,40	1,87	97,00	104,64
Luke	Lehtsalat	Aldikarb	15,40	98,60	4,97	97,4	3,0	89,50	3,69	99,00	99,60
Luke	Lehtsalat	Butokarboksiim	15,20	86,00	5,35	85,6	3,6	92,30	2,17	111,00	77,48

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
Luke	Lehtsalat	Imasaliil	16,50	65,10	12,29	69,4	8,4	60,80	12,99	99,00	65,76
Luke	Lehtsalat	Etiofenkarb	18,00	97,30	5,24	94,4	4,7	40,40	20,30	97,00	100,31
Luke	Lehtsalat	Spiroksamiin	18,20	58,90	11,88	64,6	5,1	85,10	3,76	97,00	60,72
Luke	Lehtsalat	Etüültrineksapak	19,40	95,70	6,69	103,8	4,6	82,50	6,42	94,00	101,81
Luke	Lehtsalat	Diethofenkarb	19,90	100,80	6,35	100,9	4,9	96,10	1,77	92,00	109,57
Luke	Lehtsalat	Spinosad A	20,30	21,40	39,25	25,4	7,9	77,50	6,97	98,00	21,84
Luke	Lehtsalat	Metiokarb	20,40	98,00	6,02	101,0	4,5	97,80	2,76	99,00	98,99
Luke	Lehtsalat	Paklobutrasool	20,40	95,90	4,80	97,8	4,0	99,60	3,71	99,00	96,87
Luke	Lehtsalat	Dimetomorf	20,00	98,40	4,88	97,3	4,7	103,40	3,68	102,00	96,47
Luke	Lehtsalat	Spinosad D	20,80	22,40	38,39	24,7	8,0	81,30	10,46	98,00	22,86
Luke	Lehtsalat	Tsüprokonasool	20,30	96,90	4,64	98,2	2,6	97,10	1,54	99,00	97,88
Luke	Lehtsalat	Mükobutaniil	20,60	97,20	5,25	100,1	4,9	96,10	3,75	100,00	97,20
Luke	Lehtsalat	Fenheksamiid	21,00	95,50	3,56	101,1	4,5	94,30	3,29	98,00	97,45
Luke	Lehtsalat	Flukviinkonasool	21,20	96,60	4,35	94,7	7,9	109,90	3,91	102,00	94,71
Luke	Lehtsalat	Fenbukonasool	21,40	94,90	5,58	100,5	6,9	100,80	4,17	100,00	94,90
Luke	Lehtsalat	Tsüasofamiid	21,40	98,80	4,66	98,0	7,3	106,90	2,62	99,00	99,80
Luke	Lehtsalat	Epoksikonasool	21,40	94,50	4,76	96,3	5,0	99,40	3,12	99,00	95,45
Luke	Lehtsalat	Fenamifoss	21,60	99,50	5,23	91,5	4,1	101,80	4,32	108,00	92,13
Luke	Lehtsalat	Diflubensuroon	21,80	94,20	4,25	100,4	3,8	96,20	6,86	92,00	102,39
Luke	Lehtsalat	Fenoksükarb	21,80	88,70	5,75	95,4	5,4	96,30	5,71	94,00	94,36
Luke	Lehtsalat	Mepanipüriim	22,00	98,20	3,67	100,0	7,1	93,00	5,59	95,00	103,37
Luke	Lehtsalat	Famoksadoon	22,20	92,90	6,14	96,9	5,1	97,60	4,30	97,00	95,77
Luke	Lehtsalat	Triflumuroon	22,50	94,30	3,39	94,4	3,2	93,70	3,20	98,00	96,22
Luke	Lehtsalat	Foksiim	22,80	96,10	5,31	91,6	4,0	97,90	2,86	100,00	96,10
Luke	Lehtsalat	Difenokonasool	22,90	100,70	5,26	91,8	3,6	90,50	6,19	100,00	100,70
Luke	Lehtsalat	Dinikonasool	23,00	98,10	3,47	94,9	2,9	96,60	3,83	98,00	100,10
Luke	Lehtsalat	Foraat	23,00	91,30	4,05	89,3	3,6	91,70	2,18	96,00	95,10
Luke	Lehtsalat	Klofentesiin	23,40	93,30	4,39	94,4	2,8	88,00	5,11	91,00	102,53

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijäak	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
Luke	Lehtsalat	Buprofeesiin	23,70	97,70	5,12	100,0	6,0	96,80	3,10	95,00	102,84
Luke	Lehtsalat	Tebufenpüraad	23,80	101,90	6,18	97,8	4,8	96,30	4,36	93,00	109,57
Luke	Lehtsalat	Heksütiasoks	24,30	92,50	5,84	108,4	12,6	92,80	2,69	88,00	105,11
Luke	Lehtsalat	Kinoksüfeen	24,80	87,50	8,34	90,6	19,2	84,40	11,49	98,00	89,29
Luke	Lehtsalat	Etofenproks	26,30	96,00	9,69	114,3	25,6	87,80	7,74	84,00	114,29
Luke	Mandariin	Pümetrosiin	6,30	17,00	21,18	23,3	5,3	7,20		100,00	17,00
Luke	Mandariin	Propamokarb	7,00					14,50		100,00	14,50
Luke	Mandariin	Oksamüül	9,20	83,10	7,58	96,0	4,0	78,90	7,98	100,00	83,10
Luke	Mandariin	Karbendasim	9,60	79,20	4,92	89,4	4,7	68,90	12,05	101,00	78,42
Luke	Mandariin	Metüülöksüdemetoon	9,80	78,00	5,00	86,8	5,2	70,30	9,10	99,00	78,79
Luke	Mandariin	Metomüül	10,20	84,10	5,83	94,5	3,5	86,40	2,89	98,00	85,82
Luke	Mandariin	Tiametoksaam	10,60	86,60	4,62	98,0	5,9	59,60	20,64	101,00	85,74
Luke	Mandariin	Tiabendasool	11,10	54,90	12,20	65,0	10,0	33,10	46,22	95,00	57,79
Luke	Mandariin	Imidaklopriid	12,20	119,40	5,86	96,9	2,7	96,20	18,50	151,00	79,07
Luke	Mandariin	Vamidotioon	13,00	61,10	3,93	72,5	3,3	77,20	5,18	101,00	60,50
Luke	Mandariin	Atsetaamipriid	13,40	91,40	4,16	96,9	3,9	80,60	13,15	100,00	91,40
Luke	Mandariin	Dimetooat	13,40	87,30	4,47	101,9	3,3	87,10	2,41	100,00	87,30
Luke	Mandariin	Etirimol	13,70	51,60	7,95	59,9	8,3	58,70	9,71	99,00	52,12
Luke	Mandariin	Imasamoks	14,10	64,00	5,78	77,9	6,0	35,60	46,91	103,00	62,14
Luke	Mandariin	Tiaklopriid	14,40	88,00	4,20	97,6	2,3	75,30	17,26	103,00	85,44
Luke	Mandariin	Aldikarb	15,40	88,00	4,32	99,6	4,3	85,40	5,04	98,00	89,80
Luke	Mandariin	Butokarboksiim	15,20	73,10	5,06	86,9	2,6	85,10	5,64	98,00	74,59
Luke	Mandariin	Imasaliil	16,50	53,10	19,02	64,3	12,6	63,40	9,46	101,00	52,57
Luke	Mandariin	Etiofenkarb	18,00	100,30	5,58	105,8	3,7	55,90	10,91	101,00	99,31
Luke	Mandariin	Spiroksamiin	18,20	44,70	23,94	56,3	13,4	76,20	4,33	100,00	44,70
Luke	Mandariin	Etüültrineksapak	19,40	83,80	2,98	108,4	7,0	87,10	7,23	98,00	85,51
Luke	Mandariin	Diethofenkarb	19,90	38,50	3,12	82,6	1,7	38,90	2,83	46,00	83,70
Luke	Mandariin	Spinosaad A	20,30	7,40	78,38	11,0	8,5	62,90	9,70	92,00	8,04

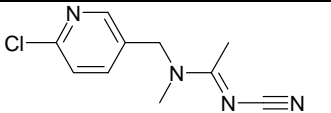
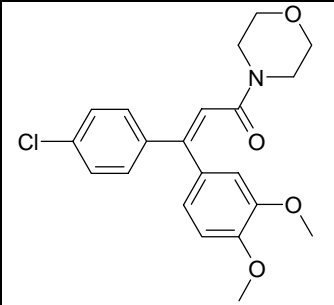
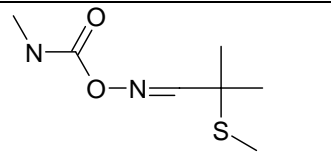
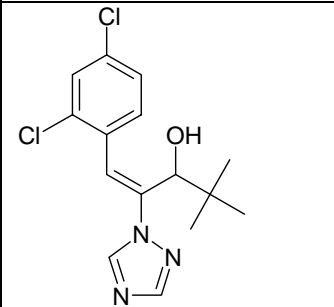
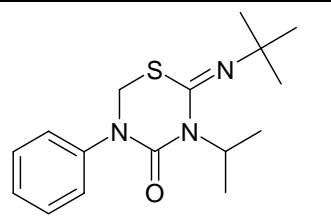
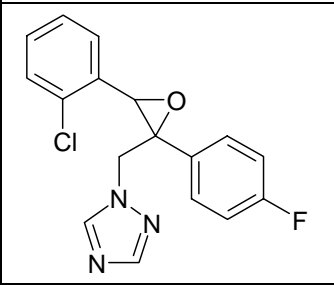
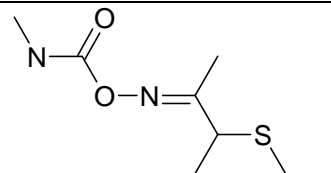
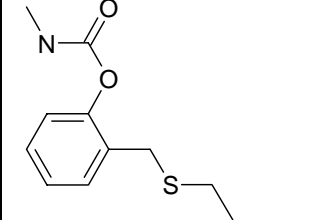
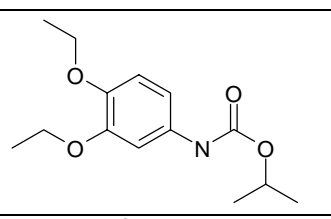
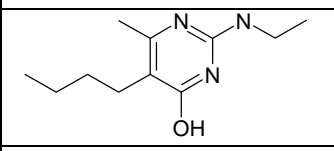
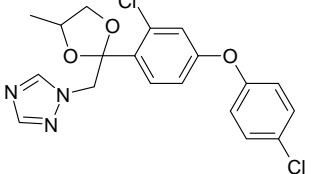
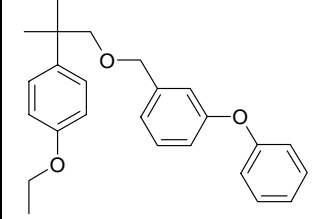
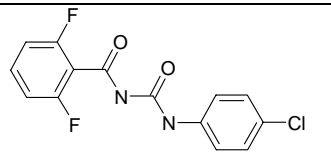
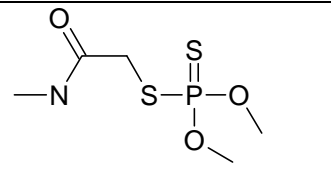
Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
Luke	Mandariin	Metiokarb	20,40	78,20	3,07	98,9	2,2	82,20	3,28	91,00	85,93
Luke	Mandariin	Paklobutrasool	20,40	82,10	4,26	109,3	4,0	80,20	3,37	91,00	90,22
Luke	Mandariin	Dimetomorf	20,00	75,10	3,20	98,0	1,7	73,70	3,66	80,00	93,88
Luke	Mandariin	Spinosad D	20,80	8,10	72,84	19,6	7,8	35,90	11,42	90,00	9,00
Luke	Mandariin	Tsüprokonasool	20,30	49,00	2,86	82,5	3,5	49,70	4,63	60,00	81,67
Luke	Mandariin	Mükobutaniil	20,60	81,90	1,95	103,1	1,7	84,40	6,40	99,00	82,73
Luke	Mandariin	Fenheksamiid	21,00	14,80	5,41	73,0	1,6	16,50	8,48	19,00	77,89
Luke	Mandariin	Flukviinkonasool	21,20	31,30	4,15	78,1	3,9	48,20	6,64	47,00	66,60
Luke	Mandariin	Fenbukonasool	21,40	62,10	4,83	94,9	2,1	60,70	5,93	78,00	79,62
Luke	Mandariin	Tsüasofamiid	21,40	62,80	3,34	96,1	1,9	87,60	2,74	85,00	73,88
Luke	Mandariin	Epoksikonasool	21,40	58,30	2,57	93,2	2,6	65,20	6,44	77,00	75,71
Luke	Mandariin	Fenamifoss	21,60	84,60	2,96	95,9	2,6	84,20	5,23	99,00	85,45
Luke	Mandariin	Diflubensuroon	21,80	85,20	2,70	109,5	2,1	89,40	2,35	100,00	85,20
Luke	Mandariin	Fenoksükarb	21,80	85,70	3,85	108,8	4,7	87,90	3,07	94,00	91,17
Luke	Mandariin	Mepanipüriim	22,00	70,10	3,00	97,6	4,0	81,20	1,11	86,00	81,51
Luke	Mandariin	Famoksadoon	22,20	26,30	4,94	99,9	3,1	28,20	7,45	31,00	84,84
Luke	Mandariin	Triflumuroon	22,50	76,30	5,24	101,8	2,9	85,40	4,80	100,00	76,30
Luke	Mandariin	Foksiim	22,80	89,00	2,81	109,9	1,7	93,70	2,99	101,00	88,12
Luke	Mandariin	Difenokonasool	22,90	88,20	6,24	94,5	2,9	76,40	7,20	97,00	90,93
Luke	Mandariin	Dinikonasool	23,00	88,30	2,49	100,4	2,6	88,10	5,56	101,00	87,43
Luke	Mandariin	Foraat	23,00	89,20	5,94	117,2	3,1	91,40	3,39	101,00	88,32
Luke	Mandariin	Klofentesiin	23,40	58,30	8,92	80,9	5,4	73,20	11,75	112,00	52,05
Luke	Mandariin	Buprofesiin	23,70	82,20	5,47	101,5	3,9	88,10	2,27	95,00	86,53
Luke	Mandariin	Tebufenpüraad	23,80	91,20	1,54	105,9	2,1	93,60	3,21	105,00	86,86
Luke	Mandariin	Heksütiasoks	24,30	79,10	9,99	130,5	6,1	97,10	5,36	104,00	76,06
Luke	Mandariin	Kinoksüfeen	24,80	86,00	7,44	87,1	7,9	89,50	11,62	90,00	95,56
Luke	Mandariin	Etofenproks	26,30	64,00	27,81	113,2	12,5	78,40	3,95	95,00	67,37
Luke	Rukis	Pümetrosiin	6,30	56,20	11,39	59,7	6,3	56,60		99,00	56,77

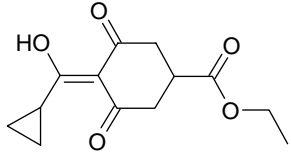
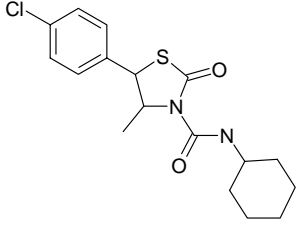
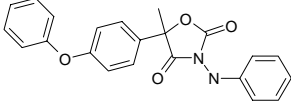
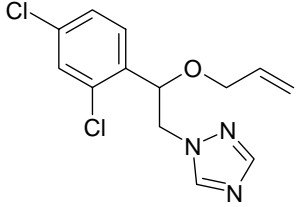
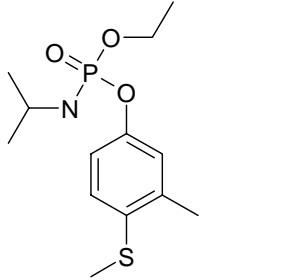
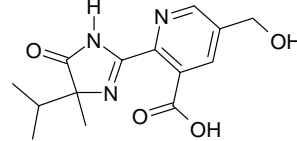
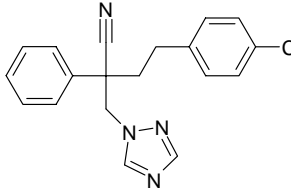
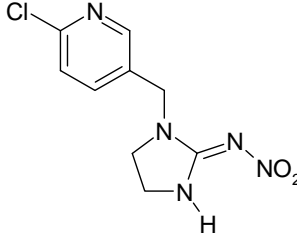
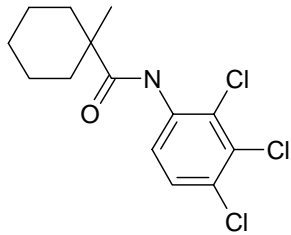
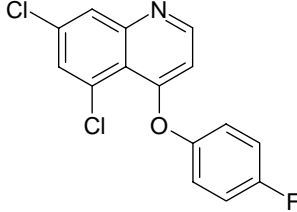
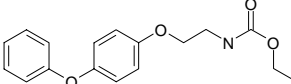
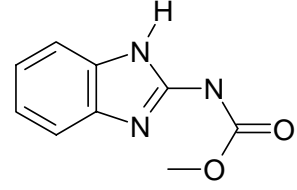
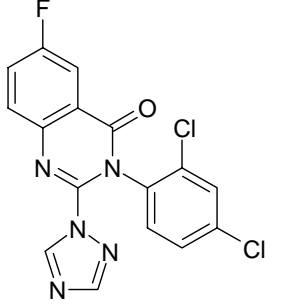
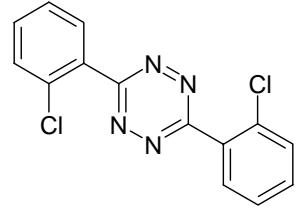
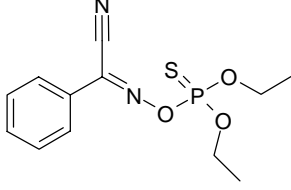
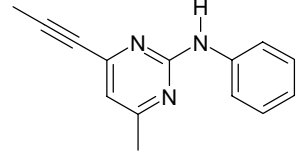
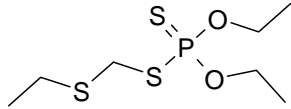
Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
Luke	Rukis	Propamokarb	7,00					10,50		98,00	10,71
Luke	Rukis	Oksamüül	9,20	87,90	3,75	85,7	3,3	87,10	2,99	99,00	88,79
Luke	Rukis	Karbendasiiim	9,60	84,00	5,24	86,2	4,4	84,20	2,38	97,00	86,60
Luke	Rukis	Metüülöksüdemetoon	9,80	83,80	3,82	87,5	4,2	81,30	0,49	97,00	86,39
Luke	Rukis	Metomüül	10,20	88,10	3,18	91,4	2,6	90,20	3,22	100,00	88,10
Luke	Rukis	Tiametoksaam	10,60	91,00	3,30	91,9	5,0	81,30	4,55	101,00	90,10
Luke	Rukis	Tiabendasool	11,10	82,40	5,46	84,1	4,1	73,80	8,27	94,00	87,66
Luke	Rukis	Imidaklopriid	12,20	103,00	3,30	89,2	5,3	99,00	5,25	118,00	87,29
Luke	Rukis	Vamidotioon	13,00	87,90	3,07	91,4	4,3	84,90	3,89	96,00	91,56
Luke	Rukis	Atsetaamipriid	13,40	98,50	2,54	96,0	6,6	89,90	3,11	97,00	101,55
Luke	Rukis	Dimetooat	13,40	93,10	3,33	96,6	5,0	85,80	1,75	94,00	99,04
Luke	Rukis	Etirimol	13,70	56,20	7,83	64,0	5,5	54,30	7,73	92,00	61,09
Luke	Rukis	Imasamoks	14,10	78,80	4,31	74,0	4,8	82,30	4,25	112,00	70,36
Luke	Rukis	Tiaklopriid	14,40	93,40	3,10	90,8	4,3	94,40	2,44	99,00	94,34
Luke	Rukis	Aldikarb	15,40	86,30	2,20	84,3	4,5	81,90	3,30	91,00	94,84
Luke	Rukis	Butokarboksiim	15,20	83,90	2,50	83,7	3,1	83,60	1,67	92,00	91,20
Luke	Rukis	Imasaliil	16,50	70,60	10,91	71,2	9,1	72,50	6,21	92,00	76,74
Luke	Rukis	Etiofenkarb	18,00	90,70	1,98	86,4	3,4	56,60	22,61	93,00	97,53
Luke	Rukis	Spiroksamiin	18,20	66,70	6,30	66,0	4,9	72,20	6,09	103,00	64,76
Luke	Rukis	Etüültrineksapak	19,40	86,90	1,96	88,2	2,5	91,50	3,83	96,00	90,52
Luke	Rukis	Diethofenkarb	19,90	65,20	5,06	86,4	2,7	66,20	2,72	72,00	90,56
Luke	Rukis	Spinosad A	20,30	27,60	42,03	33,0	11,8	55,00	25,64	85,00	32,47
Luke	Rukis	Metiokarb	20,40	89,50	3,24	89,9	5,0	84,80	2,83	95,00	94,21
Luke	Rukis	Paklobutrasool	20,40	99,80	3,31	91,4	4,7	100,80	1,88	107,00	93,27
Luke	Rukis	Dimetomorf	20,00	106,20	2,64	88,3	4,0	117,50	5,11	115,00	92,35
Luke	Rukis	Spinosad D	20,80	31,40	44,27	34,4	13,1	51,40	34,63	96,00	32,71
Luke	Rukis	Tsüprokonasool	20,30	101,70	1,87	90,0	4,6	97,20	3,91	109,00	93,30
Luke	Rukis	Mükobutaniil	20,60	97,50	3,38	89,9	3,6	94,50	3,81	106,00	91,98

Meetod	Maatriks	Pestitsiidijääk	RT	Pe kõrge	RSD	Pe k 1/10	RSD	Pe madal	RSD	Me	R
Luke	Rukis	Fenheksamiid	21,00	92,70	3,13	91,4	3,5	85,30	3,75	97,00	95,57
Luke	Rukis	Flukviinkonasool	21,20	84,20	1,54	88,3	7,1	90,50	5,64	86,00	97,91
Luke	Rukis	Fenbukonasool	21,40	98,90	3,24	92,6	5,0	92,50	5,62	112,00	88,30
Luke	Rukis	Tsüasofamiid	21,40	91,60	4,37	87,9	4,3	102,60	5,17	99,00	92,53
Luke	Rukis	Epoksikonasool	21,40	99,90	4,30	88,9	4,2	92,30	4,77	112,00	89,20
Luke	Rukis	Fenamifoss	21,60	138,60	2,60	90,3	4,7	110,40	4,53	140,00	99,00
Luke	Rukis	Diflubensuroon	21,80	86,70	3,81	88,0	4,7	86,00	3,72	95,00	91,26
Luke	Rukis	Fenoksükarb	21,80	89,20	3,36	87,2	4,0	82,90	1,09	98,00	91,02
Luke	Rukis	Mepanipüriim	22,00	80,40	2,74	91,5	4,0	75,90	2,64	85,00	94,59
Luke	Rukis	Famoksadoon	22,20	69,10	6,51	81,0	5,1	64,20	9,35	79,00	87,47
Luke	Rukis	Triflumuroon	22,50	50,80	2,95	86,5	3,4	46,20	4,33	52,00	97,69
Luke	Rukis	Foksiim	22,80	83,40	4,92	83,6	4,0	82,60	3,27	95,00	87,79
Luke	Rukis	Difenokonasool	22,90	105,70	5,68	87,5	5,8	88,20	8,28	100,00	105,70
Luke	Rukis	Dinikonasool	23,00	96,70	1,65	89,2	4,3	88,30	3,40	99,00	97,68
Luke	Rukis	Foraat	23,00	77,20	2,98	86,8	3,6	73,00	4,52	87,00	88,74
Luke	Rukis	Klofentesiin	23,40	66,60	16,37	79,2	2,5	74,10	9,18	89,00	74,83
Luke	Rukis	Buprofesiin	23,70	50,00	3,40	82,8	5,8	47,50	2,11	57,00	87,72
Luke	Rukis	Tebufenpüraad	23,80	53,70	5,96	82,2	3,3	58,80	4,76	61,00	88,03
Luke	Rukis	Heksütiasoks	24,30	42,70	22,01	78,7	2,9	55,70	12,57	65,00	65,69
Luke	Rukis	Kinoksüfeen	24,80	66,70	9,45	103,1	10,5	91,40	11,27	86,00	77,56
Luke	Rukis	Etofenproks	26,30	67,50	11,70	89,9	4,3	73,40	6,13	76,00	88,82

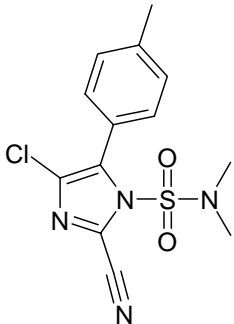
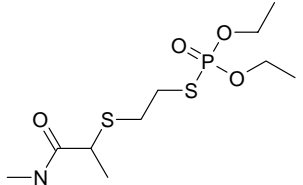
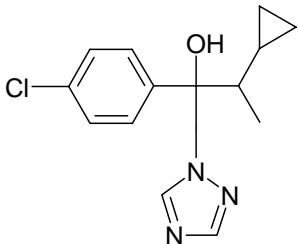
Lisa 2

Uuritud 50 pestitsiidi struktuurid.

Atsetaamipriid		Dimetomorf	
Aldikarb		Dinikonasool	
Buprofesiin		Epoksikonasool	
Butokarboksiim		Etiofenkarb	
Deitofenkarb		Etirimol	
Dietofenkonasool		Etifenproks	
Diflubensuroon			
Dimetoaat			

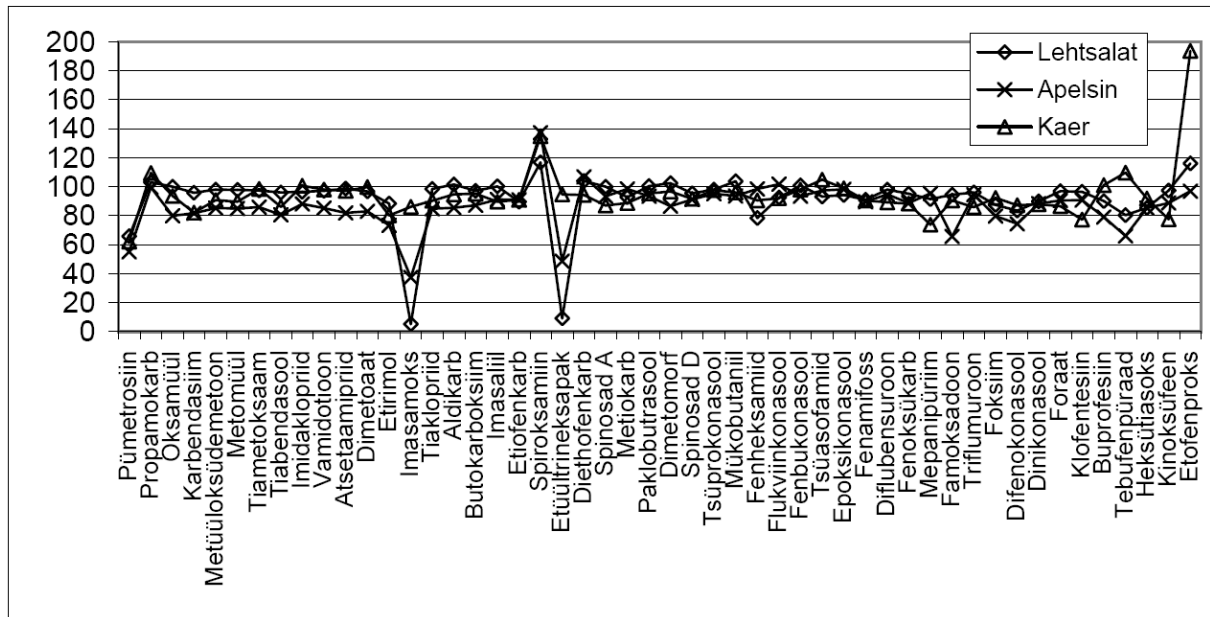
Etüültrineksapak		Heksütiasoks	
Famoksadoon		Imasaliil	
Fenamifoss		Imasamoks	
Fenbukonasool		Imidaklopriid	
Fenheksamiid		Kinoksüfeen	
Fenoksükarb		Karbendasiiim	
Flukviinkonasool		Klofentesiin	
Foksiim		Mepanipüriim	
Foraat			

Metiokarb		Spinosad A	
Metomüül		Spinosad D	
Metüül-oksüdemetoon		Spiroksamiin	
Mükobutaniil		Tebufenpüraad	
Oksamüül		Tiabendasool	
Paklobutrasool		Tiaklopriid	
Propamocarb		Tiametoksaam	
Pümetrosiin		Triflumuroon	

Tsüasofamiid		Vamidiothion	
Tsüprokonasool			

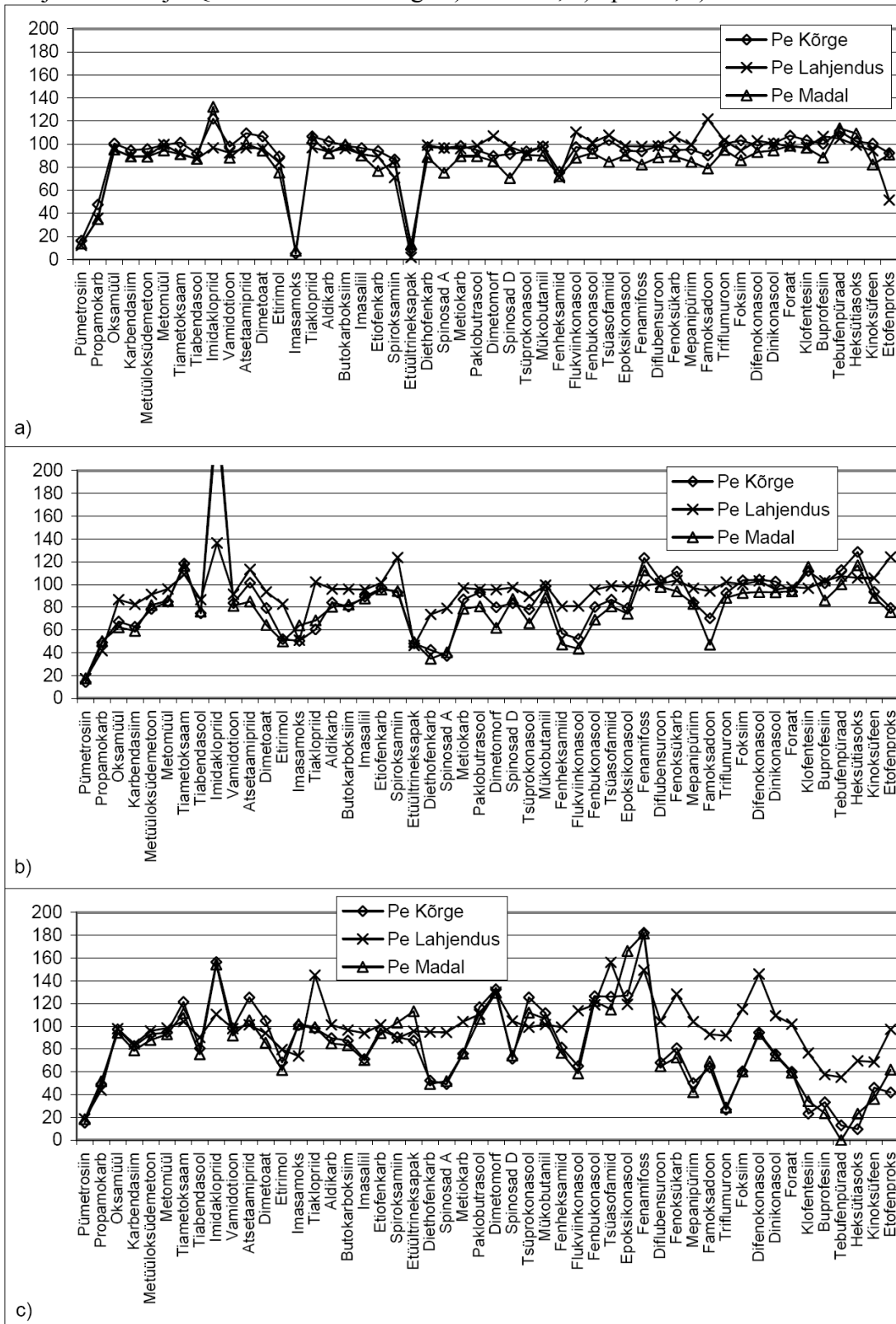
Lisa 3

Saagis QuEChERS proovi ettevalmistusmeetodiga.

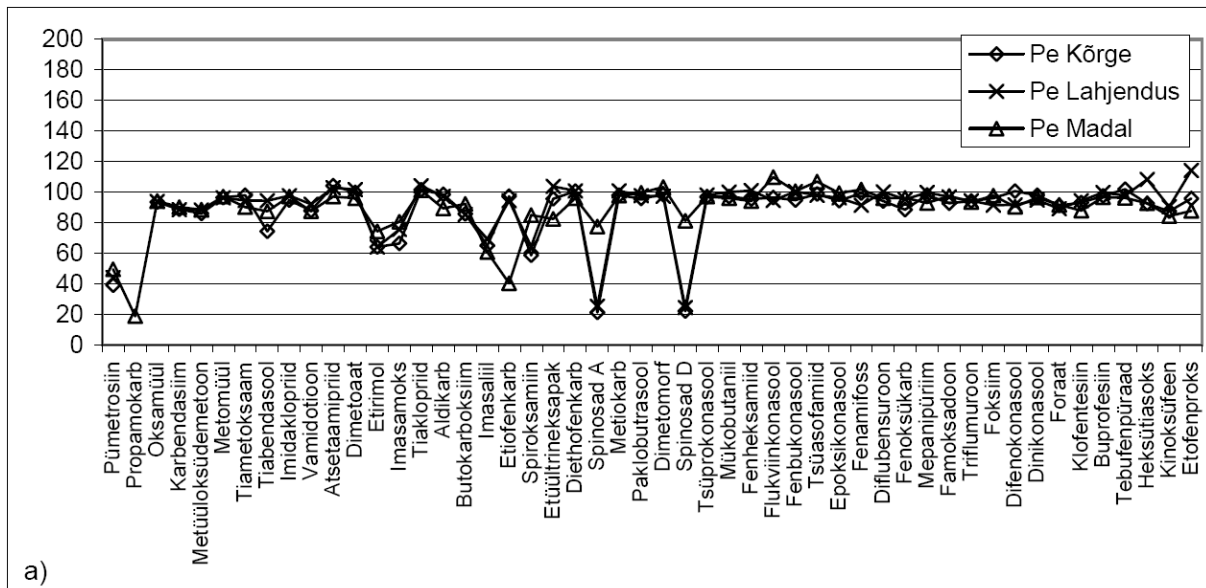


Lisa 4

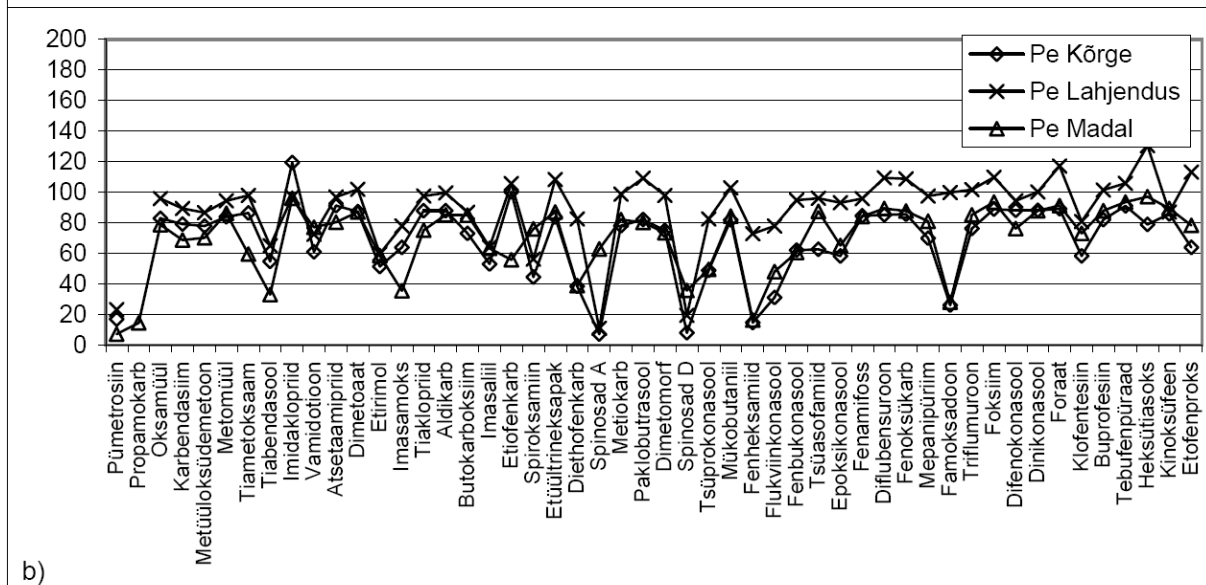
Lahjenduse mõju QuEChERS meetodiga a) lehtsalat, b) apelsin, c) kaer.



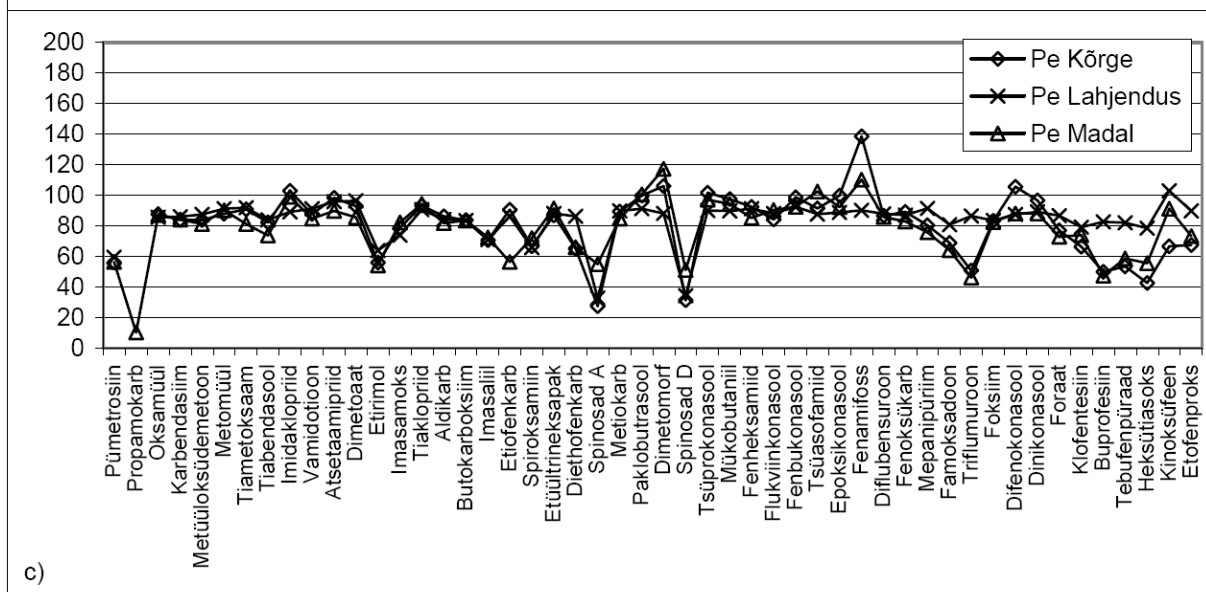
Lahjendamise mõju Luke meetodiga a) lehtsalat, b) mandariin, c) rukis.



a)



b)



c)