



# Γεωργικά Φάρμακα II

Ενότητα 11: Μέθοδοι ανάλυσης γεωργικών φαρμάκων

Ουρανία Μενκίσογλου-Σπυρούδη  
Τμήμα Γεωπονίας



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

# Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



# Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





# Μέθοδοι ανάλυσης γεωργικών φαρμάκων



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ  
2007-2013  
πρόγραμμα για την ανάπτυξη  
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

# Περιεχόμενα ενότητας (1)

1. Στάδια προσδιορισμού γεωργικών φαρμάκων.
2. Αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό Γ.Φ.
3. Multiresidue Methods- Πολυϋπολειμματικές μέθοδοι.
4. Εξοπλισμός εργαστηρίου αναλύσεως Γ.Φ.
5. Ποσοτικός προσδιορισμός Γ.Φ.
6. Κατασκευή καμπύλης αναφοράς.
  - i. Καμπύλη Αναφοράς-Μέθοδος Σταθερής Προσθήκης.
  - ii. Καμπύλη Αναφοράς-Μέθοδος Εσωτερικού Προτύπου.



# Περιεχόμενα ενότητας (2)

7. Ενώσεις που παρεμποδίζουν κατά την ανάλυση Γ.Φ.
8. Εκτίμηση Αξιοπιστίας των Μεθόδων ανάλυσης.
9. Όρια ανίχνευσης.
10. Γενική μεθοδολογία για πολυϋπολειμματικές μεθόδους ανάλυσης γ.φ.
11. Multiresidue Analysis (νέες τάσεις: Μέθοδος QuEChERS).



# Στάδια προσδιορισμού γεωργικών φαρμάκων

## ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

- Συλλογή αντιπροσωπευτικών δειγμάτων.

## ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ

- Ομογενοποίηση.
- Κάθε αναλυτικό δείγμα αντιπροσωπευτικό του αρχικού.

## ΕΚΧΥΛΙΣΗ – ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ-ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

- Παραλαβή γ.φ. από το δείγμα.
- Απομάκρυνση προσμίξεων που παρεμποδίζουν.
- Προσυγκέντρωση των γ.φ. σε μικρό όγκο.

## ΑΝΑΛΥΣΗ

Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός



# Αναλύσεις Γ.Φ. (ιδιαιτερότητες)

- 1. Ανάλυση / Έλεγχος ποικιλίας δειγμάτων:** σκευάσματα, γεωργικά προϊόντα, περιβαλλοντικά δείγματα.
- 2. Προσδιορισμός ταυτόχρονα μεγάλου αριθμού διαφορετικών δ.ο. και τοξικολογικά σημαντικών μεταβολιτών τους στο ίδιο δείγμα.**
- 3. Μικρές συγκεντρώσεις, ppm, ppb.**
- 4. Άγνωστο ιστορικό δείγματος.**
- 5. Έκδοση αποτελεσμάτων σε πολύ σύντομο χρόνο.**





# Αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό Γ.Φ. (1)

## I. ΧΗΜΙΚΕΣ

Χρωματογραφικές GC, HPLC, TLC.  
Φασματοφωτομετρία.  
Χημικός προσδιορισμός στοιχείων.

## II. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ

Ενζυμικές.  
Ανοσοχημικές.

## III. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ

Βιοδοκιμές.



# Αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό Γ.Φ. (2)

## I. ΧΗΜΙΚΕΣ

Χρωματογραφικές GC, HPLC, TLC.  
Φασματοφωτομετρία.

## II. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ

Ανοσοχημικές.

### Ενόργανες μέθοδοι

- ↪ Ευαισθησία.
- ↪ Μείωση χρόνου ανάλυσης.
- ↪ Αυτοματοποίηση.
- ↪ Αξιοπιστία.



# Αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό Γ.Φ. (3)

## Multiresidue Methods / Determination Step

Χρωματογραφικές

Gas Chromatography (GC) Αέριος χρωματογραφία

GC-ECD

Organohalogen

Pyrethroides

Dithiocarbamates ( $S_2C$ )

Chlorofenoxy acids (after derivatization)

Fenyl-ureas (after derivatization)

GC-NPD

Organophosphorus

OrganoNitrogen

GC-FPD

Organophosphorus (modo P)

Organosulfur (modo S)

GC-MS

Most of the GC-amenable



# Αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό Γ.Φ. (4)

## Multiresidue Methods / Determination Step

### Χρωματογραφικές

### Liquid Chromatography (LC) Υγρή χρωματογραφία

#### LC-FL/UV

N-Methylcarbamates (RPC-OPA/FL)

Phenylureas (RPC-OPA/FL)

Benzoylphenylureas (UV)

Chlorofenoxy Acids (UV)

Benzimidazols (UV/FL)

Όλα?

#### LC-MS

### Non-Chromatographic Methods

Colorimetric Φασματοφωτομετρία Dithiocarbamates (CS<sub>2</sub>)



# Ενόργανη χημική ανάλυση

## Πρέπει :

- Ω Η φυσική κατάσταση του δείγματος να είναι κατάλληλη.
- Ω Να μην υπάρχουν ουσίες που παρεμποδίζουν τη μέτρηση της δ.ο.
- Ω Η συγκέντρωση της δ.ο. στο δείγμα να μην είναι μικρότερη από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου.

**Για αυτό απαιτείται :**

**ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ**



# Κύριο κριτήριο επιλογής της μεθόδου Ευαισθησία - Εξειδίκευση

Κατά προτίμηση μία από τις επίσημες μεθόδους.

*Η μέθοδος που θα επιλεγεί εξαρτάται από:*

- Το είδος του ή των Γεωργικών Φαρμάκων (πολικότητα, ύπαρξη στοιχείου N, P, S, X).
- Το είδος του δείγματος.
- Τις δυνατότητες του Εργαστηρίου.

*Προτίμηση στις*

**“ πολυ-υπολειμματικές μεθόδους ”  
(Multiresidue Methods)**



# Multiresidue Methods- Πολυϋπολειμματικές μέθοδοι

Δίνουν τη δυνατότητα ανάλυσης μεγάλου αριθμού δ.ο. ή και άλλων ρυπαντών σε ένα δείγμα ταυτόχρονα με μία ανάλυση. Επιλογή επίσημης μεθόδου που προτείνεται από διεθνή οργανισμό πιστοποίησης π.χ. European Committee for Standardisation (CEN) ή το AOAC International.

**Sample Preparation (προκατεργασία δείγματος)**

**Extraction εκχύλιση**

**Clean-up καθαρισμός**

**GC**

**LC**

**NPD - FPD - PFPD - ECD**

**MS**

**UV/DAD/Fluorescence**

# Single residue Methods- μονοδύναμες μέθοδοι ανάλυσης

Δίνουν τη δυνατότητα ανάλυσης μίας δ.ο. σε ένα δείγμα με μία συγκεκριμένη μέθοδο ανάλυσης όταν η δ.ο. δεν προσδιορίζεται με κάποια από τις πολυϋπολειμματικές μεθόδους.

Επιλογή επίσημης μεθόδου που προτείνεται από διεθνή οργανισμό πιστοποίησης π.χ. European Committee for Standardisation (CEN) ή τοAOAC International.





# Ευαισθησία προσδιορισμού Γ.Φ. με διάφορες μεθόδους

Ποσότητα για ανίχνευση	Βάρος (g)	Βάρος Γ.Φ./g	Αριθμός μορίων	Μέθοδος ανάλυσης
milligram (mg)	$10^{-3}$	1 ppth	$10^{18}$	ογκομέτρηση
microgram (g)	$10^{-6}$	1 ppm	$10^{15}$	φωτομετρία
nanogram (ng)	$10^{-9}$	1 ppb	$10^{12}$	GC & HPLC
picogram (pg)	$10^{-12}$	1 ppt	$10^9$	GC/MS & LC/MS
femtogram (fg)	$10^{-15}$	1 ppqua	$10^6$	MS
attogram (at)	$10^{-18}$	1 ppqui	$10^3$	δεν υπάρχει



# Κατηγορίες δειγμάτων

1.Υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία.

Μικρή περιεκτικότητα σε λίπος.

Φρούτα, λαχανικά

2.Υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία.

Υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος.

Κρέας, Γαλακτοκομικά

3.Μικρή περιεκτικότητα σε υγρασία.

Μικρή περιεκτικότητα σε λίπος.

Ξηρά προϊόντα,  
δημητριακά, αλεύρι

4. Μικρή περιεκτικότητα σε υγρασία.

Υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος.

Κακάο, καρύδια

5. Δείγματα από το περιβάλλον.

Έδαφος, νερό, αέρας



# Εξοπλισμός εργαστηρίου αναλύσεως Γ.Φ. (1)

## 1. Βασικός εξοπλισμός Χημικού Εργαστηρίου.

## 2. Ειδικός εξοπλισμός:

- Κόπτες τροφών, αναμικτήρες κ.λπ.
- Συστήματα εκχυλίσεως.
- Συστήματα συμπυκνώσεως διαλυτών.
- Συστήματα χρωματογραφίας.



# Εξοπλισμός εργαστηρίου αναλύσεως Γ.Φ. (2)

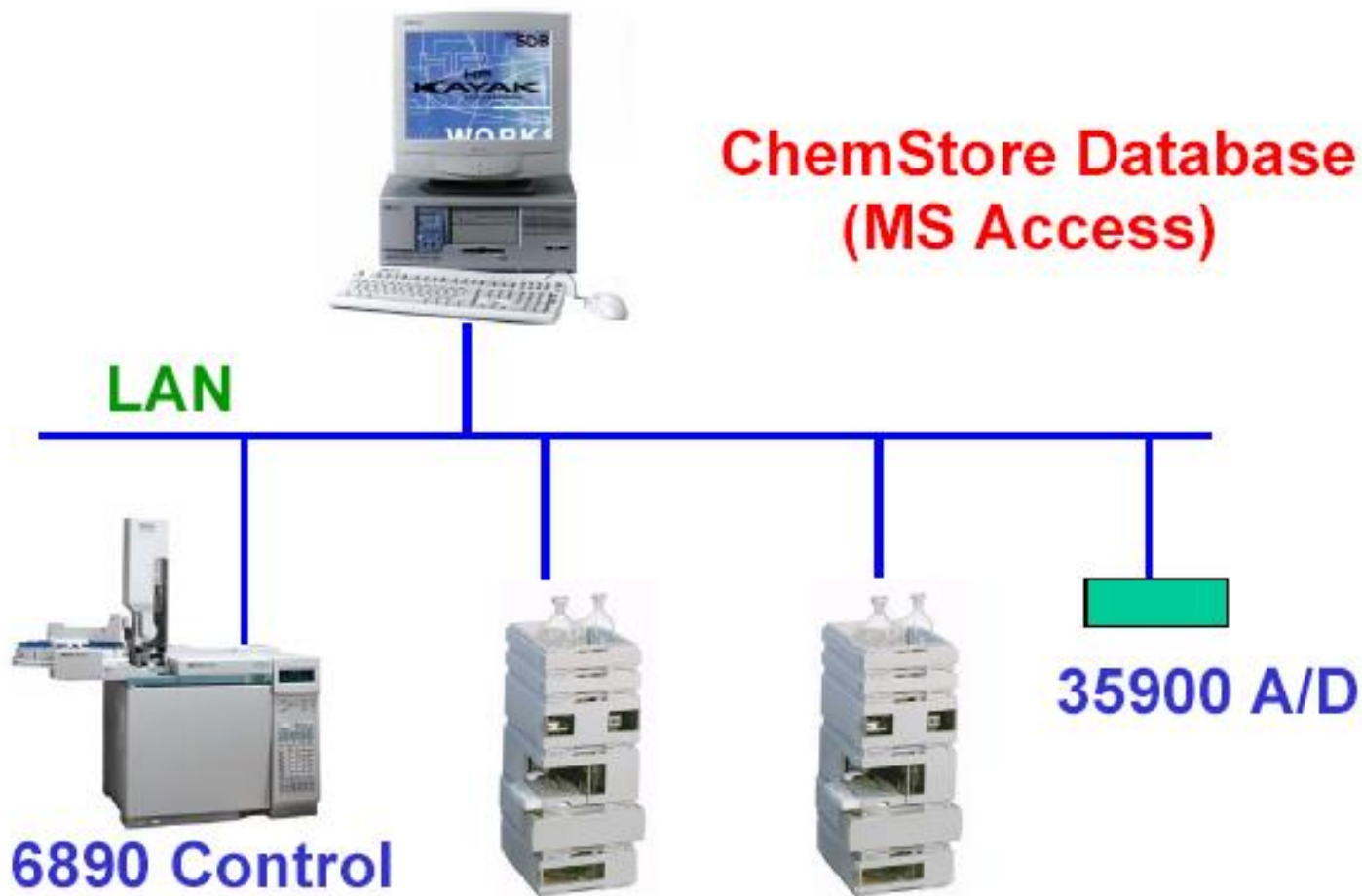
HPLC



GC



# Εξοπλισμός εργαστηρίου αναλύσεως Γ.Φ. (3)



# Ποσοτικός προσδιορισμός Γ.Φ.

σκευάσματα, γεωργικά προϊόντα, περιβαλλοντικά δείγματα (1)

## Στάδια –σειρά εργασίας:

1. Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων.
2. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης (καμπύλη αναφοράς).
3. Εκτίμηση της μεθόδου (αξιολόγηση ή & επικύρωση):
  - Έλεγχος μάρτυρα και αντιδραστηρίων (παράλληλα ανάλυση δείγματος – μάρτυρα).
  - Έλεγχος αναλυτικής μεθόδου / διαδικασίας (πειράματα ανακτήσεων).



# Ποσοτικός προσδιορισμός Γ.Φ.

σκευάσματα, γεωργικά προϊόντα, περιβαλλοντικά δείγματα (2)

*Στάδια –σειρά εργασίας:*

4. Ανάλυση δείγματος (ορισμένο βάρος/όγκος) & μέτρηση της ποσότητας του Γ.Φ. που περιέχεται.

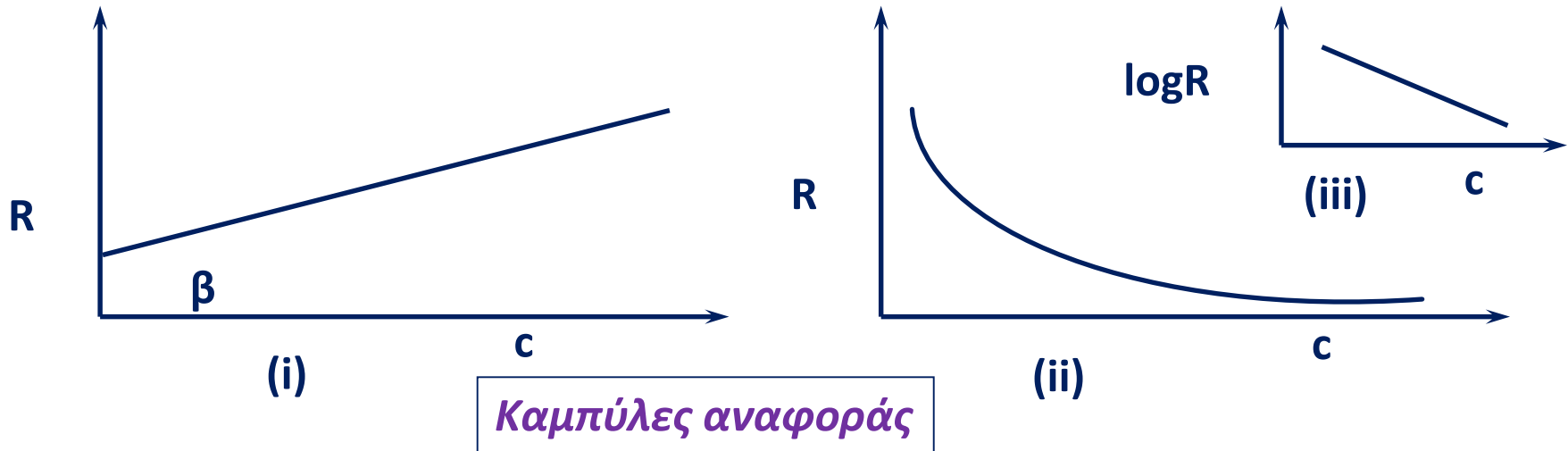
5. Υπολογισμός από την τιμή μέτρησης και την πρότυπη καμπύλη της περιεκτικότητας του δείγματος σε Γ.Φ.

6. Αποτελέσματα: για υπολείμματα *ppm, ppb*

για σκευάσματα % περιεκτικότητα *B/B ή B/O*



# Κατασκευή καμπύλης αναφοράς



$R$  = απόκριση του οργάνου για την ιδιότητα που μετρείται (π.χ. απορρόφηση, εμβαδόν κορυφής χρωματογραφήματος κ.λπ.)  
Το μέγεθος της ιδιότητας  $R$  εξαρτάται από τη συγκέντρωση  $C$ .

Συνήθως ισχύει  $R = \alpha C + \beta$  (σχήμα i, γραμμική).

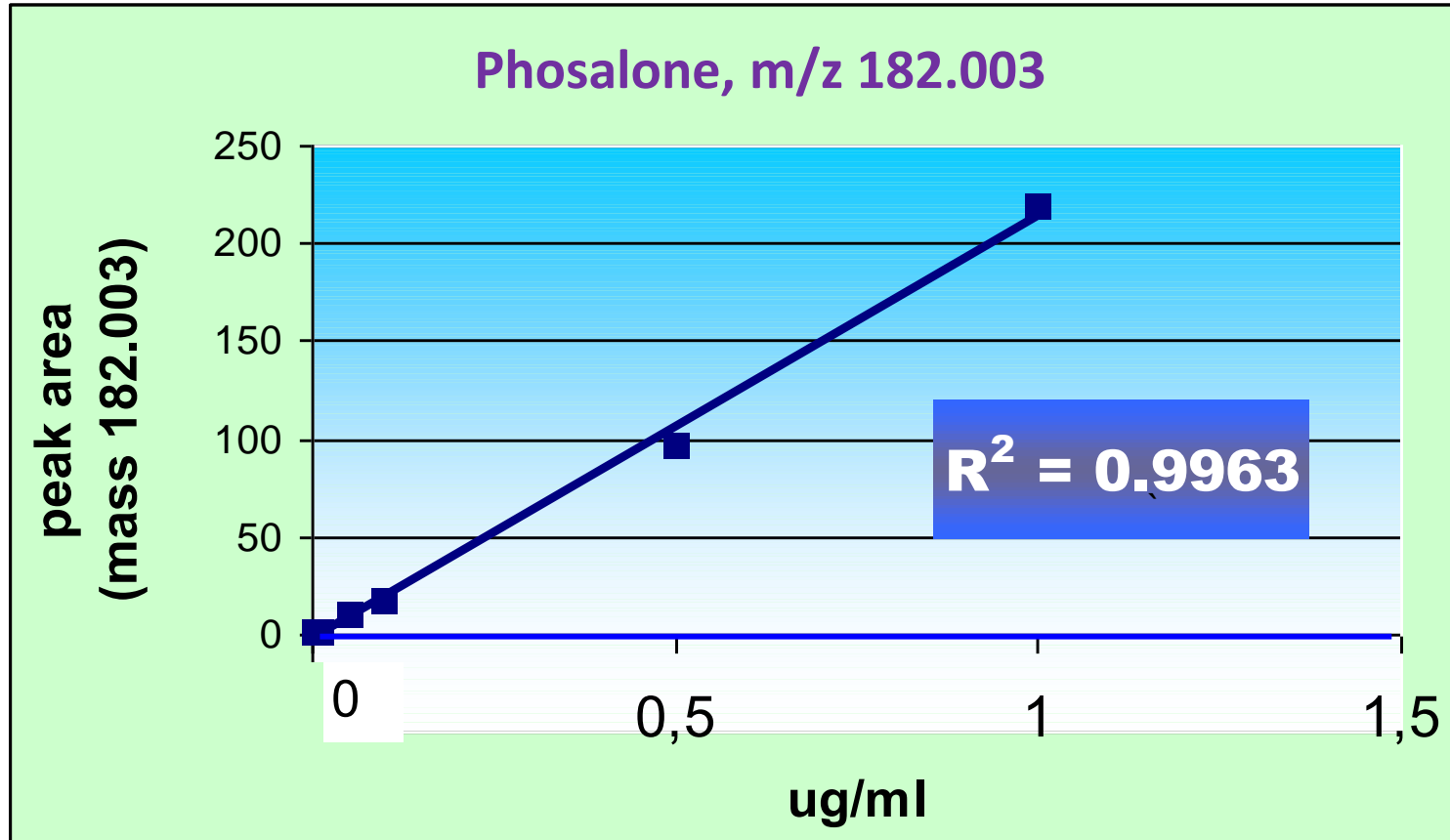
$\alpha$  = κλίση της ευθείας και καθορίζει την ευαισθησία.

$\beta$  = σταθερά που εξαρτάται από το χημικό σύστημα και από το όργανο.



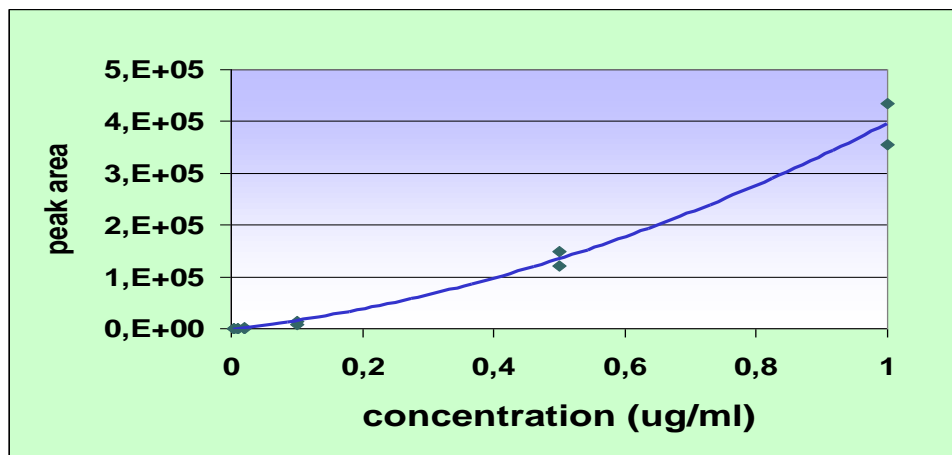


# Γραμμικότητα (Linearity)



# Καμπύλη αναφοράς- απόκλιση από την ευθεία

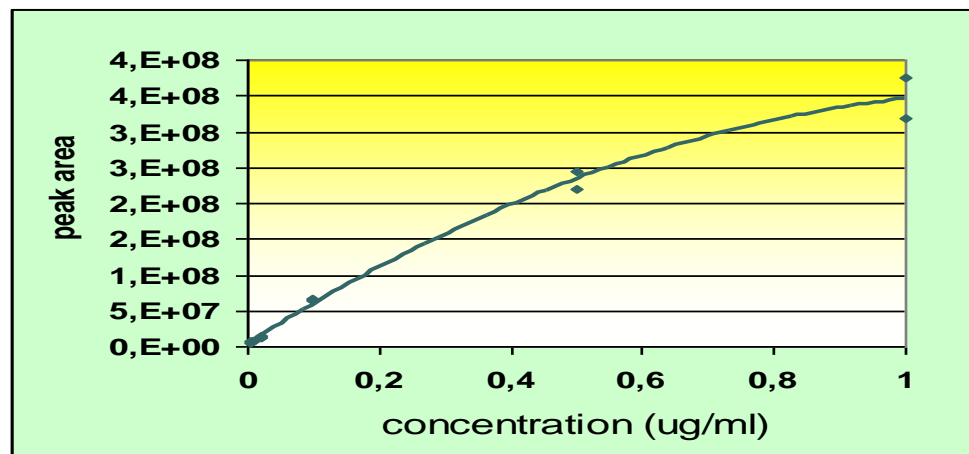
THIABENDAZOLE - calibration curves (0.005 - 1 mg/ml)



GC/MS

quadrupole, EI  
SIM analysis

$$R^2 = 0.9626$$



LC/MS

ion trap, ESI+  
MS/MS analysis

$$R^2 = 0.9659$$



# Επίδραση υποστρώματος- Matrix effect

- Συχνά η παρουσία διαφόρων συστατικών του δείγματος (υπόστρωμα) παρεμποδίζει την μέτρηση στο χρωματογράφο με αποτέλεσμα τη μέτρηση τιμών διαφορετικών από τις πραγματικές (συνήθως μεγαλύτερες).
- Για αυτό οι πρότυπες καμπύλες κατασκευάζονται με διαλύματα των προτύπων ουσιών σε εκχύλισμα δείγματος και όχι σε διαλύτες ή με τη μέθοδο της Σταθερής Προσθήκης.



# Ενώσεις που παρεμποδίζουν κατά την ανάλυση Γ.Φ.

## Τάξη

## Είδος

Λιπίδια

κηροί, λίπη, έλαια

Χρωστικές

χλωροφύλλες,ξανθοφύλλες

Αζωτούχες

πρωτεΐνες, αλκαλοειδη

Υδατανθρακες

άμυλο, σάκχαρα

Λιγνίνες

φαινόλες, φαινολικά

Τερπένια

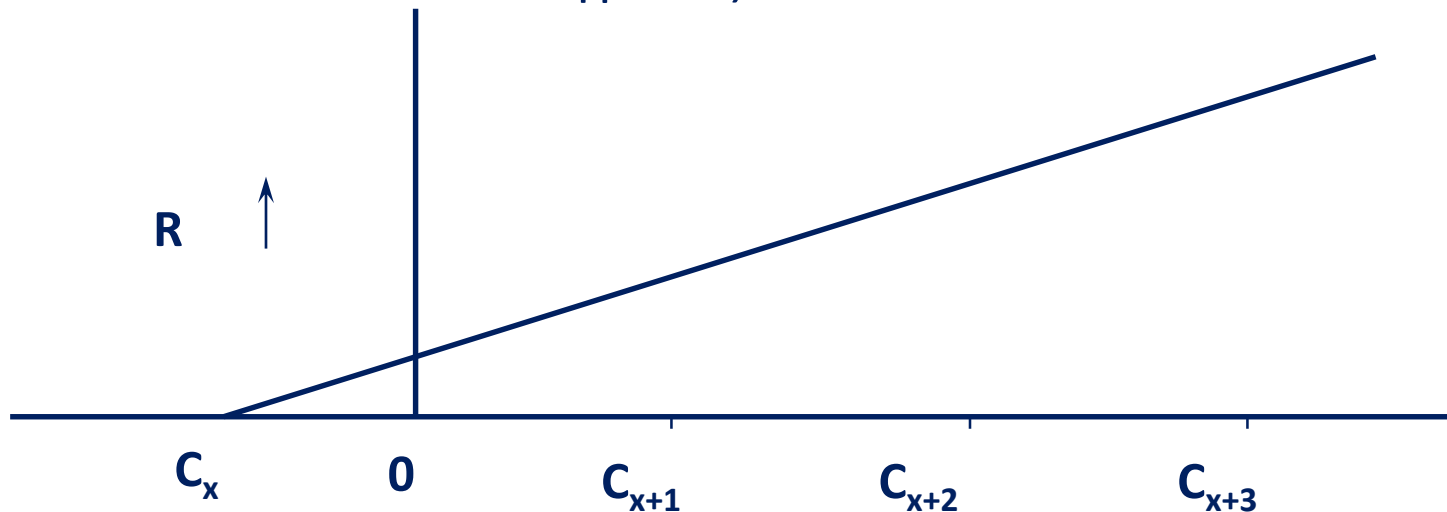
Ρυπαντές

αρωματικοί & πολυκυκλικοί  
υδρογονάνθρακες



# Καμπύλη Αναφοράς- Μέθοδος Σταθερής Προσθήκης

Εφαρμόζεται για να εξουδετερώσει παρεμποδίσεις που οφείλονται σε κάποιο συστατικό του δείγματος.



Καμπύλη αναφοράς με τη μέθοδο της σταθερής προσθήκης για προσδιορισμό άγνωστης συγκεντρώσεως  $C_x$ .

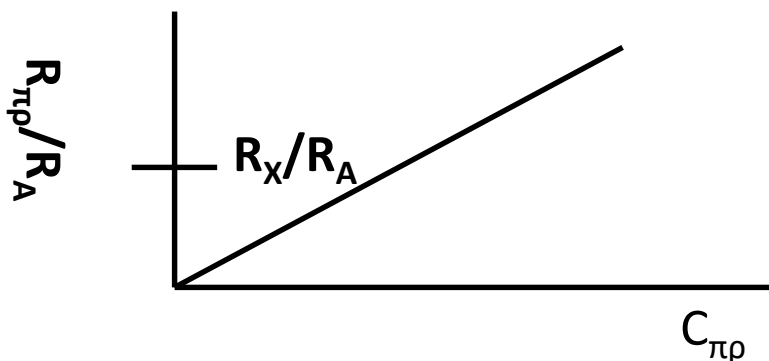
Όταν δεν είναι γνωστή η χημική σύσταση των δειγμάτων τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάζονται με προσθήκη γνωστών συγκεντρώσεών τους στο ίδιο το δείγμα ή το μάρτυρα (δείγμα που δεν περιέχει δ.ο. γεωργικού φαρμάκου που προσδιορίζεται).



# Καμπύλη Αναφοράς- Μέθοδος Εσωτερικού Προτύπου

Εφαρμόζεται για να εξουδετερώσει σφάλματα που οφείλονται σε διακυμάνσεις παραμέτρων λειτουργίας του οργάνου κατά τη διάρκεια μετρήσεων.

- ◆ Προσθήκη γνωστής σταθερής ποσότητας μιας ουσίας A που χαρακτηρίζεται εσωτερικό πρότυπο
- ◆ Μέτρηση του  $R_A$ , και του  $R_X$  για το άγνωστο και του  $R_{\pi\rho}$  για τα πρότυπα
- ◆ Κατασκευή καμπύλης  $R_{\pi\rho}/R_A$  ως προς  $C_{\pi\rho}$
- ◆ Σύγκριση του  $R_X/R_A$  και εύρεση του  $C_X$



*Καμπύλη αναφοράς με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου για προσδιορισμό άγνωστης συγκεντρώσεως  $C_X$ .*



# Εκτίμηση Αξιοπιστίας των Μεθόδων ανάλυσης Επικύρωση μεθόδου- Method validation

Η αξιοπιστία (*reliability*) των μεθόδων ανάλυσης εξαρτάται:

- Εξειδίκευση, *specificity* /  
Εκλεκτικότητα, *selectivity*

- Ακρίβεια, *accuracy*

Ανάκτηση, *recovery*

- Επαναληψιμότητα, *precision*

- Ευαισθησία μεθόδου, *sensitivity*

**Ιδιαίτερη σημασία στην αξιολόγηση (*evaluation*) & επικύρωση (*validation*) των μεθόδων ανάλυσης.**



# Εκτίμηση Αξιοπιστίας των Μεθόδων ανάλυσης (1)

## ❓ Εξειδίκευση, *specificity* / Εκλεκτικότητα, *selectivity*

❓ **Εξειδίκευση** ικανότητα του **ανιχνευτή** (σε συνδυασμό με την εκλεκτικότητα της αναλυτικής μεθόδου ) να διακρίνει τη συγκεκριμένη δ.ο.

π.χ. GC-MS -EI: ειδικός, όχι εκλεκτικός  
GC-MS -MS ειδικός και εκλεκτικός

❓ **Εκλεκτικότητα:** ικανότητα της αναλυτικής μεθόδου (εκχύλιση, καθαρισμός, και ειδικά ο ανιχνευτής) να διακρίνει τη συγκεκριμένη δ.ο. που προσδιορίζεται μεταξύ των υπολοίπων ενώσεων του δείγματος.

π.χ. GC-ECD: εκλεκτικός, όχι ειδικός





# Εκτίμηση Αξιοπιστίας των Μεθόδων ανάλυσης (2)

## Ακρίβεια :

Η απόκλιση της μέτρησης από την πραγματική τιμή.  
Περιγράφει την ορθότητα του πειραματικού αποτελέσματος  
*Εκφράζεται με το σφάλμα, error*

- Αδυναμία και δυσκολία εκτίμησης επηρεάζεται από
  - Τυχαία σφάλματα (random errors) και
  - Συστηματικά σφάλματα (bias)

**Προσδιορίζεται με ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ!!!**

Σύγκριση του αποτελέσματος της ανάλυσης του δείγματος με γνωστό ειδικά παρασκευασμένο δείγμα

**Ανάκτηση ( R %) της ποσότητας που προστέθηκε στο δείγμα.**



# Εκτίμηση Αξιοπιστίας των Μεθόδων ανάλυσης (3)

- ❓ **Επαναληψιμότητα:** Πόσο κοντινές τιμές μετρήσεων λαμβάνονται από πολλές αναλύσεις του ίδιου δείγματος. διασπορά-

*Τυχαία σφάλματα – αναλυτής, όργανα*

Τυπική απόκλιση SD → εκφράζει την επαναληψιμότητα

*Συντελεστής παρέκκλισης, CV*

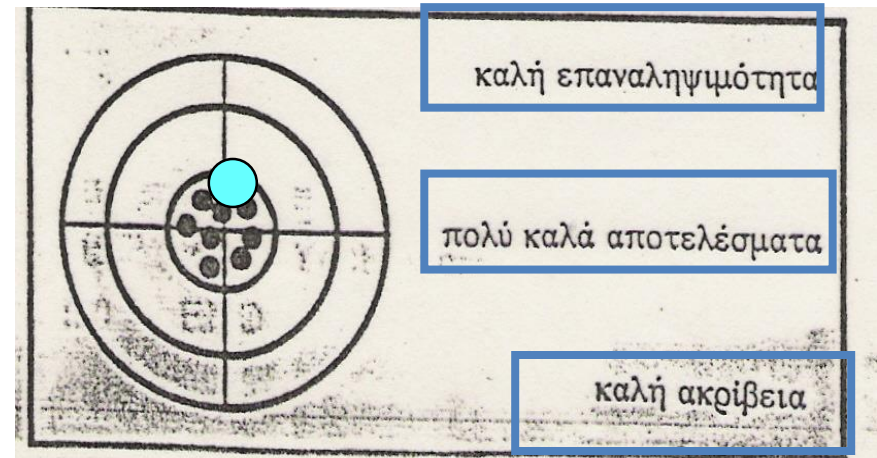
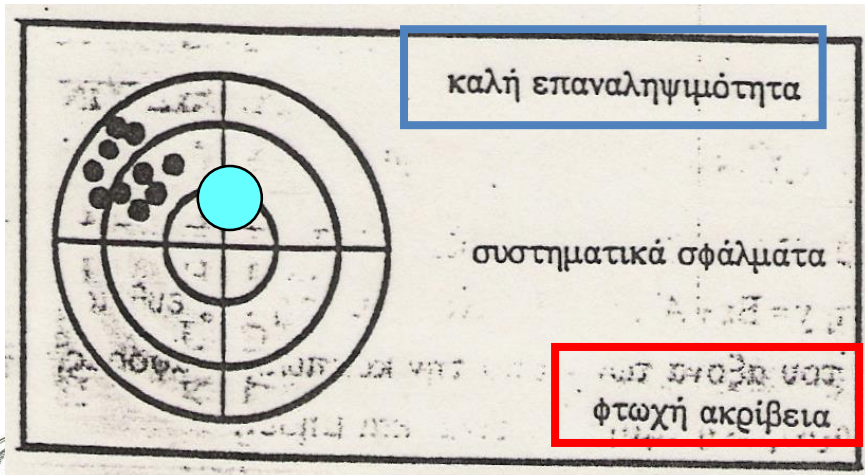
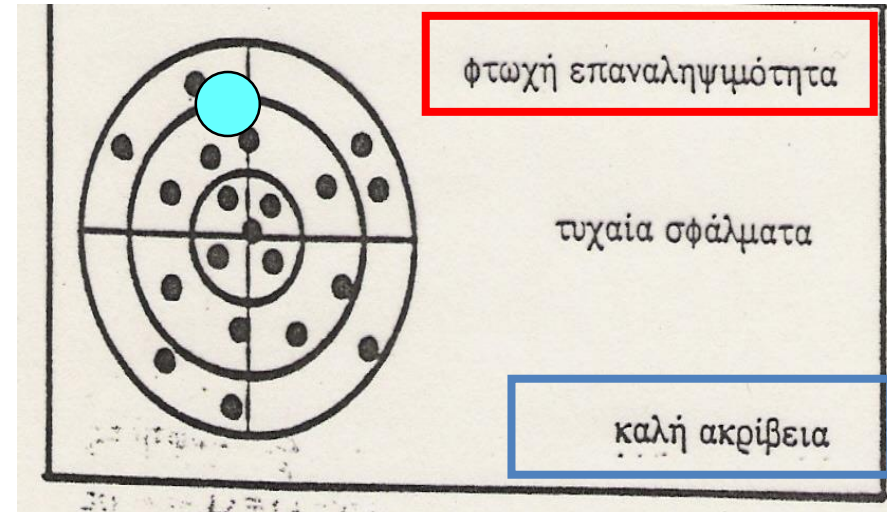
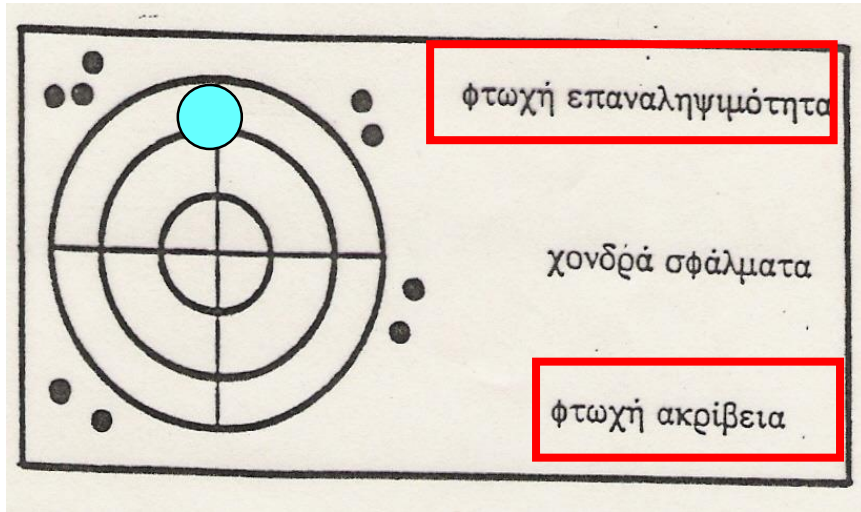
❓

$$CV = RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{διασπορά μετρήσεων}$$

Ενδοεργαστηριακή επαναληψιμότητα, *repeatability*  
Διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, *reproducibility*



# Πραγματική τιμή



# Εκτίμηση Αξιοπιστίας των Μεθόδων ανάλυσης (4)

❓ *Ευαισθησία μεθόδου*

$$S = \frac{dR}{dC}$$

Το μέτρο της ικανότητας της μεθόδου ή του οργάνου να διακρίνουν μικρές διαφορές στη συγκέντρωση της ουσίας (γ.φ) που μετρείται.

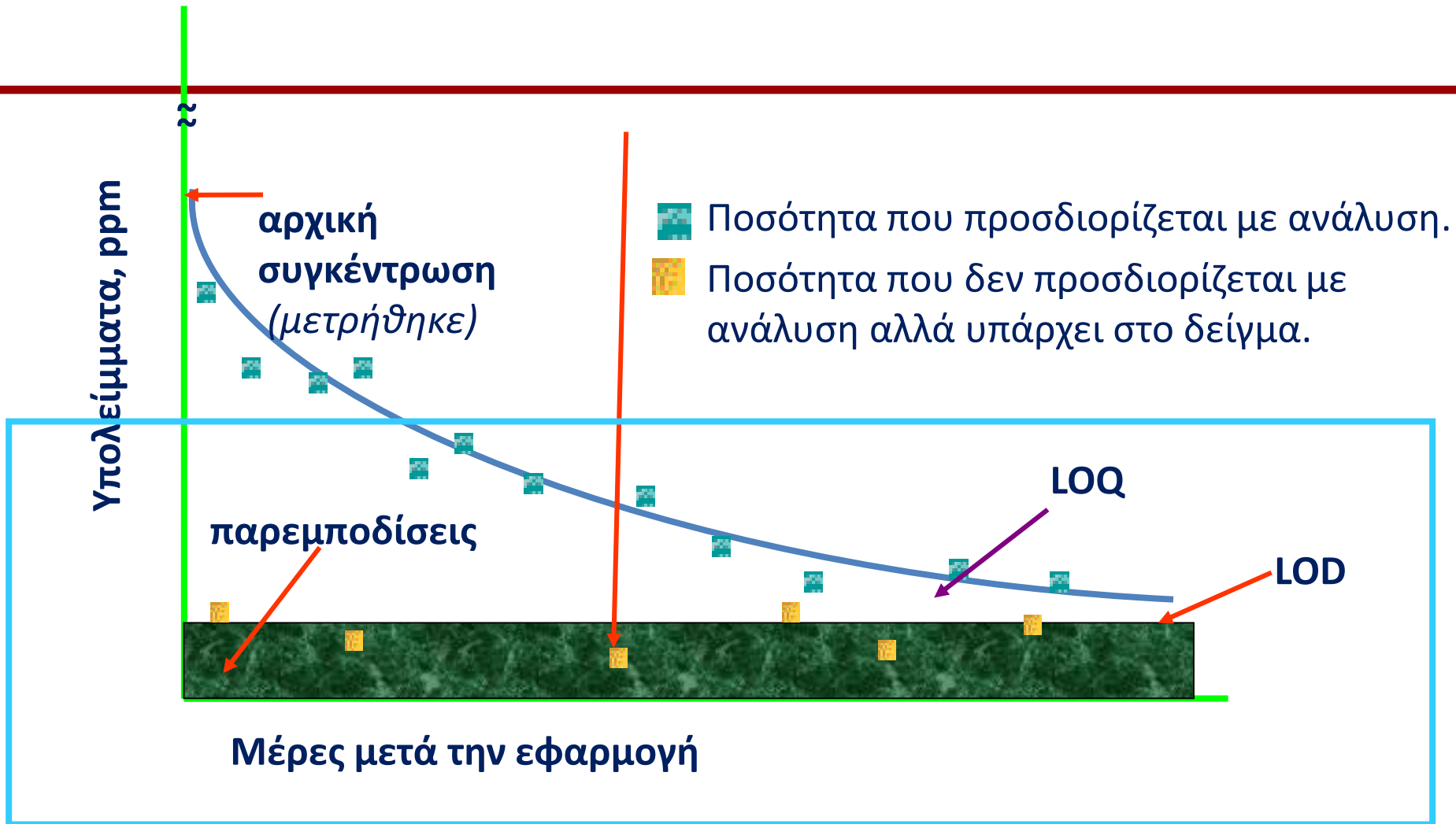
**Εξαρτάται από το όργανο και από το δείγμα.**

Στη Γραμμική περιοχή καθορίζεται η κλίση καμπύλης αναφοράς και η επαναληψιμότητα.





# Όρια ανίχνευσης (2)



Υποθετική καμπύλη αποικοδόμησης/υποβάθμισης Φ.Π.



# Όριο ανιχνεύσεως, Limit of Detection (LOD)

*Η μικρότερη συγκέντρωση μιας ουσίας σε ένα δείγμα που μπορεί να ανιχνευθεί ποιοτικά αλλά όχι να προσδιορισθεί και ποσοτικά με ακρίβεια υπό τις ορισμένες αναλυτικές συνθήκες της μεθόδου.*

Εξαρτάται από το σύστημα ανίχνευσης





# Όριο ποσοτικού προσδιορισμού LOQ ή LOD

Limit of Determination (LOD ή LDM),  
Limit of Quantitation (LOQ)

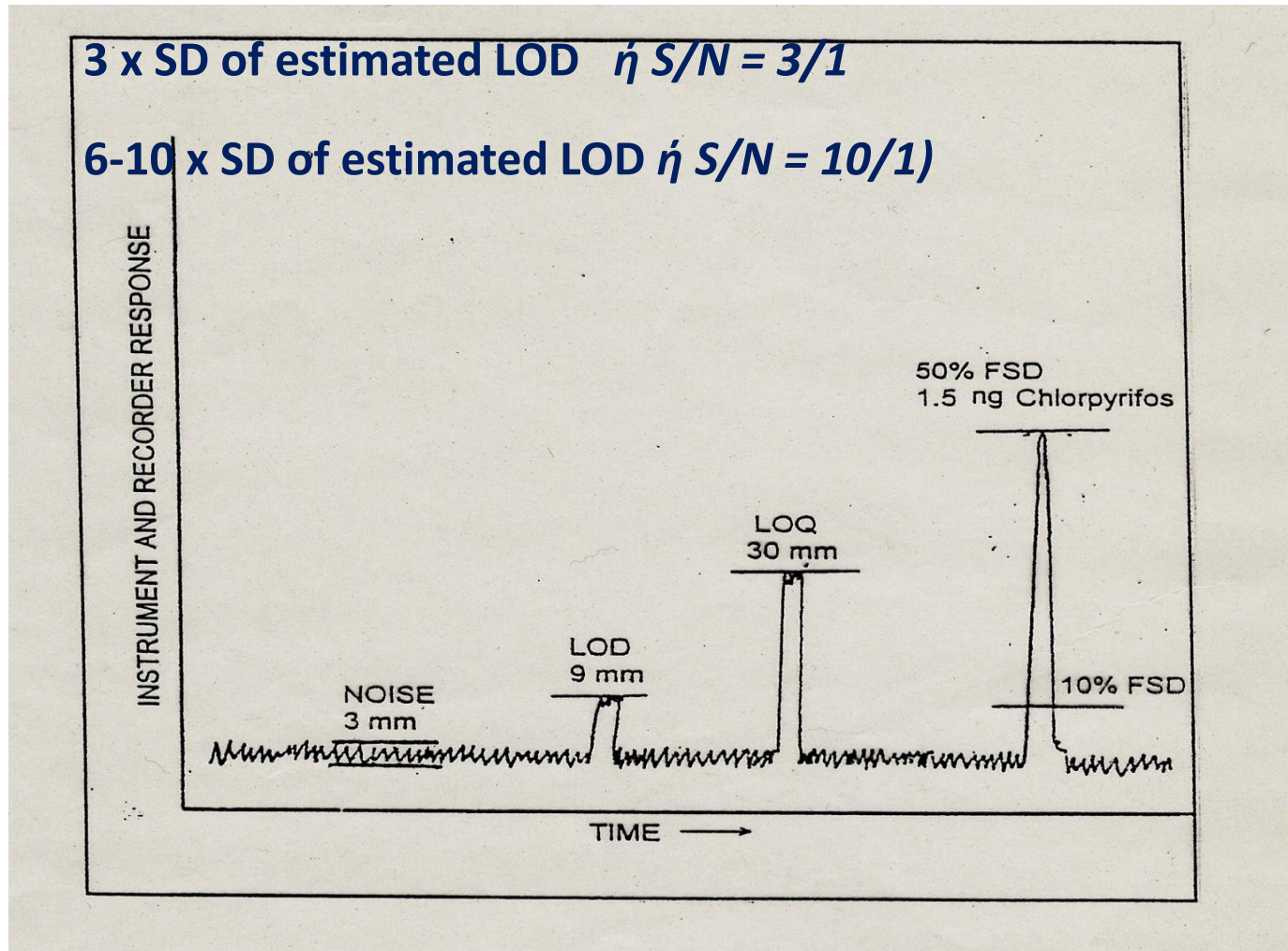
*Η ελάχιστη συγκέντρωση ή ποσότητα μιας ουσίας σε ένα δείγμα που μπορεί να προσδιορισθεί ποσοτικά με αποδεκτή ακρίβεια και βεβαιότητα υπό τις ορισμένες αναλυτικές συνθήκες της μεθόδου.*

- Καθορίζεται για κάθε αναλυτική μέθοδο.*
- Όριο ποσοτικού προσδιορισμού > Όριο ανιχνεύσεως.*
- Στη νομοθεσία όταν το MRL ορίζεται στο όριο προσδιορισμού της μεθόδου αναφέρεται ως LOD MRLs.*

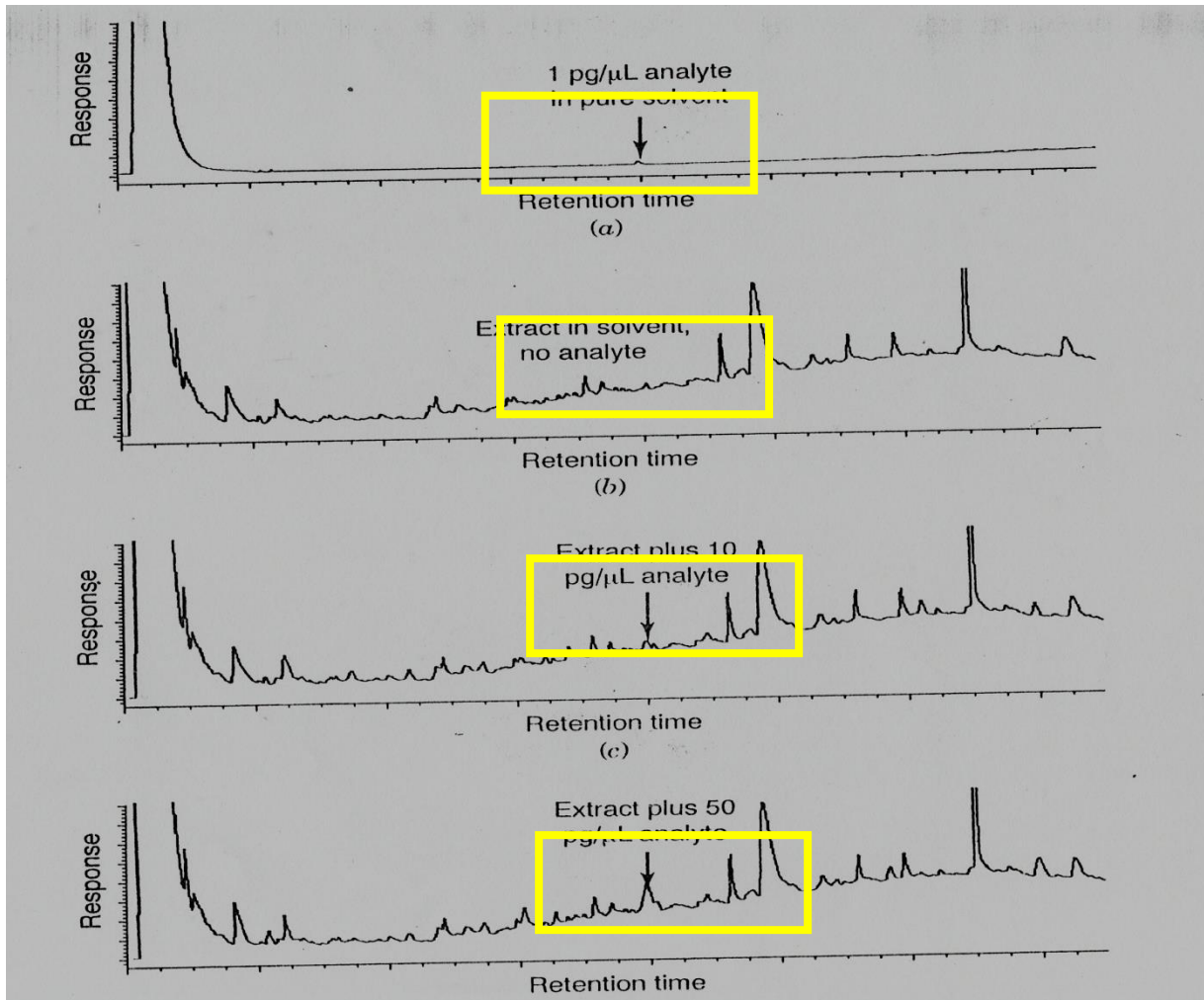




# Εκτίμηση του LOD & LOQ από τη σχέση: σήματος $S$ /θορύβου $N$ ( $S/N$ ) (1)



# Εκτίμηση του LOD & LOQ από τη σχέση: σήματος $S$ /θορύβου $N$ ( $S/N$ ) (2)



1 pg/μl

0 pg/μl

10 pg/μl

LOD

50 pg/μl

LOQ



# Έκφραση αποτελεσμάτων: εκφράζονται σε mg/kg σε συσχέτιση με το MRL (1)

<LOD

LOD < mg/kg (ppm)/ μg/kg (ppb) < LOQ

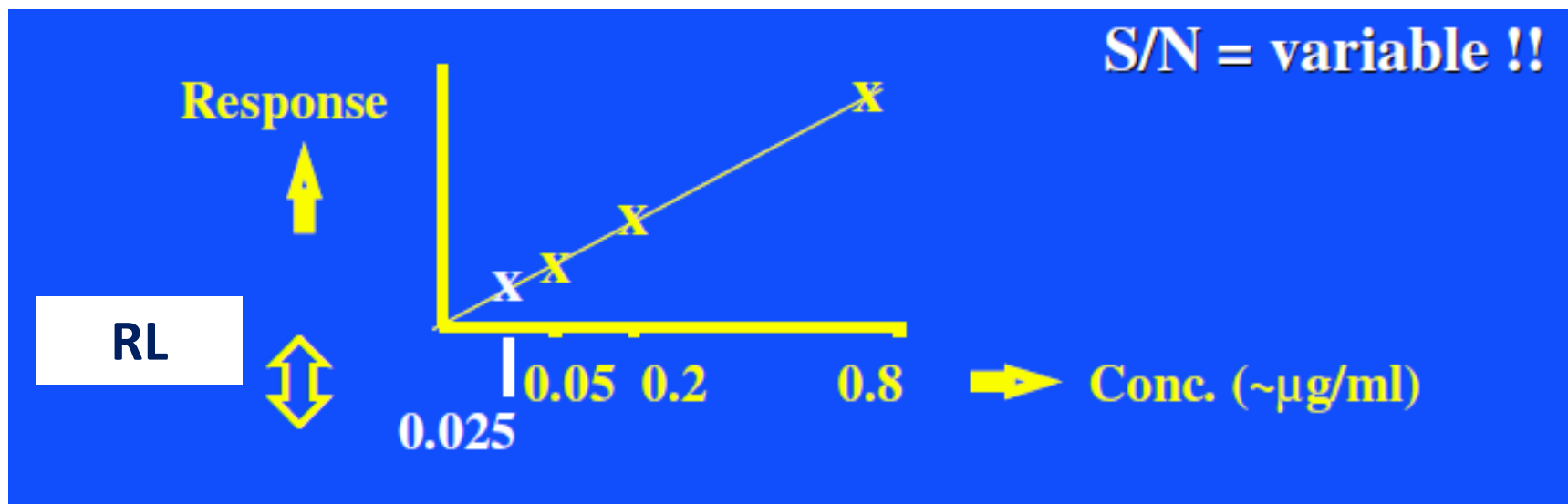
LOQ < ppm / ppb

Η τιμή LOD της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση αναφέρεται πάντα μαζί με τα αποτελέσματα των αναλύσεων.

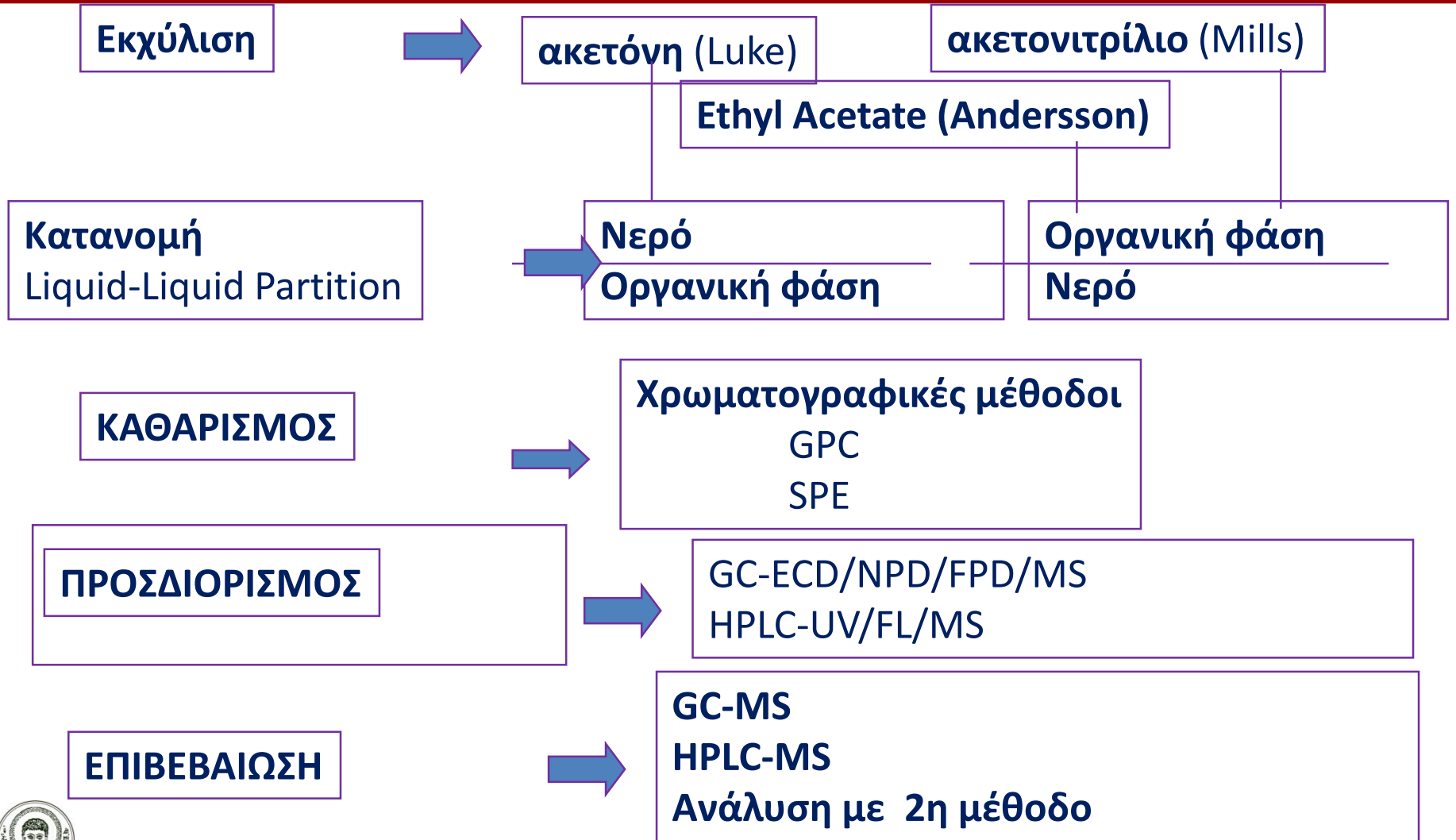


# Έκφραση αποτελεσμάτων: εκφράζονται σε mg/kg σε συσχέτιση με το MRL (2)

Όριο αναφοράς -reporting limit, RL- το κατώτερο όριο που το αποτέλεσμα μιας ανάλυσης με τη συγκεκριμένη μέθοδο αναφέρεται με ακρίβεια (σύμφωνα με την καμπύλη αναφοράς που δημιούργησε το Εργαστήριο ανάλυσης).

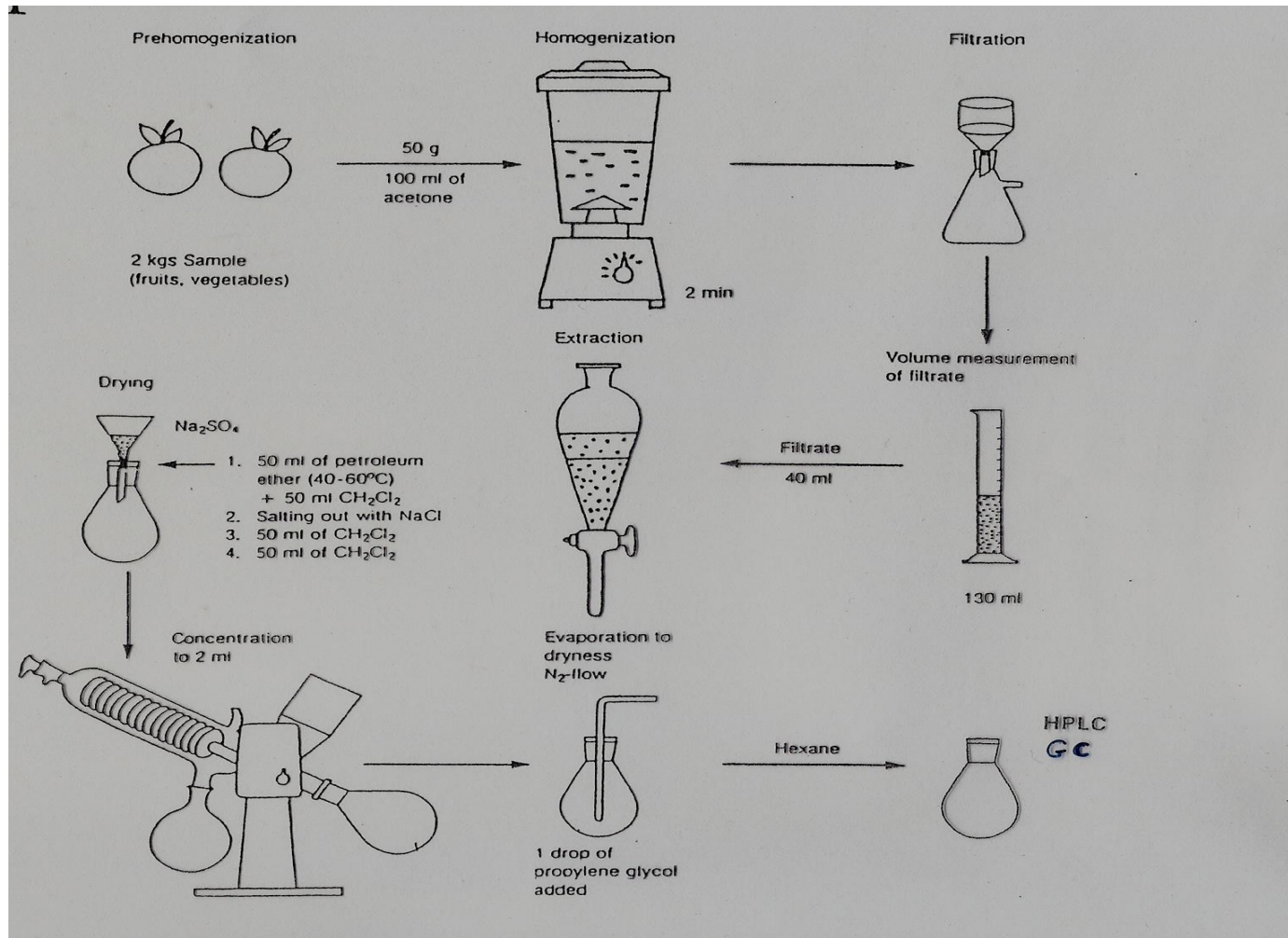


# Γενική μεθοδολογία για πολυϋπολειμματικές μεθόδους ανάλυσης γ.φ. (1)





# Γενική μεθοδολογία για πολυϋπολειμματικές μεθόδους ανάλυσης γ.φ. (2)



# Γενική μεθοδολογία για πολυϋπολειμματικές μεθόδους ανάλυσης γ.φ. (3)



(QuEChERS)

# Γενική μεθοδολογία για πολυϋπολειμματικές μεθόδους ανάλυσης γ.φ. (4)

- QuEChERS is a time-saving, sample preparation method that prepares fruits and vegetables for multi-class, multi-residue pesticide analysis.
- It is gaining popularity because of its ability to increase lab productivity, reduce solvent usage, and to provide "just-enough" sample clean-up for LC-MS/MS and GC-MS.





# Αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό Γ.Φ. (1) (εφαρμογή στην ανάλυση)

## Multiresidue Methods / Determination Step

### Χρωματογραφικές

### Gas Chromatography (GC) Αέριος χρωματογραφία –εφαρμογή στην ανάλυση

#### GC-ECD

Organohalogen

Pyrethroides

Dithiocarbamates ( $S_2C$ )

Chlorofenoxy acids (after derivatization)

Fenyl-ureas (after derivatization)

#### GC-NPD

Organophosphorus

OrganoNitrogen

#### GC-FPD

Organophosphorus (modo P)

Organosulfur (modo S)

#### GC-MS

Most of the GC-amenable



# Αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό Γ.Φ. (2) (εφαρμογή στην ανάλυση)

## Multiresidue Methods / Determination Step

### Χρωματογραφικές

### Liquid Chromatography (LC) Υγρή χρωματογραφία –εφαρμογή στην ανάλυση

#### LC-FL/UV

N-Methylcarbamates (RPC-OPA/FL)

Phenylureas (RPC-OPA/FL)

Benzoylphenylureas (UV)

Chlorofenoxy Acids (UV)

Benzimidazols (UV/FL)

Όλα?

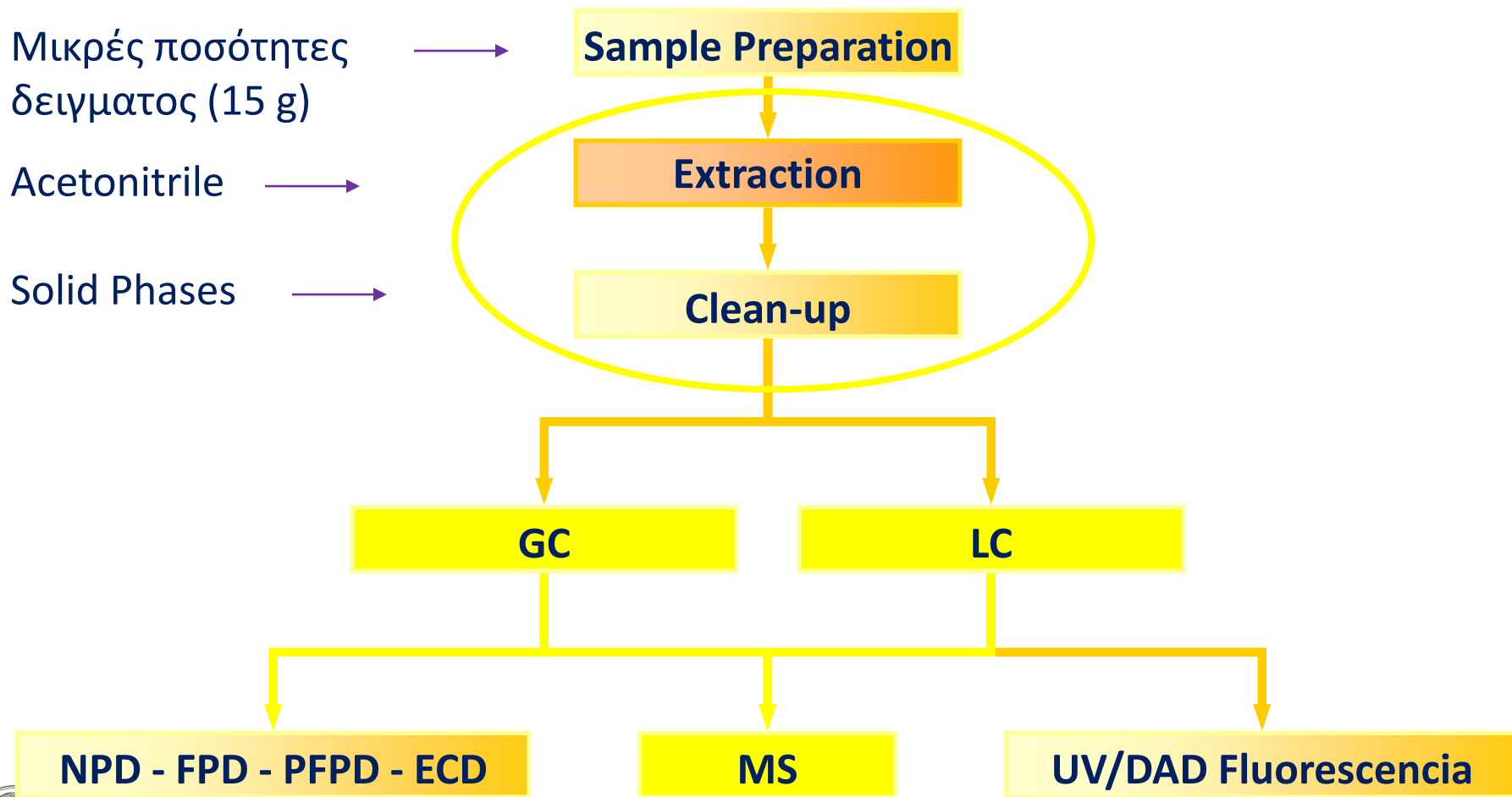
#### LC-MS

### Non-Chromatographic Methods

Colorimetric Φασματοφωτομετρία Dithiocarbamates (CS<sub>2</sub>)



# Multiresidue Analysis (νέες τάσεις: Μέθοδος QuEChERS)



# QuEChERS Μέθοδος (Lehotay & Anastassiades)

15 g δείγμα (σε σωλήνα Teflon, 50 mL -

προσθήκη 15 mL Ακετονιτρίλιο (1% οξικό οξύ)

προσθήκη 6 g MgSO<sub>4</sub> + 1,5 g Na Ac

Προσθήκη διαλύματος εσωτερικό πρότυπο IS

παραλαβή 1 mL + 150 mg MgSO<sub>4</sub> + 50 mg PSA

Μεταφορά σε φιαλίδιο GC και LC + TPP

(LVI)GC/MS και LC/MS-MS



# QuEChERS Step 1

**x g sample + x mL MeCN (x = 10),  
then vortex/shake 1 min**



# QuEChERS Step 2

**Add 0.4x g MgSO<sub>4</sub> + 0.1x g PSA (x = 10),  
then vortex/shake 1 min**



PSA προσροφητικό για  
καθαρισμό του  
δείγματος από τις  
προσμίξεις.



# Περιορισμοί των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται στα εργαστήρια ελέγχου υπολειμμάτων

- ⇒ Ο συνολικός αριθμός των δ.ο. γεωργικών φαρμάκων που έχει ως στόχο/δυνατότητα κάθε αναλυτικό εργαστήριο (40 – 300), διαφέρει και εξαρτάται από το ανθρώπινο δυναμικό και την τεχνική υποδομή του.
- ⇒ Μερικά εργαστήρια διαθέτουν μόνο GC.
- ⇒ Αλλά, πολλά «νέα» μόρια δ.ο. προσδιορίζονται μόνο με LC.





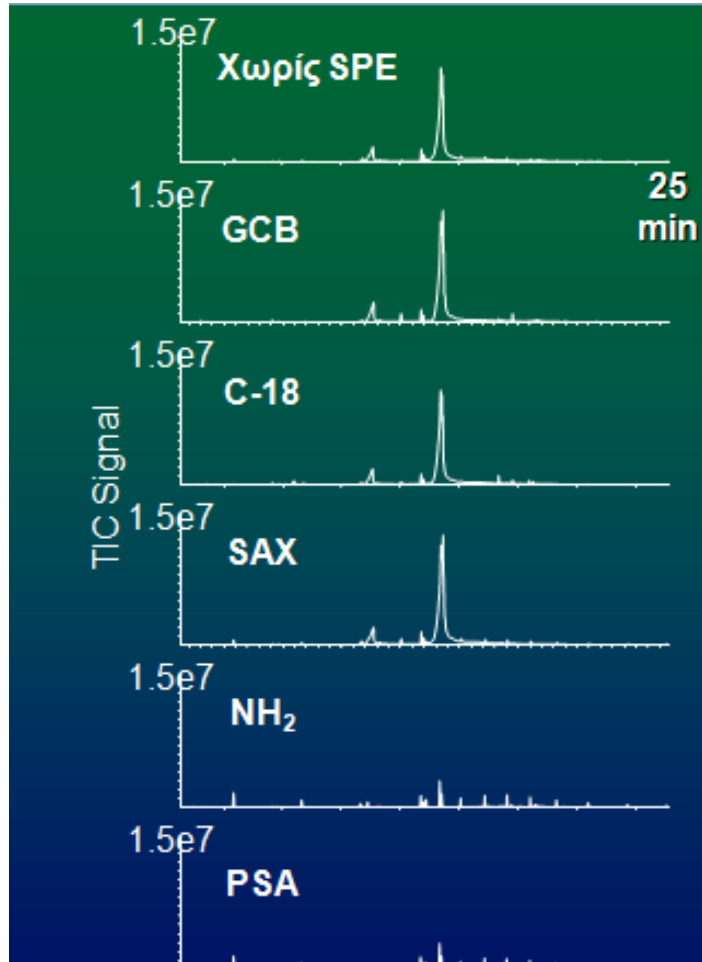
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

---

**Παραδείγματα:  
χρωματογραφήματα από αναλύσεις**



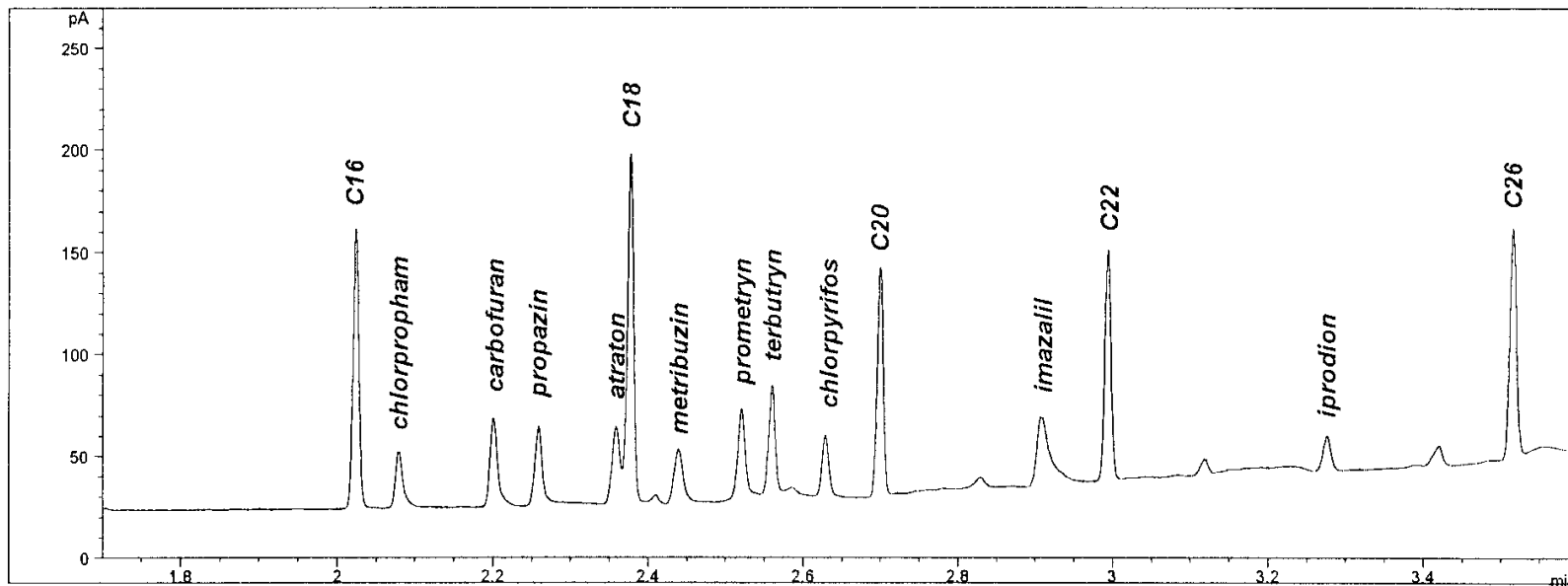
# Καθαρισμός φυτικού εκχυλίσματος (MeCN) με SPE (διάφορα υλικά) & ανάλυση με GC/MS



- PSA & -NH<sub>2</sub> απομακρύνουν σάκχαρα & λίπη. Τα υπόλοιπα χωρίς επίδραση σε GC/MS χρωματογραφία (το GCB απομακρύνει χρωστικές & στερόλες).



# FAST GC SET-UP with ON-COLUMN INJECTION



Column: HP-1 MS ( 5 x 0.1mm x 0.4 $\mu$ m) TPG: 80 °C, 65 °C/min to 300 °C

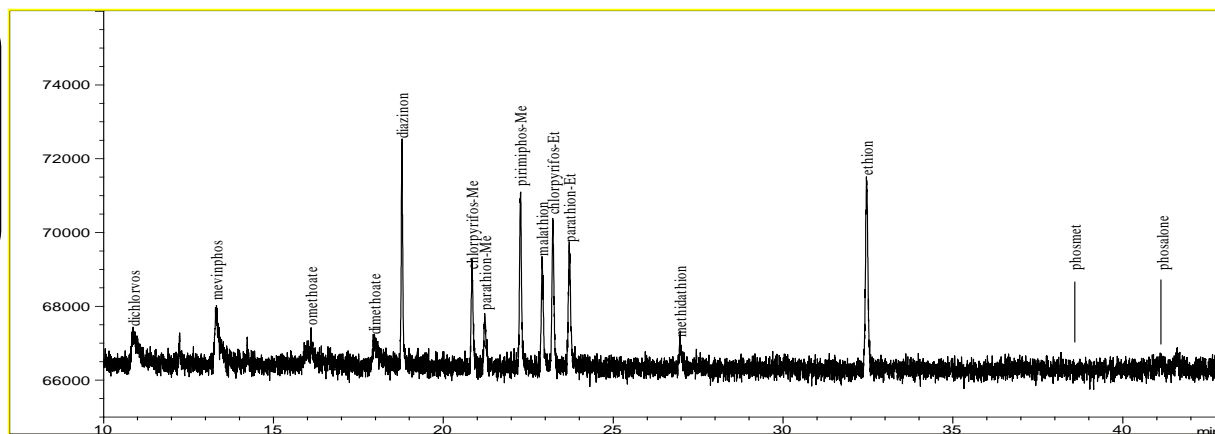
Precolumn (non-polar) : 1 x 0.53 mm; H<sub>2</sub>; P<sub>i</sub> : 60 PSI



# ORGANOPHOSPHATES IN WHEAT EXTRACT (0.01 mg/kg)

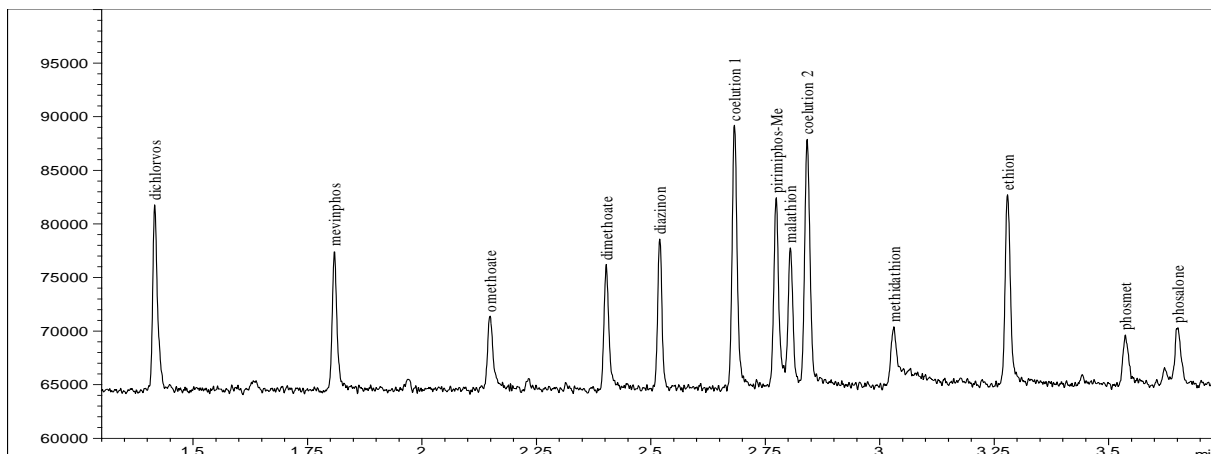
CONVENTIONAL  
GC analysis

Time of run: 45 min



EZ Flash -  
RESISTIVE HEATING

Time of run: 3 min



# Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (1/7)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Εικόνες
- Εικόνα 1,2: Εξοπλισμός για υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. <https://www.chem.agilent.com/cag/feature/12-99/feature.html> και <https://www.agilent.com/en-us/products/mass-spectrometry/lc-ms-instruments>
- Εικόνα 3: Εξοπλισμός για αέρια χρωματογραφία. <http://www.biocompare.com/Lab-Equipment/12536-Gas-Chromatographs-Gas-Chromatography-Systems/>
- Εικόνα 4: Δημιουργία δικτύου σύνδεσης του εξοπλισμού χρωματογραφίας με το PC. <http://www.slideshare.net/themose/greenberg-chemistry-of-phc-salt-rem-tech-2012-15-oct-final>



# Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (2/7)

- Εικόνα 5,6,7,8: Ακρίβεια της εκτίμησης. Επεξεργασία Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.
- Εικόνα 9: Εκτίμηση του LOD & LOQ από τη σχέση: σήματος S /θορύβου N (S/N ). Επεξεργασία Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.
- Εικόνα 10: Μεθοδολογία για πολυϋπολειμματικές μεθόδους ανάλυσης γ.φ. Επεξεργασία Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.
- Εικόνα 11,12: Πολυϋπολειμματικές μέθοδοι ανάλυσης γ.φ. <http://quechers.cvua-stuttgart.de/index.php?nav1o=2&nav2o=2&nav3o=0>
- Εικόνα 13,14: QuEChERS Step 1. <http://quechers.cvua-stuttgart.de/index.php?nav1o=2&nav2o=2&nav3o=0>



# Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (3/7)

- Εικόνα 15: QuEChERS Step 2. <http://quechers.cvua-stuttgart.de/index.php?nav1o=2&nav2o=2&nav3o=0>
- Εικόνα 16: Καθαρισμός φυτικού εκχυλίσματος (MeCN) με SPE (διάφορα υλικά) & ανάλυση με GC/MS. Αρχείο δεδομένων Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.
- Εικόνα 17: FAST GC SET-UP with ON-COLUMN INJECTION. Αρχείο δεδομένων Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.
- Εικόνα 18: ORGANOPHOSPHATES IN WHEAT EXTRACT: CONVENTIONAL GC analysis. Αρχείο δεδομένων Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.
- Εικόνα 19: ORGANOPHOSPHATES IN WHEAT EXTRACT: EZ Flash - RESISTIVE HEATING. Αρχείο δεδομένων Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.



# Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (4/7)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Σχήματα
- Σχήμα 1: Πολυϋπολειμματικές μέθοδοι.  
<https://www.cen.eu/Pages/default.aspx>
- Σχήμα 2: Πολυϋπολειμματικές μέθοδοι (νέες τάσεις: Μέθοδος QuEChERS). <http://quechers.cvua-stuttgart.de/index.php?nav1o=2&nav2o=2&nav3o=0>



# Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (5/7)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Πίνακες
- Πίνακας 1: Ευαισθησία προσδιορισμού Γ.Φ. με διάφορες μεθόδους. Αρχείο δεδομένων Ο. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.





# Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (6/7)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Διαγράμματα
- Διάγραμμα 1: Καμπύλες αναφοράς. Αρχείο δεδομένων O. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.
- Διάγραμμα 2: Καμπύλη αναφοράς της οργανοφωσφορικής ουσίας rphosalone. Αρχείο δεδομένων O. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.
- Διαγράμματα 3,4: Καμπύλες αναφοράς της ουσίας thiabendazole. Αρχείο δεδομένων O. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.
- Διάγραμμα 5: Καμπύλη αναφοράς με τη μέθοδο της σταθερής προσθήκης για προσδιορισμό άγνωστης συγκεντρώσεως Cx. Αρχείο δεδομένων O. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.



# Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (7/7)

- Διάγραμμα 6: Καμπύλη Αναφοράς με τη μέθοδο εσωτερικού προτύπου. Αρχείο δεδομένων Ο. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.
- Διαγράμματα 7,8: Υποθετικές καμπύλες αποικοδόμησης/υποβάθμισης Φ.Π. Αρχείο δεδομένων Ο. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.
- Διάγραμμα 9: Έκφραση αποτελεσμάτων: εκφράζονται σε mg/kg σε συσχέτιση με το MRL. Αρχείο δεδομένων Ο. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.



# Σημείωμα Αναφοράς

- Copyright Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ουρανία Μενκίσογλου-Σπυρούδη. «Γεωργικά Φάρμακα II. Μέθοδοι ανάλυσης γεωργικών φαρμάκων». Έκδοση: 1.0. Θεσσαλονίκη 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: <https://opencourses.auth.gr/courses/OCRS515/>.



# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά - Παρόμοια Διανομή [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>





# Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Χρυσάνθη Χαρατσάρη  
Θεσσαλονίκη, Εαρινό εξάμηνο 2013-2014





ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

---

# Σημειώματα

# Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

