

Validarea metodei de determinare a pesticidelor utilizand sistemul gaz cromatograf/spectrometru de masa (GC/MS)

Pentru determinarea compusilor chimici aflati in amestecuri complexe, metodele consacrate actuale utilizeaza sistemul cuplat GC/MS. Acest sistem permite determinarea cu precizie a compusilor aflati in cantitati extrem de mici (ng/l) cum este cazul pesticidelor in ape de suprafata sau subterane.

Pe parcursul etapelor validarii metodei de analiza se urmaresc mai multi factori: limita de detectie (LOD), Factorul de regasire (R_f), Liniaritatea, Reproductibilitatea si Incertitudinea standard.

Limita de detectie

Limita de detectie se defineste ca fiind concentratia minima masurabila, cu un nivel de incredere specificat, a unui element chimic care produce un semnal egal cu de trei ori abaterea standard experimentală a zgomotului de fond.

Limita de detectie (LOD) pentru compusii studiatii a fost determinata la o intensitate de semnal egala cu de 10 ori intensitatea zgomotului. In Tabelul 1 sunt aratate limitele de detectie pentru pesticidele studiate.

Nr	Compound	LOD(ng/l)
1	Alpha – BHC	10.46
2	Gamma – BHC (Lindane)	16.69
3	Beta – BHC	54.37
4	Delta - BHC	25.15
5	Heptachlor epoxide (isomer B)	6.72
6	Gamma – chlordane (β – chlordan)	6.90
7	Endosulfan I	9.33
8	Alpha - chlordane	5.95
9	Dieldrin	83.41
10	Endrin	10.23
11	Endosulfan II	60.41
12	4,4 – DDD	7.81
13	Endrin aldehyde	235.83
14	Endosulfan sulfate	22.22
15	Endrin ketone	31.01
16	Methoxychlor	26.07

Tabelul 1. Denumire compusi si limita de detectie (LOD) pentru pesticidele studiate.

Factorul de regasire

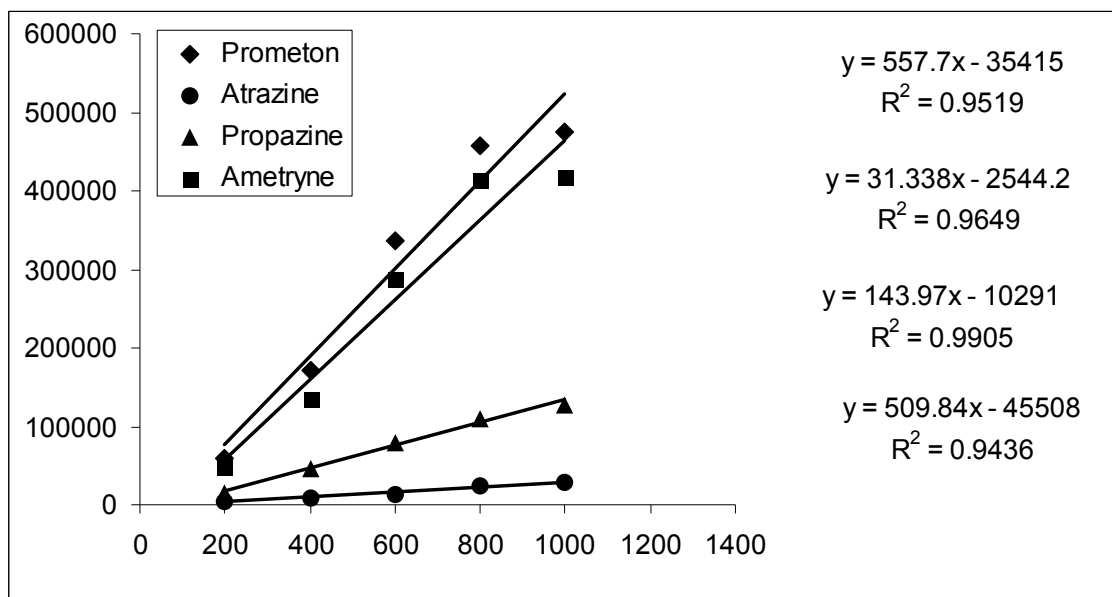
Tabelul 2 contine denumirea compusilor, timpul de retentie si valorile de regasire pentru pesticidele clorurate analizate prin doua metode. Factorii de regasire (R_f) au fost calculati utilizand ca matrice apa de rau.

Nr	Compound	t_R (min.)	Metod I		Metod II	
			Recovery I	Relative error	Recovery II	Relative error
0	Benfluralin	9.85				
1	Alpha – BHC	10.12	41.78	± 8.64	19.48	± 16.61
2	Gamma – BHC (Lindane)	11.09	43.57	± 3.11	37.19	± 8.11
3	Beta – BHC	11.29	41.09	± 0.46	24.98	± 16.96
4	Delta - BHC	12.22	53.44	± 4.06	48.9	± 9.51
5	Heptachlor epoxide (isomer B)	17.06	42.73	± 0.98	36.8	± 12.77
6	Gamma – chlordane (β – chlordan)	18.07	7.52	± 0.41	7.16	± 1.58
7	Endosulfan I	18.55	38.70	± 0.18	34.37	± 7.98
8	Alpha - chlordane	18.72	11.96	± 0.34	11.17	± 2.32
9	Dieldrin	19.67	41.18	± 0.25	44.03	± 8.51
10	Endrin	20.56	28.23	± 1.99	53.80	± 6.96
11	Endosulfan II	21.00	45.16	± 1.18	53.93	± 3.30
12	4,4 – DDD	21.62	14.58	± 0.23	14.86	± 1.22
13	Endrin aldehyde	21.85	50.04	± 6.67	59.14	± 0.62
14	Endosulfan sulfate	22.88	48.12	± 3.99	55.43	± 3.92
15	Endrin ketone	24.79	60.70	± 7.58	63.49	± 4.59
16	Methoxychlor	25.85	45.54	± 4.66	68.28	± 7.65

Tabelul 2. Denumire compusi, timpul de retentie si valorile de regasire pentru pesticidele clorurate.

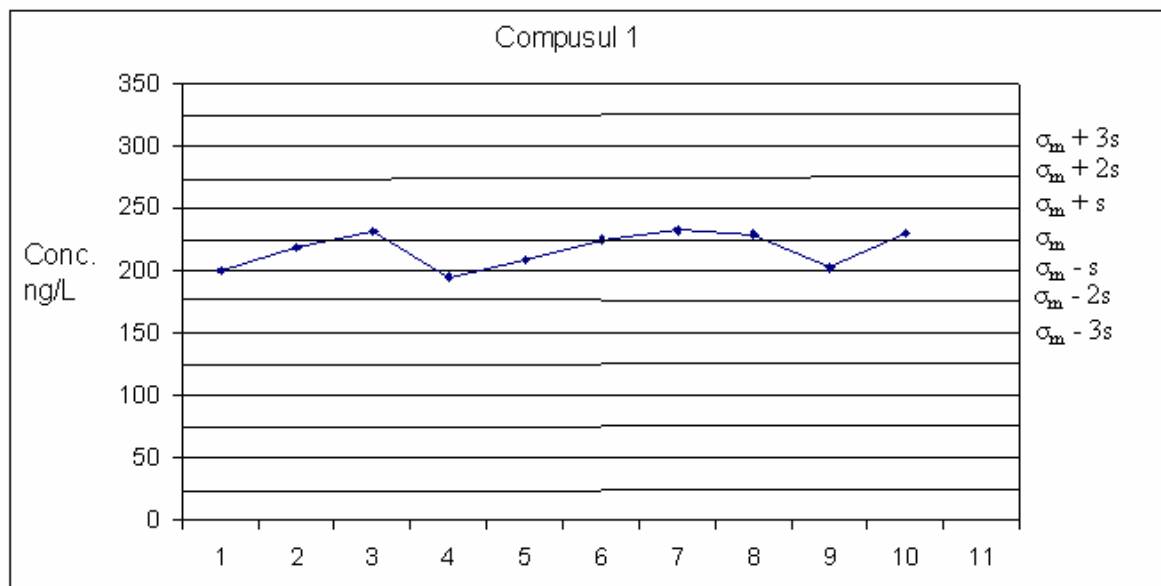
Liniaritatea

In figura de mai jos este prezentata linearitatea a patru erbicide din clasa triazinelor: Prometon, Atrazina, Propazine si Ametryn.



Reproductibilitatea

Reproductibilitatea s-a facut pe aceleasi erbicide in interval de 10 zile. S-a calculat de asemenea deviatia standard relativa (RSD).



$$\bar{X} = 217.1 \quad \sigma = 14.38 \quad RSD = 6.62$$

Figura 1. Reproductibilitatea la Ametryn

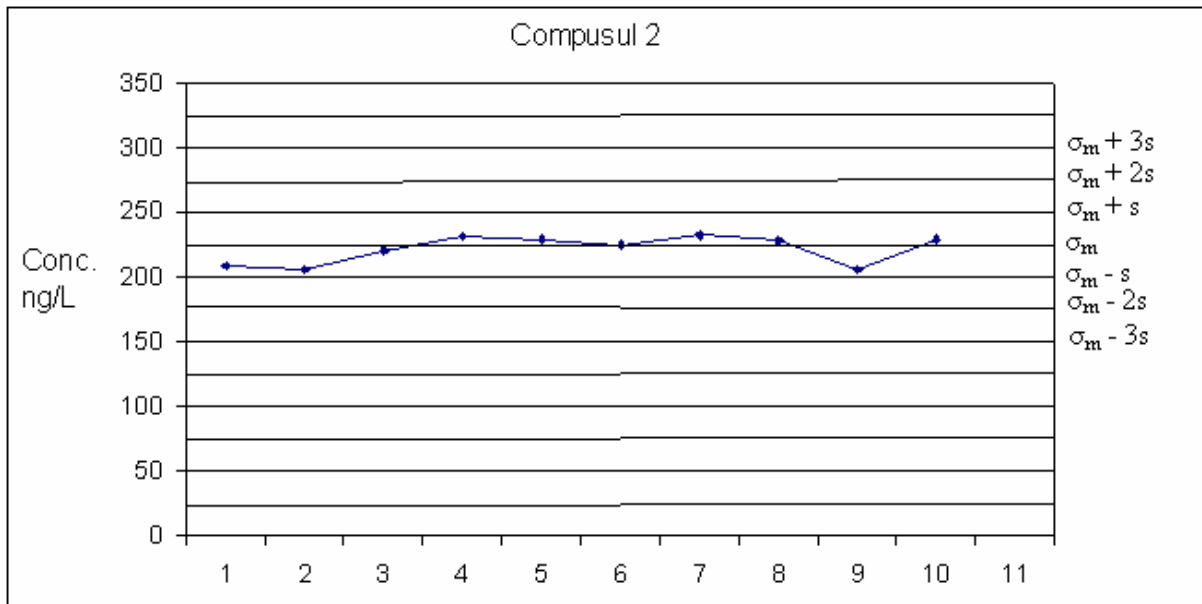


Figura 2. Reproductibilitatea la Atrazina

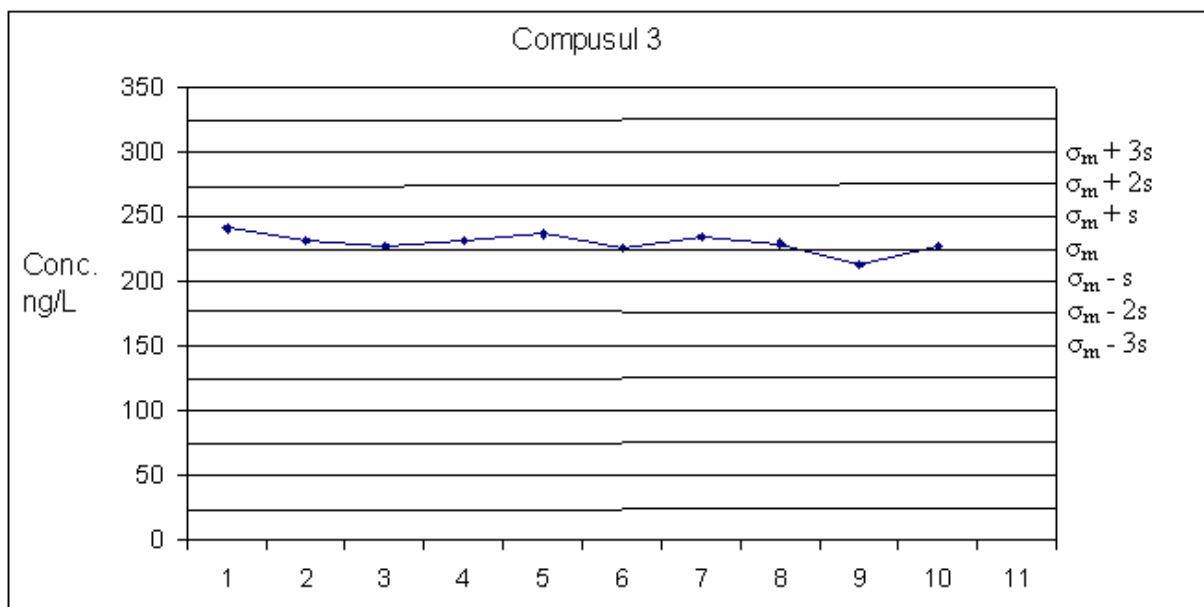
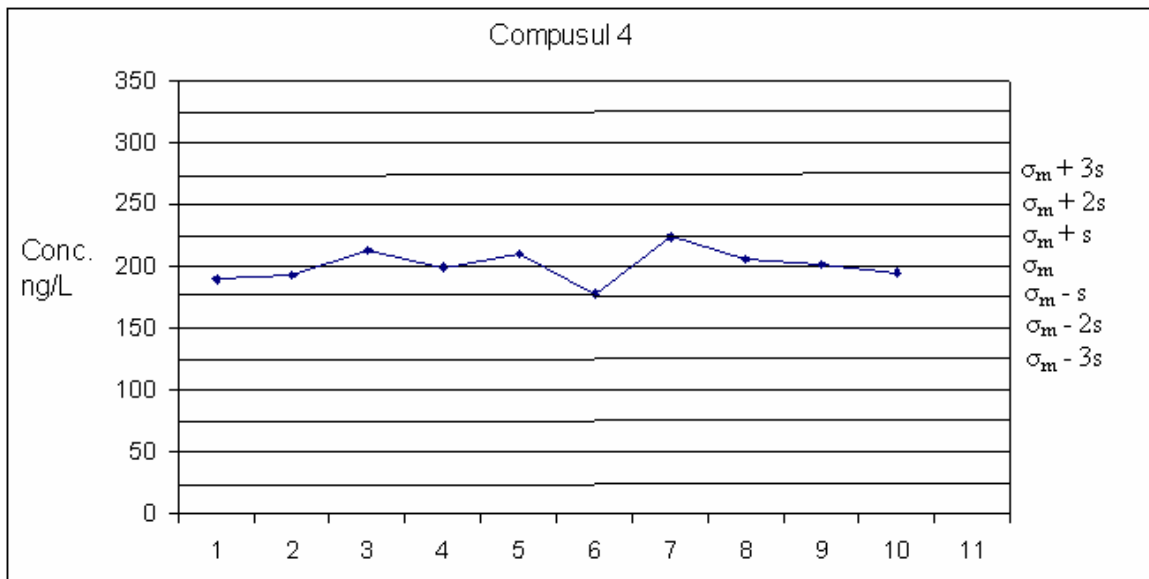


Figura 3. Reproductibilitatea la Prometon



$$\bar{X} = 200.7 \quad \sigma = 13.106 \quad \text{RSD} = 6.5301$$

Figura 4. Reproductibilitatea la Propazina

Incertitudinea standard

S-a calculat incertitudinea pentru mai multe erbicide:

Ametryn

Solutia etalon

Puritate (p): $p = 99.90 \pm 0.10 \%$

$$u_p = 0.0005773$$

Masa cantarita: 2 mg

Componenta de linearitate:

- pentru balanta analitica tip B5 H 26, E.Mettler-Toledo/Zurich, incertitudinea de etalonare = 0.1 mg = 0.0001 g

$$S_{\text{linearitate}} = u_{\text{m linearitate balanta}} = 0.0001/2 = 0.00005 = 0.05 \times 10^{-3} \text{ g}$$

m(2 mg)	
m ₁	0.00198
m ₂	0.00199
m ₃	0.00199
m ₄	0.00199
m ₅	0.00200
m ₆	0.00201
m ₇	0.00199
m ₈	0.00199
m ₉	0.00200
m ₁₀	0.00198
m _{mediu}	0.001992
u _{m rep.}	9.18936E-06

Componenta de repetabilitate:

$$u_r = 0.00918936 \times 10^{-3} \text{ mg} = 0.00918936 \times 10^{-6} \text{ g}$$

$$u_m = 0.07071 \times 10^{-3} = 0.00007071 \text{ g}$$

Volumul balonului: 10 ml

- din certificatul de etalonare, incertitudinea de etalonare extinsa pentru balonul de 10 ml, este egala cu 0.001 ml. Rezulta ca incertitudinea standard:

$$u_{v \text{ et}} = 0.001/2 = 0.0005$$

V(10 ml)	
V ₁	10.0532
V ₂	9.9322
V ₃	9.9884
V ₄	9.9901
V ₅	9.9743
V ₆	9.9821
V ₇	10.0433
V ₈	10.0032
V ₉	9.9921
V ₁₀	10.0300
V _{mediu}	9.99889
u _{v rep.}	0.0357077

Componenta de repetabilitate:

$$u_{v \text{ repetabilitate}} = 0.0357077$$

Componenta de temperatura:

$$\Delta T (^{\circ} \text{C}) = 2 = \text{diferenta dintre temperature de lucru si } 20^{\circ} \text{C.}$$

$$\text{Coeficientul de dilatatie pentru hexan este egal cu } 135 \times 10^{-5} = 1.35 \times 10^{-3}$$

$$u_{v \text{ temperatura}} = 0.0137755 = 13.7755 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

Din cele trei componente, rezulta ca:

$$u_v = 0.0382760 \text{ ml}$$

Incertitudinea introdusa de concentratia solutiei de baza (CSB):

$$u_{\text{CSB/CSB}} = 0.035566283$$

Aria probei (din citiri repetate):

Aria probei	
A ₁	218446
A ₂	217907
A ₃	218294
A ₄	217553
A ₅	217388
A ₆	217955
A ₇	218662
A ₈	218953
A ₉	217687
A ₁₀	219222
A _{mediu}	218206.7
u _{A rep.}	612.8712

Aria standardului (din citiri repetate):

Aria standardului	
A ₁	64993
A ₂	64788
A ₃	64975
A ₄	64970
A ₅	64813
A ₆	64454
A ₇	64920
A ₈	64551
A ₉	65137
A ₁₀	65024
A _{mediu}	64862.5
u _{A rep.}	215.47106

Incertitudinea de aparat = 43.13×10^{-6} g

Cantitatea de compus necunoscut se calculeaza dupa formula:

$$q_x = A_x/A_{SI} \times q_{SI} \quad [1]$$

A_x = aria compusului studiat

A_{SI} = aria standardului intern

q_{SI} = masa standardului

Incertitudinea metodei (incertitudinea compusa) se obtine din relatia:

$$u_{q_x}/q_x = [(u_{A_x}/A_x)^2 + (u_{A_{SI}}/A_{SI})^2 + (u_{q_{SI}}/q_{SI})^2 + u_{et. aparat}^2 + RSD^2]^{1/2} \quad [2]$$

u_{A_x} = incertitudinea ariei compusului

A_x = aria compusului

$u_{A_{SI}}$ = incertitudinea ariei standardului intern

A_{SI} = aria standardului intern

$u_{q_{SI}}$ = incertitudinea de masurare a standardului

q_{SI} = cantitatea de standard introdus in proba

Prin inlocuire se obtine: (RSD se calculeaza dupa 10 zile)

$$u_{q_x}/q_x = [7.88 \times 10^{-7} + 1.10354 \times 10^{-6} + 1.26496 \times 10^{-4} + 43.13 \times 10^{-6} + RSD^2]^{1/2}$$

$$u_{q_x}/q_x^{Ametryn} = [7.88 \times 10^{-7} + 1.10354 \times 10^{-6} + 1.26496 \times 10^{-4} + 43.13 \times 10^{-6} + 6.62^2]^{1/2}$$

$$u_{q_x}/q_x^{Ametryn} = 6.62013$$

$$u_{q_x}/q_x^{Atrazine} = 4.9251$$

$$u_{q_x}/q_x^{Prometon} = 3.4022$$

$$u_{q_x}/q_x^{Propazine} = 6.5302$$