

Reduceret omkostninger i forbindelse med analyse af pesticider i små vanforsyningsanlæg

Torben Brandt Knudsen, Ole Andersen
og Hanne Rasmussen
Rovesta Miljø I/S

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Indhold

FORORD	5
ANBEFALING	7
SAMMENFATNING OG KONKLUSION	9
1.1 INDLEDNING	9
1.2 IMMUNKEMISKE METODER	9
1.3 INDIKATORPESTICIDER	10
1.4 REDUCERET KRAV TIL ANALYSEKVALITETEN	11
1.5 KONKLUSION	12
SUMMARY AND CONCLUSIONS	13
INTRODUCTION	13
IMMUNE CHEMISTRY METHODS	15
INDICATOR-PESTICIDES	16
REDUCED SPECIFICATIONS IN RELATION TO THE ANALYSES	18
CONCLUSION	18
2 LITTERATURGENNEMGANG	21
2.1 INDLEDNING	21
2.2 OPBEVARING OG HÅNDTERING	21
2.3 DETEKTIONSGRÆNSE OG PRÆCISION	22
2.4 KRYDSREAKTION	23
2.5 MATRIX INTERFERENS	23
2.6 SAMMENLIGNING IMMUNKEMISK MOD KONVENTIONEL METODE	24
2.7 FORDELE OG ULEMPER BESKREVET	25
2.8 SAMMENFATNING PÅ LITTERATURGENNEMGANG	27
3 KOMMERCIELLE IMMUNKEMISKE KIT	29
4 INDIKATORPESTICIDER	31
4.1 UDVÆLGELSE AF INDIKATORPESTICIDER	31
4.2 PESTICIDER DER KAN ANALYSERES I EN ANALYSEKVALITET.	33
1.3 PRISINDEKS FOR DE ENKELTE PESTICIDPAKKER.	34
1.4 KONKLUSION PÅ INDIKATORPESTICIDER:	35
5 REDUCERET KRAV TIL ANALYSEKVALITET	37
5.1 PRISINDEKS FOR FORØGET DETEKTIONSGRÆNSE	37
5.2 POSITIVE PRØVER	38
5.3 ULEMPER VED FORØGET DETEKTIONSGRÆNSE	38
5.4 KONKLUSION PÅ ÆNDRET ANALYSEKVALITET	39
6 REFERENCER	41
7 ORDFORKLARING	43

Bilag A:	Kommercielle immunkemiske kit
Bilag B:	Indikatorpesticider
B1.0:	Indikatorpesticider inden for stofgrupper
B1.1:	Indikatorpakker
B2.1	Indikatorpakker metodevis
B3.1	Glyphosat/AMPA sammenhæng
Bilag C	Prisindeks og forøget detektionsgrænse
C1.01:	Alle 26 pesticider
C1.02:	Alle pesticider undtagen glyphosat/AMPA
C1.03:	Glyphosat/AMPA
C1.04:	GC/MS indikatorpakke
C1.05:	LC/MS indikatorpakke
C1.06:	Indikatorpakke 1
C1.07:	Indikatorpakke 2
C1.08:	Indikatorpakke 3
C1.09:	Indikatorpakke 4
C1.10:	De 5 hyppigst forekommende
C1.11:	BAM, triaziner samt bentazon
C1.12:	BAM og triaziner
C1.13:	BAM og atrazin
C1.14:	BAM
C1.15:	Reference skema uden pesticider
Bilag D	Immunkemiske metoder (teori)

Forord

Denne rapport er udarbejdet for Miljøstyrelsen af ROVESTA Miljø I/S. Hanne Bitten Rasmussen har stået som projektansvarlig, med Torben Brandt Knudsen og Ole Andersen som projektmedarbejdere. Derudover har Lene Jensen fra ROVESTA's indkøbsafdeling bidraget med at finde leverandører af kommercielle immunkemiske kit.

Arbejdet har været fulgt af en følgegruppe bestående af:

Susanne Rasmussen, Miljøstyrelsen
Solveg Nilsson, FVD
Søren Lind, Københavns Energi
Jens Aamand, GEUS

Anbefaling

Projektets formål har været at belyse muligheden for at kunne reducere omkostningerne, der er forbundet med bestemmelsen af pesticider i vandprøver fra private brønde og borer.

Nærværende projekt indeholder en litteraturgennemgang af kommercielt tilgængelige immunkemiske kits til bestemmelser af pesticider – biologiske metoder. Det er ønsket at belyse, om de kommercielt tilgængelige immunkemiske kits kunne være et alternativ eller supplement til de kemiske analyseteknikker (LC/MS og GC/MS), der i dag anvendes, når der skal bestemmes en pakke med flere forskellige pesticider i koncentrationer på 0.01-0.05µg/l.

Der er yderligere udført en omfattende databehandling med grupperinger og udvælgelse af et antal mulige relevante reducerede pesticidpakker i forhold til en grundpakke på 26 pesticider.

De pesticidresultater, der indgår i datamaterialet til nærværende projekt, stammer fra projektet "Pesticidforurenede vand i små vandforsyningsanlæg", hvor brønde og borer fra 4 forskellige Amter er blevet undersøgt.

Det er hensigten, at disse pesticidpakker, hvor der bestemmes et færre antal af pesticiderne, kan være indikatorer for en pesticidforurening omfattende flere pesticider end de pesticider, der rent faktisk analyseres for. En indikatorpakke skal være i stand til at "fange" langt de fleste af de private brønde og borer, der er forurenede med pesticider.

De reducerede pesticidpakker er vurderet ud fra den procentandel af de positive brønde, der ville være blevet konstateret, hvis der kun var analyseret for de pesticider, der indgår i det reducerede program samt niveauet af pesticidforureningen. Med basis i et kommercielt laboratoriums viden er omkostningerne til de reducerede pesticidpakker forsøgt indekseret.

Følgende væsentlige konklusioner kan fremhæves:

- Det vil ikke være økonomisk attraktivt at anvende immunkemiske kits til pesticidkontrol. Yderligere er udbudet af anvendelige kommercielle kit meget begrænset og de fleste vil ikke kunne overholde de gældende kvalitetskrav.
- En reduceret pesticidpakke bestående af 10 indikatorpesticider: 2,6-dichlorbenzamid (BAM), desisopropylatrazin, desethylatrazin, atrazin, simazin, desethylterbutylazin, terbutylazin, diuron, bentazon og AMPA vil kunne "fange" 97% af alle de forventede positive prøver og heraf 99% af de prøver, hvor pesticidindholdet overskrider den nuværende grænseværdi på 0.1µg/l. Omkostningen for denne pakke ved LC-GC/MS vil udgøre ca. 60% af omkostningen til analyse for de 26 pesticider.

- En indikatorpakke, der kun omfatter BAM og triazinerne, vil kun fange 86 % af de forurenede brønde og borer. Samtidig bestemmes glyphosat og AMPA ikke (aktivstoffet og metaboliteten fra det hyppigt anvendte produktet ROUNDUP). Denne pakke vil derfor ikke kunne være med til at fremtidssikre fortsat rent drikkevand.
- Det vil kun give en minimal besparelse i analyseomkostningerne at hæve detektionsgrænsen fra nuværende 0.01µg/l til 0.025µg/l eller 0.05µg/l. En forøgelse af detektionsgrænsen kan give anledning til større usikkerhed i forbindelse med eventuelle overskridelser og bør derfor undgås.

Den mest fordelagtige måde at reducere omkostningerne til pesticidanalyse er ved at begrænse antallet af pesticider, der skal bestemmes. Der kan opnås relative store besparelser uden, at det indvirker på kvaliteten, og det vil ligeledes være meget få pesticidforureninger, der ikke opdages. Samtidig med en reduktion af omkostningen ved anvendelse af indikatorpakken med de 10 pesticider vil prøven til pesticider med fordel kunne udtages samtidig med den kontrol, der i dag udføres på private brønde og borer hver 5' te år.

Sammenfatning og konklusion

1.1 Indledning

Projektets formål er, at belyse muligheden for at kunne reducere omkostningerne, der er forbundet med bestemmelse af pesticider i vandprøver fra private brønde og boringer. Der undersøges tre forskellige principper for en prisreduktion, immunkemi, indikatorpesticider og forøgelse af detektionsgrænsen. Projektet er derfor inddelt i tre hovedafsnit. Et afsnit, der omhandler en litteraturgennemgang af immunkemiske kits, hvor fordele og ulemper beskrives. Derudover er der indhentet oplysninger og priser på kommerciel tilgængelige immunkemiske kit, der udbydes til salg i Danmark eller i udlandet. I bilag D er teorien bag immunkemiske metoder beskrevet. I indikatorpesticidafsnittet undersøges det, om pesticidantallet kan begrænses og derved omkostningerne uden, at det berører antallet af positive prøver. I det sidste afsnittet undersøges det, om en forøgelse af detektionsgrænsen kan påvirke analyseomkostningerne og, hvilke konsekvenser det vil have på pesticidanalyserne.

1.2 Immunkemiske metoder

Immunkemiske metoder har deres fordele og ulemper ligesom konventionelle metoder. Til ulemperne hører krydsreaktion og enkelt stof bestemmelse, mens fordelene er hurtig metode som kræver minimal mængde prøve. Det største handicap ved anvendelse af immunkemiske metoder er krydsreaktion, som både fører til overestimering og falske positive resultater. Et hvert positivt resultat opnået ved anvendelse af immunkemiske metode vil indeholde risikoen for, at resultatet stammer fra et andet stof end analyten. Derfor anviser omtrent alle forfattere, der har afprøvet kommercielle immunkemiske kit, at de anvendes som screeningsmetode og efterfølgende verificerer positive resultater ved en konventionel GC eller LC-metode. Da der sjældent findes falske negative prøver, er det ekstra oplagt at anvende dem som screeningsmetoder. Desværre kan der kun screenes for et stof ad gangen, men enkelte immunkemiske kit er som triazin-kit'ene gruppe specifik og vil derved kunne anvendes som indikator for flere stoffer. Ved nøje gennemgang af mulige krydsreaktanter for de enkelte kit vil det være muligt at vurdere, om de kan anvendes som indikator for flere stoffer på en gang. De danske krav til detektionsgrænsen er problematisk, idet der kun eksisterer 2 kommercielle immunkemiske kit, der opgiver en detektionsgrænse som overholder værdien på $0,01\mu\text{g/l}$. Det har vist sig, at anvendelse af mere præcist udstyr kan medføre en betydelig sænkning af detektionsgrænsen. Der vil sandsynligvis være flere, der kan overholde detektionsgrænsen ved en ordentlig metodeoptimering og afprøvning af de enkelte kommercielle kit. Ved at anvende immunkemiske metoder fås muligheden for betydelig forøgelse af prøveflowet, uden besværlig forbehandling og ekstraktion og anvendelse af meget lille prøvemængde. Der er næste intet problematisk affald, og udstyret kræver minimal vedligeholdelse. For at få konsistente og præcise resultater kræver det et erfarent og veluddannet personale til at udføre analyserne, især

ved bestemmelse af prøver med lav koncentration, hvilket ikke altid fremgår af reklamerne for immunkemiske metoder.

Udgifterne i forbindelse med anvendelse af kommercielle immunkemiske kit kan inddeles i udgift til indkøb af kit'ene, apparatur samt til lønninger. Ved at omregne indkøbsprisen til en pris pr. prøve (se bilag A) kan det ses, at materialeprisen starter fra lige under 100kr. pr. prøve, hvilket er stort set samme pris som til konventionelle metoder. Apparaturudgifterne vil være væsentlig mindre og skønnes til at udgøre en tiendedel af tilsvarende udgifter til konventionelle metoder. Den største forskel ligger nok i, at der kan analyseres flere prøver pr. tidsenhed end ved konventionel metode, og derved lavere lønudgift. Problemet er, at der kun bestemmes et stof ad gangen. Skal alle stofferne fra drikkevandsbekendtgørelsens bestemmes, vil det kræve anvendelse af over 20 forskellige immunkemiske kit, hvilket vil betyde et prøveflow, som sandsynligvis vil være dårligere end anvendelse af konventionelle metoder. Anvendelse af immunkemiske metoder vil på nuværende tidspunkt kun være økonomisk fordelagtig, hvis der skal bestemmes et eller to stoffer. På sigt vil de konventionelle metoder sandsynligvis kunne gøres til samme pris, hvis der kun skal bestemmes et stof.

1.3 Indikatorpesticider

En analyse af resultaterne fra projektet "pesticidforurenede vand i små vandforsyningsanlæg" viser, at en reduktion i analyseprogrammet ikke ville have haft den store indflydelse på antallet af positive pesticidfund.

Ved at begrænse analyseprogrammet fra de oprindelige 26 til en indikatorpakke bestående af kun 5 forskellige pesticider ville det have været muligt at finde 91,7% af de positive prøver.

I Tabellen nedenfor er de mest interessante pakker trukket frem.

Indikatorpakke	Antal Pesticider	AMPA Indgår	Positive fund i %		Prisindeks
			alle	≥0,1µg/l	
Alle 26 pesticider	26	x	100	100	100
Alle stoffer minus glyphosat og AMPA	24		93,5	93,4	69,9
Kun glyphosat og AMPA	2	x	21,3	11,7	30,1
Indikatorpakke 1	5	x	91,7	95,9	60,7
Indikatorpakke 2	5	x	91,4	97,0	60,7
Indikatorpakke 3	6	x	93,5	97,5	61,4
Indikatorpakke 4	10	x	96,7	99,0	63,6
Indikatorpakke GC/MS	18		92,0	92,4	40,8
Indikatorpakke LC/MS	13		89,9	92,9	37,2
De 5 hyppigst forekommende	5		84,0	89,3	31,3
Kun BAM	1		68,9	79,7	28,4

Tabel. Oversigt over de forskellige indikatorpakker med angivelse af, hvor effektive de er til at fange positive prøver, samt prøver over grænseværdien på 0,1µg/l. Der er ligeledes angivet et prisindeks for de enkelte pakker.

Ved at medtage flere af triazin-pesticiderne i indikatorpakken er det muligt at øge antallet af positive fund til 96,7% af det oprindelige antal. Vigtigere er det, at kun ganske få procent af prøverne over grænseværdien på 0,1µg/l ikke fanges ved anvendelse af indikatorpakkerne.

En reduceret pesticidpakke bestående af 10 indikatorpesticider (Indikatorpakke 4): 2,6-dichlorbenzamid (BAM), desisopropylatrazin, desethylatrazin, atrazin, simazin, desethylterbutylazin, terbutylazin, diuron, bentazon og AMPA vil kunne "fange" 97% af alle de forventede positive prøver og heraf 99% af de prøver, hvor pesticidindholdet overskrider den nuværende grænseværdi på 0,1µg/l. Omkostningen for denne pakke ved LC-GC/MS vil udgøre ca. 60% af omkostningen til analyse for de 26 pesticider.

En indikatorpakke, der kun omfatter BAM og triazinerne, vil kun fange 86 % af de forurenede brønde og borer. Samtidig bestemmes glyphosat og AMPA ikke (aktivstoffet og metaboliteten fra det hyppigt anvendte produktet ROUNDUP). Denne pakke vil derfor ikke kunne være med til at fremtidssikre fortsat rent drikkevand.

Ved udelukkende at analysere for de pesticider, der kan bestemmes ved en analysegang og instrumentmetode, såsom GC/MS eller LC/MS er det muligt at fange omkring 92% af de positive prøver. Anvendelse af disse metoder er et par procent dårligere end indikatorpakkerne til at fange prøverne over grænseværdien.

Prisindekset viser, at der kan spares op til 40% på analyseprisen ved at reducere antallet af pesticider fra det oprindelige 26 til 5. Besparselsen er over 50% ved udelukkende at skulle have bestemt pesticiderne, som kan analyseres ved en analysegang.

1.4 Reduceret krav til analysekvaliteten

En ændring af detektionsgrænsen fra den nuværende 0,01µg/l til enten 0,025µg/l eller 0,05µg/l betyder en reduktion i analyseprisen på 10-15%. Besparselsen er for en pesticidpakke bestående af alle 26 stoffer. Reduceres antallet af stoffer bliver besparelsen tilsvarende mindre, og for indikatorpakkerne bestående af 5 stoffer er besparelsen 5-10%. Prisfaldet vurderes udelukkende at komme fra en lettere databehandling. Idet der i første omgang ikke er tale om ændring i analysemetoderne og metoderne stadig skal være akkrediterede.

Havde der været anvendt en detektionsgrænse på 0,025µg/l i projektet "pesticidforurenede vand i små vandforsyningsanlæg" ville 15% af de positive prøver ikke være fundet. En yderligere forøgelse af detektionsgrænsen til 0,05µg/l vil betyde, at 25% af de positive prøver aldrig var fundet. Der er ikke tale om prøver over grænseværdien på 0,1µg/l, men der forsvinder meget information, når en fjerdedel af de positive prøver ikke angives. En detektionsgrænse på 0,05µg/l vil med de gældende kvalitetskrav give problemer i forhold til en grænseværdi på 0,1µg/l. Der vil let kunne opstå tvivl, om en pesticidkoncentration er over eller under den gældende grænseværdi.

Der eksisterer ikke de samme ulemper med detektionsgrænsen på 0,025µg/l, men besparelsen er kun 10% ved at ændre på detektionsgrænsen. Der

foreligger stor usikkerhed i den anslåede besparelse, som måske endda er betydelig mindre.

En detektionsgrænse på 0,025µg/l er stadig så lav, at der ikke kan ændres meget på analysemetoderne i laboratoriet. Det vil med sikkerhed give en del besvær for analyselaboratorierne, hvis detektionsgrænsen for prøver fra private brønde og borer forøges, men ikke for almindelige drikke- og grundvandsprøver.

1.5 Konklusion

Der har været undersøgt tre forskellige muligheder for at reducere omkostningerne i forbindelse med pesticidanalyse af vand fra private brønde og borer, immunkemi, indikatorpesticider og forøgelse af detektionsgrænsen.

Den mest attraktive løsning til at sænke analyseprisen er ved begrænse pesticidantallet til nogle få udvalgte indikatorpesticider. Det viser sig, at en reduktion i pesticidantallet fra de oprindelige 26 til 5 indikatorpesticider stadig er muligt at finde over 95% af vandprøver, der ligger over grænseværdien. Ved at forøge pesticidantallet med nogle enkelte stoffer er det kun nogle få procent af alle de positive prøver, som ikke genfindes. Der kan umiddelbart opnås besparelser i analyseprisen på 40% ved, at overgå til udvalgte indikatorpesticider. Ved yderligere at gå på kompromis med antallet af positive prøver og sammensætte andre indikatorpakker, således at niveauet bliver 85-90% er det muligt at spare 50-60% af analyseprisen.

De immunkemiske metoder har mange fordele bl.a. er de hurtige at anvende og relativt billige. Da metoderne kun kan benyttes til et stof ad gangen, bliver det hurtigt meget dyrt at undersøge en vandprøve for flere forskellige pesticider. Yderligere findes der næsten ingen immunkemiske kit, der kan anvendes ned til detektionsgrænserne påkrævet i pesticidanalyser. Udvalget af kommercielle immunkemiske kit dækker kun cirka en tredjedel af pesticiderne, der skal bestemmes i en almindelig drikkevandsovervågning. Derudover gør krydsreaktionerne, at de immunkemiske metoder er bedst egnede til screeningsundersøgelse af enkelt stoffer, hvor positive resultater verificeres ved en anden metode. Med den analyseusikkerhed, der ligger i anvendelse af immunkemiske metoder, samt den hyppighed af pesticider i de øverste grundvandsmagasiner vil gøre, at næsten alle prøver skal verificeres ved en anden metode. Yderligere vil de konventionelle metoder sandsynligvis kunne konkurrere prismæssigt med de immunkemiske metoder, hvis der kun skal analyseres for et eller to stoffer.

En forøgelse af detektionsgrænsen fra den nuværende 0,01µg/l til enten 0,025µg/l eller 0,05µg/l medfører kun en minimal besparelse på 10-15% af analyseprisen. En forøgelse af detektionsgrænsen kan bevirke, at vigtig information om indholdet af pesticidrester i en brønd eller boring er på vej op eller ned forsvinder. En detektionsgrænse for tæt på en grænseværdi er ikke hensigtsmæssigt og kan hurtigt give problemer med verificering af en eventuel overskridelse. Da besparelsen er minimal ved en forøgelse af detektionsgrænsen, er det mest fornuftigt at bibeholde princippet med en detektionsgrænse på en tiendedel af grænseværdien, hvor det er muligt.

Summary and conclusions

Introduction

By including several of the triazin-pesticides in the indicator package it is possible to increase the number of positive finds to 96.7% of the original number. More importantly, only a small percentage of the samples above the threshold of 0.1µg/l is not identified.

A reduced pesticide package consisting of 10 indicator-pesticides (indicator package 4): 2,6-dichlorbenzamide (BAM), desisopropylatrazine, desethylatrazine, atrazine, simazine, desethylterbutylazine, terbutylazine, diuron, bentazone, and AMPA will be able to “catch” 97% of all the expected positive samples and, out of these samples, 99% of the samples where the pesticide concentration exceeds the present threshold value of 0.1µg/l. The costs associated with this package using LC-GC/MS will be approximately 60% of the costs associated with the analysis of all 26 pesticides.

An indicator package which only comprises BAM and the triazines will only catch 86% of the contaminated wells and boreholes. At the same time, glyphosate and AMPA are not identified (the active component and the metabolite from the common product ROUNDUP). This package will therefore not be able to contribute to securing the future supply of clean drinking water.

By analysing exclusively for the pesticides that can be identified by using a method like GC/MS or LC/MS, it is possible to catch approximately 92% of the positive samples. These methods were a few percentage points less successful than the indicator packages in catching the samples above the threshold value.

The price index shows that up to 40% of the analysis costs can be saved by reducing the number of pesticides from the original 26 to five. The savings amount to over 50% if only the pesticides that can be analysed in one analysis batch are included.

Reduced specifications in relation to the analyses

A change of detection levels from the present 0.01µg/l to either 0.025µg/l or 0.05µg/l provides a reduction of analysis costs of 10-15%. The savings apply to a pesticide package comprising all 26 compounds. If the number of compounds is reduced the savings will be correspondingly smaller and for the indicator packages comprising five compounds, the savings amount to 5-10%. The fall in costs is due to an easier data treatment process, since the methods, in the first instance, are not changed and the methods still have to be accredited.

If a detection level of 0.025µg/l had been used in the project Pesticide-contaminated water in small water supply plants, 15% of the positive samples would not have been found. A further increase of the detection level to

0.05µg/l would mean that 25% of the positive samples would not have been found. This excludes samples above the threshold value of 0.1µg/l, but much information is lost when ¼ of the positive samples is not identified. A detection level of 0.05µg/l will, using the present specifications in terms of quality, give problems in relation to a threshold level of 0.1µg/l. Doubts will easily be raised regarding whether a pesticide concentration is above or below the present threshold level. The same disadvantages are not present using a detection level of 0.025µg/l, but the savings are only 10% when the detection level is changed. The estimated savings are tentative, and could even be significantly smaller. A detection level of 0.025µg/l is still so low that no significant changes can be made to the analysis methods in the laboratory. It would definitely give certain problems for the analysis laboratories if the detection levels for private wells and boreholes were to be increased, but not for standard drinking and groundwater samples.

Conclusion

Three different possibilities for reduction of costs in connection with pesticide analysis in water from private wells and boreholes have been investigated: immune chemistry, indicator-pesticides, and increased threshold levels.

The most attractive solution for reduction of costs is to limit the pesticide numbers to a few selected indicator-pesticides. It appears that it is possible to find over 95% of water samples above the threshold levels by reducing the number of pesticides from the present 26 to five. By increasing the number of pesticides by a few compounds only a few percent of the positive samples would not be identified. It will be possible to achieve savings of the costs for analysis up to 40% by switching to selected indicator-pesticides. By compromising further with regard to the number of positive samples, savings could be in the range of 50-60% with identification of 85-90% of positive samples.

The immune chemistry methods display many advantages, for instance they are quick and relatively cheap. Since the methods can only be used for one compound at a time, it quickly becomes very expensive to analyse a water sample for several pesticides. Furthermore, there is virtually no immune chemistry kits that can be used at the detection levels that are required in connection with pesticide analyses. The commercial immune chemistry kits available only cover approx. 1/3 of the pesticides that are to be identified in connection with drinking water monitoring. Furthermore, cross-reactions point towards immune chemistry methods as screening tools for single compounds where positive results are verified using other methods. The ambiguity in results achieved by using immune chemistry methods combined with the occurrence of pesticides in the uppermost groundwater magazines will mean that almost all samples will have to be verified by using other methods. Conventional methods will also most likely be quite competitive in terms of costs, if analyses are made only for a few selected compounds.

An increase of detection levels from the present 0.01µg/l to either 0.025µg/l or 0.05µg/l only provides minimal savings of 10-15% of costs. An increase in detection levels could have the result that important information, e.g. if pesticide levels are rising or falling, is being lost. A detection level too close to a threshold level is not optimal and can quickly lead to problems with verification of potential exceedances. Since the savings are minimal by

increasing detection levels it will be most sensible to maintain a detection level at 1/10 of the threshold levels, where possible.

The purpose of the project is to investigate the possibilities for reducing costs in connection with analyses of pesticides in water samples from private wells and boreholes.

Three different avenues, immune chemistry, indicator pesticides, and raised detection levels, are investigated. Therefore, the project is divided into three main sections. In the section about immune chemistry a literature survey of kits for immune chemistry is provided, together with advantages and disadvantages associated with this approach. Furthermore, prices and specifications for commercially available immune chemistry kits sold in Denmark or overseas are provided. In appendix D the theory behind the immune chemistry methods is described.

In the section about indicator pesticides it is investigated whether the number of pesticides can be reduced, thus reducing the costs without the number of positive samples being reduced. In the last section the possibility for increasing the detection levels is addressed in terms of the consequences this would have in relation to costs and the actual results of the analyses.

Immune chemistry methods

Immune chemistry methods display, as do conventional methods, a number of advantages and disadvantages. Disadvantages include cross-reactions and single-compound-identification, but the main advantage is a quick method which requires a relatively small sample.

The main handicap in connection with immune chemistry methods is cross-reaction, which leads to both overestimation and false positive results. Each positive result, achieved using immune chemistry methods, will include the risk that the result originates from another compound than the target compound. Therefore almost all authors who have applied immune chemistry methods, advise their use as a screening method after which the results should be verified using conventional GC or LC methods. Due to the general absence of false negatives, their use as a screening tool is evident. Unfortunately, only screening can only be made for one compound at a time, but some immune chemistry kits, like the traizin kits, are group-specific and will therefore be useful for identifying several compounds.

It will be possible to assess whether particular kits will be useable as indicators for several compounds by checking the kits individually. The Danish requirements in relation to detection levels are problematic, as there are only two commercial immune chemistry kits that provide a detection level which honours the value of 0.01 µg/l.

It has been shown that the use of more precise equipment can provide a significant lowering of detection levels. A thorough method-optimisation and control of individual kits will probably indicate that more will actually be able to honour the required detection levels. By using immune chemistry methods there is a clear possibility for increased sample flow due to the absence of cumbersome pre-treatment and very small sample amounts. There is practically no problem waste involved, and the equipment requires minimal service. In order to obtain consistent and precise results, experienced and

well-trained personnel is required, especially in connection with samples with low concentrations. This is not always clearly stated in the advertisements for immune chemistry methods.

Expenses in connection with the use of commercial immune chemistry kits can be divided into the purchase of the kits, equipment, and salaries. By recalculating the purchase price into a price per sample (see Appendix A) it can be seen that the costs for the materials range from just below 100 DKK/sample and above, which is roughly equivalent to the price when using conventional methods.

The costs for the equipment will be significantly smaller and is evaluated at roughly 1/10 of the corresponding costs using conventional methods. The biggest difference probably lies in the fact that more samples can be analysed per time unit than using conventional methods, and therefore salary costs can be kept low. The problem is that only one compound can be identified at a time. If all the compounds specified in the Statutory Order on Drinking Water are to be identified it will require the use of over 20 different immune chemistry kits, which probably would result in a flow that was worse than when using conventional methods. Usage of immune chemistry methods will at the moment only be economically advantageous if one or two compounds are to be identified. In the longer term, conventional methods will most likely be able to carry out the analyses at a similar cost if this involves one compound.

Indicator-pesticides

An analysis of the results of the project Pesticide-contaminated water in small water supply plants ("pesticidforurennet vand i små vandforsyningsanlæg") shows that a reduction in the analysis program would not have had a major influence on the number of positive finds of pesticides.

By reducing the analysis program from the original 26 to an indicator package comprising only five different pesticides, it would have been possible to find 91.7% of the positive samples.

In the table below the most interesting packages are displayed.

	Number	AMPA	Positive fund i %		
Indicator package	Pesticides	Included	all	$\geq 0,1\mu\text{g/l}$	Price index
All 26 pesticides	26	X	100	100	100
All compounds minus glyphosat and AMPA	24		93.5	93.4	69.9
Only glyphosat and AMPA	2	X	21.3	11.7	30.1
Indicator package 1	5	X	91.7	95.9	60.7
Indicator package 2	5	X	91.4	97.0	60.7
Indicator package 3	6	X	93.5	97.5	61.4
Indicator package 4	10	X	96.7	99.0	63.6
Indicator package GC/MS	18		92.0	92.4	40.8
Indicator package LC/MS	13		89.9	92.9	37.2
The five most common	5		84.0	89.3	31.3
Only BAM	1		68.9	79.7	28.4

Table. Overview of different indicator packages with specification of effectiveness in spotting positive samples, and samples above the threshold value of $0.1\mu\text{g/l}$. A price index for individual packages is also provided.

By including several of the triazin-pesticides in the indicator package it is possible to increase the number of positive finds to 96.7% of the original number. More importantly, only a small percentage of the samples above the threshold of $0.1\mu\text{g/l}$ is not identified.

A reduced pesticide package consisting of 10 indicator-pesticides (indicator package 4): 2,6-dichlorbenzamide (BAM), desisopropylatrazine, desethylatrazine, atrazine, simazine, desethylterbutylazine, terbutylazine, diuron, bentazone, and AMPA will be able to “catch” 97% of all the expected positive samples and, out of these samples, 99% of the samples where the pesticide concentration exceeds the present threshold value of $0.1\mu\text{g/l}$. The costs associated with this package using LC-GC/MS will be approximately 60% of the costs associated with the analysis of all 26 pesticides.

An indicator package which only comprises BAM and the triazines will only catch 86% of the contaminated wells and boreholes. At the same time, glyphosate and AMPA are not identified (the active component and the metabolite from the common product ROUNDUP). This package will therefore not be able to contribute to securing the future supply of clean drinking water.

By analysing exclusively for the pesticides that can be identified by using a method like GC/MS or LC/MS, it is possible to catch approximately 92% of the positive samples. These methods were a few percentage points less successful than the indicator packages in catching the samples above the threshold value.

The price index shows that up to 40% of the analysis costs can be saved by reducing the number of pesticides from the original 26 to five. The savings amount to over 50% if only the pesticides that can be analysed in one analysis batch are included.

Reduced specifications in relation to the analyses

A change of detection levels from the present 0.01 µg/l to either 0.025 µg/l or 0.05 µg/l provides a reduction of analysis costs of 10-15%. The savings apply to a pesticide package comprising all 26 compounds. If the number of compounds is reduced the savings will be correspondingly smaller and for the indicator packages comprising five compounds, the savings amount to 5-10%. The fall in costs is due to an easier data treatment process, since the methods, in the first instance, are not changed and the methods still have to be accredited.

If a detection level of 0.025 µg/l had been used in the project Pesticide-contaminated water in small water supply plants, 15% of the positive samples would not have been found. A further increase of the detection level to 0.05 µg/l would mean that 25% of the positive samples would not have been found. This excludes samples above the threshold value of 0.1 µg/l, but much information is lost when ¼ of the positive samples is not identified. A detection level of 0.05 µg/l will, using the present specifications in terms of quality, give problems in relation to a threshold level of 0.1 µg/l. Doubts will easily be raised regarding whether a pesticide concentration is above or below the present threshold level. The same disadvantages are not present using a detection level of 0.025 µg/l, but the savings are only 10% when the detection level is changed. The estimated savings are tentative, and could even be significantly smaller. A detection level of 0.025 µg/l is still so low that no significant changes can be made to the analysis methods in the laboratory. It would definitely give certain problems for the analysis laboratories if the detection levels for private wells and boreholes were to be increased, but not for standard drinking and groundwater samples.

Conclusion

Three different possibilities for reduction of costs in connection with pesticide analysis in water from private wells and boreholes have been investigated: immune chemistry, indicator-pesticides, and increased threshold levels.

The most attractive solution for reduction of costs is to limit the pesticide numbers to a few selected indicator-pesticides. It appears that it is possible to find over 95% of water samples above the threshold levels by reducing the number of pesticides from the present 26 to five. By increasing the number of pesticides by a few compounds only a few percent of the positive samples would not be identified. It will be possible to achieve savings of the costs for analysis up to 40% by switching to selected indicator-pesticides. By compromising further with regard to the number of positive samples, savings could be in the range of 50-60% with identification of 85-90% of positive samples.

The immune chemistry methods display many advantages, for instance they are quick and relatively cheap. Since the methods can only be used for one compound at a time, it quickly becomes very expensive to analyse a water sample for several pesticides. Furthermore, there are virtually no immune chemistry kits that can be used at the detection levels that are required in connection with pesticide analyses. The commercial immune chemistry kits available only cover approx. 1/3 of the pesticides that are to be identified in connection with drinking water monitoring. Furthermore, cross-reactions

point towards immune chemistry methods as screening tools for single compounds where positive results are verified using other methods. The ambiguity in results achieved by using immune chemistry methods combined with the occurrence of pesticides in the uppermost groundwater magazines will mean that almost all samples will have to be verified by using other methods. Conventional methods will also most likely be quite competitive in terms of costs, if analyses are made only for a few selected compounds.

An increase of detection levels from the present $0.01\mu\text{g/l}$ to either $0.025\mu\text{g/l}$ or $0.05\mu\text{g/l}$ only provides minimal savings of 10-15% of costs. An increase in detection levels could have the result that important information, e.g. if pesticide levels are rising or falling, is being lost. A detection level too close to a threshold level is not optimal and can quickly lead to problems with verification of potential exceedances. Since the savings are minimal by increasing detection levels it will be most sensible to maintain a detection level at 1/10 of the threshold levels, where possible.

2 Litteraturgennemgang

2.1 Indledning

Immunkemiske metoder har været anvendt i over 40 år og hovedsagelig indenfor den kliniske kemi, men har i løbet af de sidste 10 år gradvist fundet vej til pesticidanalyserne. Hovedprincippet i immunkemiske metoder er bindingen imellem antistof og et fremmedlegeme, antigen. Den mest anvendte immunkemiske metode til pesticidanalyser er ELISA, hvor der anvendes antistof og enzymkonjugat til at detektere og kvantificere indholdet af pesticid i prøverne.

ELISA er en competitiv immunkemisk metode, fordi enzymkonjugatet konkurrerer om antistoffet med pesticidet i prøven. Efterfølgende anvendes enzymkonjugatet til en farvreaktion, der kan måles og indirekte bruges til at kvantificere pesticidkoncentrationen i prøven.

En gennemgang af litteratur og artikler der beskriver kommercielle immunkemiske kit viser, at langt den overvejende del omhandler atrazin eller triazin kit [1,3,4,6,7,8,9,12 og 13], hvilket illustrerer at atrazin og nedbrydningsprodukterne ikke kun er et problem i Danmark, men udgør et problem i vandmiljøet overalt, hvor det er anvendt [16].

2.2 Opbevaring og håndtering

Da der er tale om biologisk materiale, er håndteringen og opbevaring vigtigt for optimal udnyttelse af immunkemiske kit.

Der er fire vigtige forudsætninger for optimal brug af immunkemiske kit, opbevaringstemperatur, anvendelsestemperatur, reaktionstid samt holdbarhed [16].

De fleste kommercielle kit skal opbevares ved 2-8°C. Producenterne angiver almindeligvis, hvilke temperaturforhold netop deres immunkemiske kit skal opbevares under. En undersøgelse viser, at der hurtigt sker en nedbrydning og degeneration ved opbevaring ved forkert temperatur [16].

En vigtig ting for at få præcise og nøjagtige resultater er det rigtige operations-temperaturinterval samt reaktionstider. Det rigtige temperaturinterval er specielt kritisk, hvis de immunkemiske kit påtænkes anvendt i felten. Holdbarheden for immunkemiske kit er fra 1 til 2 år, og der kan ikke garanteres for pålidelige resultater, hvis der anvendes reagenser eller opløsninger, som har overskredet anvendelsesdatoen.

I en laboratorieafprøvning med 11-17 deltagende laboratorier fra forskellige udviklingslande [20] blev prøver og de immunkemiske kit fremsendt med posten.

I de fleste tilfælde var prøver og ELISA-kit fremme hos deltagerne i løbet af 1-2 uger, mens det i enkelte tilfælde blev tilbageholdt i tolden i flere uger sandsynligvis under forhøjet temperatur.

Dette kunne ses direkte på en af de tilbagesendte standardkurver, som havde en helt anden facon, hvilket sandsynligvis skyldes fremskredet nedbrydning af de immunkemiske reagenser. I enkelte lande kræves der specieltilladelse for at

importere biologisk materiale, og der kan derfor opstå uforudsete situationer, når immunkemisk materiale skal bestilles eller sendes. Det foreslås, at der sendes en datalogger med, således at de temperaturer, som det immunkemiske kit har været udsat for, registreres.

Sherman og Bergmann [3] opserverede, at responsen fra referenceopløsningen B_0 (blindprøve) varierede betydeligt fra microtiterplade til microtiterplade, 0,57 til 1,1 absorbans enheder. De prøvede at undersøge om temperaturen og reaktionstiden havde indflydelse på dette, og de fandt at bare én grads forskel i temperaturen gav signifikant forskelligt resultat ($p=95\%$). Ligeledes havde reaktionstiden signifikant indvirkning. De ændrede derfor metoden, således at reaktionstiden blev øget fra 5 minutter til 15 minutter, og alle reagenser, standarder, prøver og microtiterplader blev nøje tempereret i et vandbad før brug. Det anbefales desuden, at inkubationstiden optimeres for hvert nyt immunkemisk batch. Sherman og Bergmann [3] modificerede ligeledes den medfølgende metodebeskrivelse, således at de medfølgende engangspipetter blev udskiftet med nøjagtige semiautomatiske og manuelle pipetter for bedre at kunne styre reagenserne.

Hock and Dankwardt [20] mener, at der kan opstå randeffekt hvor brøndene i kanten af microtiterpladerne ikke har samme temperatur som de midterste brønde, hvis pladerne ikke er ordentlig tempereret før brug. Da reaktionerne er meget temperaturfølsomme, kan en randeffekt bevirke en betydelig metodeusikkerhed.

2.3 Detektionsgrænse og præcision

Mouvet et al. [11] testede et kommerciel isoproturon-kit og et laboratorium fremstillet kit og fandt, at detektionsgrænsen ($3 \times \text{std bl.}$) varierede imellem henholdsvis $0,020\text{-}0,064\mu\text{g/l}$ og $0,080\text{-}0,329\mu\text{g/l}$ afhængig af den aktuelle standardkurve og microtiter-batch anvendt. Den store variation for det laboratoriefremstillede kit skyldes standardkurvens meget flade forløb i den lave ende. Der var meget lille forskel på det analytiske signal imellem laveste standard og blindprøven. Usikkerheden for det kommercielle kit var 19% imellem microtiterpladerne og $5,5\%$ indenfor pladerne. Mouvet et al. [11] konkluderer, at usikkerheden sandsynligvis skyldes variation i antistofmængden i de enkelte brønde eller direkte tab af antistof fra brøndene.

Ved at anvende de medfølgende standarder kunne Meulenberg og Stoks[2] opnå samme detektionsgrænser, som var angivet for de to kommercielle kit til 2,4-D bestemmelse på henholdsvis $0,1\mu\text{g/l}$ og $0,7\mu\text{g/l}$. Ved at fortynde de medfølgende standarder således, at der blev 6-8 niveauer i stedet for de oprindelige 3. Kunne de forbedre detektionsgrænserne fra de oprindelige $0,1\mu\text{g/l}$ til $0,03\mu\text{g/l}$ og $0,7\mu\text{g/l}$ til $0,05\mu\text{g/l}$. Metodevalideringen viste en usikkerhed på op til 53% imellem pladerne og $22\text{-}28\%$ indenfor pladerne. Den store usikkerhed er efter deres mening ganske almindelig, når der arbejdes med immunkemiske metoder.

I en validering af bl.a. et kommercielt triazin kit kunne opnås en detektiongrænse på $0,03\mu\text{g/l}$ og en usikkerhed på $3,5\text{-}5\%$ indenfor serien og $8\text{-}11\%$ i mellem serierne. For et tilsvarende isoproturon kit blev detektiongrænsen $0,01\mu\text{g/l}$ og en usikkerhed på $3\text{-}9\%$ indenfor serien og 9-

12% i mellem serierne[9], hvilket er næsten samme værdier, der kan opnås med konventionelle metoder.

Denille et al [10] spikede grundvand og drikkevand med terbuthylazin og fandt en metodeusikkerhed for anvendelse af immunkemiske kit på henholdsvis 22,7% og 33,5%, mens instrumentmetoden havde en usikkerhed på under 10% for begge typer matricer. Ligeledes fandt Thurman et al [12], at usikkerheden er større ved en triazin immunkemisk metode i forhold til GC/MS 15-20% mod 5-10%.

2.4 Krydsreaktion

Fordi antistofferne som anvendes i immunkemien krydsreagerer med nærtbeslægtede stoffer, må der forventes både falske positive resultater og en overestimering af pesticidkoncentrationen [3]. Et falsk positivt resultat defineres i immunkemien, som et resultat over detektionsgrænsen, der ikke kan eftervises ved en reference metode [6]. Falsk negativt resultat defineres, som en negativ respons for en prøve, som indeholder over detektionsgrænsen af et givet stof.

Gascon et al [6] testede et kommerciel immunkemisk atrazin kit for interferens (krydsreaktion) fra nedbrydningsprodukterne desethylatrazin og desisopropylatrazin samt det nærtbeslægtede stof simazin. IC_{50} for atrazin er 0,302 $\mu\text{g/l}$, når isopropylgruppen erstattes med en ethylgruppe (simazin) stiger IC_{50} til 1,749 $\mu\text{g/l}$. Substitution af propylgruppen med hydrogen (desisopropylatrazin) får IC_{50} værdien til at stige til 2,059 $\mu\text{g/l}$. Derimod vil en substitution af ethylgruppen med hydrogen næsten ikke påvirke IC_{50} , som herefter blev 0,371 $\mu\text{g/l}$. De konkluderer, at det er mærkeligt at atrazin kit'et reagerer mest følsomt på desethylatrazin, som almindeligvis findes i højest koncentration i miljøet og desisopropylatrazin sjældent findes. Da det pågældende atrazin kit har en høj affinitet for desethylatrazin, skal det pågældende kit nok mere betegnes som et triazin kit end et specifikt atrazin kit.

Mouvet et al. [1] fandt, at tertbutylazin var den største krydsreaktant i de 4 kommercielle kit til atrazin bestemmelse de afprøvede, og simazin og desethylatrazin havde også en betydelig krydsreaktion med kitene, mens nedbrydningsprodukterne desisopropylatrazin og hydroxyatrazin næsten ikke udviste nogen krydsreaktion.

2.5 Matrix interferens

Tilstedeværelsen af forskellige substanser i vandprøverne kan influere på de immunkemiske reaktioner i forskellig grad og kan give anledning til over- eller underestimering af prøvens indhold af pesticid.

Interferensen kan inddeles i to klasser [6], 1; det som ændrer på affiniteten imellem antigen og antistof såsom pH og ionstyrke. 2; det som direkte konkurrerer med antigenet om de aktive pladser på antistoffet, såsom opløst organisk stof, der måske kun svagt reagerer med antistoffet, men ved tilstrækkelig høj koncentration indvirker på resultatet.

Et triazin-kit som Thurman et al. [12] arbejdede med, blev testet for interferens fra naturlig humus- og fulvicsyre, som er hovedbestanddelen af organisk stof i naturligt vand. En variation af humus- og fulvicsyre indholdet fra 5mg/l til 100mg/l havde ingen indvirkning på atrazin resultatet. De

konkluderer, at triazin kit'et ikke var følsomt over for opløst organisk stof i prøverne, hverken i negativ eller positiv retning.

Gascon et al. [4] varierede pH, og saltindholdet (ionstyrken) i standarderne for at observere indvirkningen. Saltindholdet blev varieret fra 0 g/l til 35 g/l uden at det havde nogen indflydelse på standardkurvens facon og de lå alle fint parallelt. Ligeledes kunne der hellere ikke observeres nogen effekt ved pH ændringerne andet end parallelforskydning af standardkurven.

Parallelforskydning af standardkurven er også ensbetydende med anden respons, derfor vil det være nødvendigt at lave en standardkurve i det samme medie ellers vil der opstå en systematisk fejl, men der vil ikke være noget til hindre for at anvende immunkemiske kit til bestemmelse af prøver med højt saltindhold eller anderledes pH.

2.6 Sammenligning immunkemisk mod konventionel metode

For at sammenligne de immunkemiske metoder med de konventionelle metoder er det almindeligt, at afbillede resultaterne i et koordinatsystem [11,13]. X-aksen defineres til GC/LC metoden, mens den immunkemiske metode afbildes på y-aksen og derefter foretages en lineær regression på punkterne ($y=ax+b$). For fuldstændig overensstemmelse imellem metoderne skal hældningen være 1 og skæring 0 og korrelationskoefficienten r^2 skal være så tæt på 1 som muligt.

En skæring på 0 viser, at hverken den immunkemiske eller den konventionelle metode over- eller underestimerer koncentrationen i det lave niveau. Mens en hældning på 1 viser, at når koncentrationen stiger vil resultatet fra den immunkemiske og den konventionelle metode være ens [5].

Korrelationskoefficienten skal tages med forbehold, idet værdien kan være tæt på 1 uden, at punkterne er lineært relateret. Der bør altid være en fysisk kurve til at bedømme om punkterne er lineært relateret som korrelationskoefficienten angiver [14].

Brady et al. [13] konkluderede, at resultaterne for bestemmelse af atrazin ved en immunkemisk metode, korrelerer godt med en GC/MS metode ($r^2=0,95$) dog med en positiv bias til immunkemien. Det var ikke muligt at finde årsagen til biasen, idet hverken simazin eller forskellige nedbrydningsprodukter kunne henføres til det positive bidrag. Nitratindholdet og pH i prøverne kunne heller ikke henføres til overestimeringen.

I en anden metodesammenligning foretaget af Dinelli et al. [10] til bestemmelse af terbutylazin ved ELISA og HPLC fandtes ligeledes en god korrelation ($r^2=0,975$), men en hældning på 1,275, som indikerer en overestimering med den immunkemiske metode. De fandt, at overestimeringen ikke skyldes metolachlor, som er et pesticid, der ofte benyttes sammen med terbutylazin og som har en ubetydelig krydsreaktion med det immunkemiske kit.

To forskellige kommercielle kit til bestemmelse af 2,4-D blev sammenlignet med en GC/MS-metode, og der blev fundet korrelationskoefficienter på henholdsvis 0,985 og 0,9996 og kurvehældninger på henholdsvis 0,985 og 1,02, hvilket indikerer en god korrelation imellem konventionel og immunkemiske metoder, og en god nøjagtighed for begge kit'ene [2].

Mouvet et al. [11] testede to forskellige kit til isoproturonbestemmelse mod en konventionel HPLC-metode med fastefase oprensning og fandt korrelationskoefficienter på henholdsvis 0,947 og 0,943 og hældninger på 1,076 og 0,915. Hældning på under 1 finder Thurman et al [12] ligeledes (0,88) og ifølge Mouvet et al. [11] findes der stadig ingen forklaring på dette,

idet krydsreaktion vil bevirke overestimering med den immunkemiske metode. At der skulle være en overestimering ved HPLC-bestemmelsen finder Mouvet et al. [11] ikke sandsynlig, da forbehandling af prøven snarere bevirker et tab af prøve.

I en anden test Mouvet et al. [1] foretog af 4 forskellige kit til atrazin bestemmelse mod en konventionel GC-HPLC metode, var kurvehældning over 1 for alle 4 kit. I det ene tilfælde var hældningen tæt på 1,5, hvilket indikerer en stor overestimering af atrazin-indholdet. Det var ikke muligt at finde årsagen, idet de almindelige krydsreaktanter, simazin, desethylatrazin og desisopropylatrazin ikke kunne henføres til overestimeringen. Desethyldeisopropylatrazin, som ikke kunne bestemmes ved deres konventionelle metode, vil ifølge deres konklusion ikke kryds reagere og kan derfor udelukkes som årsag til overestimeringen. En underestimering ved den konventionelle GC-HPLC metode blev ligeledes udelukket, idet metoden tager højde for tabet ved recoverykorrigering af resultatet.

Derimod konkluderer Schraer et al. [5], at en hældningen på over 1(1,08) i sammenligning af cyanazin bestemt ved ELISA og GC/MS skyldes tab ved ekstraktionen til GC/MS-metoden. En korrelationskoefficient på 0,76 konkluderer Schraer et al. [5], at være acceptabel.

Ved at sammenligne atrazinbestemmelse ved ELISA og GC/MS fandt Gruessner et al.[8], at ELISA metoden overestimerer koncentration.

Gennemsnitlige var atrazin koncentration 0,1µg/l højere ved ELISA metoden end GC/MS metoden. De vurderede, at overestimeringen skyldes krydsreaktion fra simazin, cyanazin eller atrazinmetaboliter. I 35% af prøverne fandt de ligeledes cyanazin, men ikke i de koncentrationer, der kunne henføres direkte til overestimeringen. De fandt ingen prøver med simazin, derfor konkluderede Gruessner et al.[8], at overestimeringen skyldes atrazinmetaboliter samt cyanazin.

2.7 Fordele og ulemper beskrevet

Der er ligesom andre analytiske metoder fordele og ulemper. Immunkemiske metoder er begrænset ved krydsreaktion, enkelt komponent bestemmelse og matrix effekt [6]. Desuden findes muligheden for at finde både falske negative og positive resultater .

Thurman et al. [12], som undersøgte triaziner i grundvand og overfladevand, fandt ingen negative resultater i sin undersøgelse og mener, at det ikke er særligt sandsynligt at finde falske negative resultater med immunkemiske metoder, idet der skal ske en fysisk sorption til antistoffet, hvilket ikke vil forekomme i almindelige analytiske situationer.

Dette underbygges af Meulenberg og Stokes[2], der ved sammenligning af to forskellige immunkemisk kit til 2,4-D bestemmelse mod konventionel GC/MS med fastefase ekstraktion ikke fandt falske negative prøver, men at cirka hver tiende positive prøve var falske.

Ligeledes fandt Gruessner et al. [8] ingen falske negative resultater i deres afprøvning af et atrazin kit, men havde falske positive resultater i 5,5% af prøverne, som sandsynligvis skyldes ukendte krydsreaktanter. Da sandsynligheden for falske negative resultater er begrænset og derved muligheden for at forkaste positive prøver, egner immunkemiske metoder sig godt som screeningsmetode, men det kræver at positive prøver verificeres ved konventionelle metoder.

Ifølge Sherman og Bergmann [3] er immunkemiske metoder et godt screeningsværktøj, der ikke kan erstatte de almindelige analytiske metoder, men som kan anvendes til at eliminere prøver under en vis grænseværdi og derved reducere antallet af prøver til almindelige kemiske metoder. I en stor grundvands monitoring i Wisconsin i USA [13] blev grænsen, som trigger en opfølgende gaschromatografisk bestemmelse sat til $0,35\mu\text{g/l}$, som var midt på standardkurven, hvor bestemmelsen er mest nøjagtig. Derved var det kun en lille del af de positive fund der blev efterkontrolleret. Ifølge forfatterne blev der herved sparet et betydeligt beløb, idet deres pris for en immunkemisk bestemmelse kun var en tiendedel af en gaschromatografisk bestemmelse. En drikkevandsforsyning i Holland, som anvender flodvand fra Rhinen, har haft problemer med at overholde EU's krav på $0,1\mu\text{g/l}$ for 2,4-D, hvilket skyldes at pesticidet ikke tilbageholdes i vandbehandlingsanlægget, og der til tider er meget høj koncentration i Rhinen-vandet. Derfor havde de behov for at opbygge et varslingsystem, således at der kunne lukkes for vandtilførslen ved tegn på forhøjet 2,4-D koncentration. I denne situation var den konventionelle GC/MS metode for kompliceret og langsom. Derimod passede immunkemiske metoder ideelt til formålet som screening metode, der ved en grænseværdi på $0,1\mu\text{g/l}$ trigger opfølgning ved konventionel GC/MS metode [2].

Mouvet et al. [11] konkluderede, at detektionsgrænsen opnået i deres validering gør det muligt at verificere om prøverne overholder EU-kravet på $0,1\mu\text{g/l}$, men på grund af den store variation imellem microtiterpladerne og indenfor pladerne vil dette kun kunne efterleves med ny standardkurve for hver microtiterplade og tredobbelt bestemmelse af prøverne. De konkluderer, at fordelene ved immunkemiske metoder er, at der kan opnås detektionsgrænser med et par hundrede mikroliter, som ikke er mulig ved gængse metoder ved oprensning af 1 liter prøve. I anden artikel fra Mouvet et al. [1] hævdede de, at betegnelsen let at anvende skulle tages relativt, idet nøjagtige resultater kun kan opnås med uddannet og erfarent personale, samt ekstraudstyr i form af multikanal pipetter, vaskesystem, pladelæser og software til kalibrering og beregning, ting der ikke altid oplyses af producenten. På grund af den store variation i mellem de immunkemiske rør brugte Sherry og Borgmann [3] en gennemsnits standardkurve bestående af resultater fra starten og slutningen af dagen til at beregne indholdet i prøverne. De havde ligeledes besvær med at håndtere end meget kort farve-inkubationstid angivet til 2 minutter. En test viste, at en ændring i inkubationstiden fra 2 til 4 minutter fordoblede absorbansen og derved resultatet. De konkluderede, at dette var problematisk, og at det sandsynligvis vil medvirke til en større unøjagtighed ved mere rutinepræget anvendelse af det immunkemiske kit.

Ifølge Brady et al. [13] er der penge at spare ved at immunkemiske metoder giver minimal mængde organisk affald i forhold til konventionel GC analyse. Derudover er oplæring af personale til immunkemiske metoder betydelig lettere end til GC-analyser og vedligeholdelse af apparatur er ligeledes meget lettere. Efter få ugers oplæring i ELISA-metoder var det muligt for uerfarent personale, at opnå resultater, som var fuldt på højde med mere erfarne teknikeres resultater.

Dinelli et al. [10] konkluderer, at selv om usikkerheden er betydelig større ved anvendelse af immunkemisk analysemetode har de et stort potentiale som hurtig screeningsmetode i forhold til den mere præcise HPLC-metode.

Musick et al [15] har udfærdiget en liste med fordele og ulemper ved anvendelse af immunkemiske metoder. Til fordelene hører, at metoden er pålidelig og et effektivt screenings værktøj og i nogle tilfælde med lavere detektionsgrænse end konventionelle metoder (gælder nok mest Nord Amerika). Til ulemperne er, at immunkemiske metoder ikke er specifikke nok og medbestemmer nært beslægtede stoffer og metaboliter. Falske positive resultater kræver, at resultaterne verificeres ved andre metoder. Da stoffer og materialer ikke tåler forhøjet temperaturer, skal al forsendelse foregå ekspres og under køl, hvilket er en ekstra omkostning der sjældent er medregnet.

Antallet af prøver, der kan håndteres med immunkemien er helt anderledes end ved konventionelle metoder. Gascon et al. [4] sammenlignede en microtiter og en rør immunkemisk metode til atrazin bestemmelse mod en LC-DAD metode (Liquid Chromatography - Diode Array Detector) med automatisk oprensning. Med den konventionelle LC-DAD metode kunne de håndtere 1 prøve pr. time, mens flowet var over 100 prøver pr. time for microtiter metoden, og over 60 prøver pr. time for immunkemiske metode med rør.

2.8 Sammenfatning på litteraturgennemgang

Reagenser og plader, der anvendes til immunkemiske analyser, har begrænset holdbarhed og tåler ikke at blive opbevaret ved over 2-8°C. Dette har vist sig at kunne give problemer i forbindelse med forsendelse og anvendelse. Da der indgår biologisk materiale i metoderne, kan en forhøjet temperatur bevirke en nedbrydning og henfald af materialet [20]. Ved almindelig forsendelse kan der opstå uforudsete situationer i forbindelse med toldbehandling, der gør, at selvom forsendelsen er pakket forsvarligt og nedkølet, alligevel kommer til at henstå ukontrolleret ved forhøjet temperatur og derved forøget risiko for henfald af materialet, hvilket måske først opdages under analysearbejdet eller efterfølgende talbehandling af resultaterne.

Detektionsgrænsen for kommercielle immunkemiske kit opgives enten som 3 gange standardafvigelsen ved gentagne målinger af blindprøven eller som den koncentration der mætter 10% af antistoffet (90%B/B₀). Yderligere angives en kvantificeringsgrænse eller -område, som er koncentrationen, hvor usikkerheden har et vist niveau eller hvor den lineære del af standardkurven starter og slutter.

Detektionsgrænsen for de kommercielle kit til pesticidanalyse ligger i området 0,005 µg/l til 1,4 µg/l. Det har vist sig, at det ved udskiftelse af de medfølgende engangspipetter til mere præcise hel- og halvautomatiske pipetter og forøgelse af antallet af standardniveauer er muligt at sænke detektionsgrænsen med en faktor ti [2]. Detektionsgrænserne kan kun overholdes, hvis der beregnes en standardkurve for hver ny plade der anvendes og flerdobbeltbestemmelse på hvert standardniveau.

Usikkerheden ved anvendelse af immunkemiske metoder er generelt højere end konventionelle GC eller LC metoder. Der i enkelte tilfælde fundet op til 50 % usikkerhed i mellem analyseserierne og over 20% indenfor serierne [2]. Almindeligvis ligger usikkerhederne på 10-20% for de immunkemiske metoder og 5-10% for de konventionelle GC og LC-metoder. Usikkerheden ved anvendelse af immunkemiske metoder er generelt dobbelt så stor imellem analysedagene som indenfor dagen.

Immunkemiske metoder har en iboende krydsreaktion, der gør at de udover, at bestemme en given analyt ligeledes kan medbestemme nedbrydningsprodukter og nærbeslægtede stoffer. Krydsreaktionerne skyldes, at antistoffet ikke er 100% specifikt for hele molekylet, men kun for en bestemt del af molekylet. Derved vil antistoffet reagere med andre molekyler, der indeholder samme dele.

Ved at teste et immunkemisk atrazin kit for krydsreaktioner med simazin og de almindelige nedbrydningsprodukter desethylatrazin og desisopropylatrazin var det tydeligt at se, at antistoffet var følsomt over for isopropylgruppen i molekylet. Det immunkemiske kit havde næsten samme følsomhed over for atrazin og de stoffer, der havde intakt isopropylgruppe, mens følsomheden faldt drastisk når gruppen manglede[6].

Som i konventionelle kemiske metoder kan prøvematrixen indvirke positivt eller negativt på kvantificeringen ved hjælp af immunkemiske metoder. Navnlig naturligt organisk materiale i prøven mistænkes for at kunne interferere på resultatet. I en enkelt afprøvning havde humussyre koncentration på op til 100mg/l ingen indvirkning på resultatet. En anden undersøgelse viste, at de immunkemiske kit uden problemer kunne anvendes med et saltindhold op til 35g/l.

Generelt sammenlignes konventionel og immunkemiske metoder ved at afbillede resultaterne mod hinanden i et almindelig koordinatsystem og foretage en lineær regression på punkterne.

I de fleste sammenligninger er der fundet en god korrelation imellem konventionel og immunkemiske metoder. I det korrelationskoefficienten ligger lige under 1, men hældningen er som regel over 1, hvilket indikerer en overestimering af resultatet med den immunkemiske metode. Enkelte gange kunne overestimering direkte henføres til forskellige krydsreaktanter, som ligeledes var til stede i prøverne.

I langt de fleste tilfælde, var det derimod ikke muligt at finde årsagen til overestimeringen, enten fordi det ikke var muligt at bestemme mulige krydsreaktanter med den konventionelle metode, eller fordi det skyldes ukendte stoffer i prøverne.

3 Kommercielle immunkemiske kit

Listen med de forskellige immunkemiske kit, se bilag A, er frembragt ved henvendelse til danske og udenlandske leverandører. I Danmark er der kun en som forhandler immunkemiske kit til pesticidanalyse, resten kan kun købes i udlandet. Langt den overvejende del produceres og forhandles i Nordamerika eller igennem en af firmaernes oversøiske filialer.

Det er et svært marked at få overblik over, idet biokemiske firmaer åbnes, lukkes og dele af produktionen frasælges i et væk. Der kan være en to år gammel artikel omhandlende et bestemt kommercielt kit, men i dag eksisterer produktet ikke mere eller også forhandles det under et andet navn af et andet firma.

Listen omhandler kun immunkemiske kit, der kan anvendes til kvantitativ analyse af pesticider i vand. Der findes enkelte semi-kvantitative immunkemiske kit, som i løbet af meget kort tid kan vise, om pesticidindholdet i vandet er over en bestemt værdi. Som regel er den værdi så høj (3-5 μ g/l), at disse semi-kvantitative kit ikke passer til det danske marked og derfor ikke er medtaget.

Listen omhandler ligeledes kun de pesticider, der normalt indgår i drikkevands-bekendtgørelsen plus glyphosat og AMPA. Der findes mange kommercielle kit til andre pesticider deriblandt DDT, dieldrin ect., som måske kan være interessante ved udvidet grundvandsovervågning, men de er ikke medtaget i dette projekt.

Det er umiddelbart ikke mange af drikkevandsbekendtgørelsens pesticider, der kan bestemmes med kommercielle immunkemiske kit, men på grund af krydsreaktion vil for eksempel et atrazin kit ligeledes bestemme mange af nedbrydningsprodukterne såsom DE-atrazin og DIP-atrazin, og derved dækkes et bredere felt end lige navnet antyder.

Der findes på nuværende tidspunkt ikke noget kommercielt tilgængeligt kit til det nok mest problematiske stof BAM, hvilket formentlig skyldes, at de immunkemiske kit hovedsagligt anvendes i Nord Amerika, hvor BAM åbenbart ikke er noget problem.

Det er dog muligt at få specielfremstillet det ønskede immunkemiske kit eller eventuelt for den mere erfarne selv at fremstille et, idet der kan købes antistoffer til stort set alt, og der findes artikler, som nøjagtigt beskriver fremgangsmåde til flere af de pesticider, hvor der ikke kan fås kommerciel immunkemiske kit[18,19].

I Danmark findes en enkelt instans, der tilbyder udførelse af BAM-bestemmelse med et immunkemisk kit, de selv har fremstillet ud fra kommerciel tilgængelige antistoffer.

Der må påregnes en merudgift til spektrofotometer eller pladelæser, pipetter både enkelt- og flerkanaalspipette, vortexmixer, vægt, pladeryster samt eventuel magnetisk rack til Rapid ® assay kit, før de enkelte immunkemiske kit kan anvendes. Der er enkelte forhandlere, som tilbyder udlejning af komplet udstyr.

Der medfølger til de fleste kit udførlige manualer, som præcist beskriver fremgangsmåden. Såsom inkubationstider, stofmængder samt den almindelige håndtering og opbevaring af kemikalier. I enkelte manualer er der ligeledes

angivet et absorptionsinterval for de enkelte standarder. Derved kan der hurtigt observeres om metoden virker optimalt.

Som regel er der en liste med 5 til 20 forskellige krydsreaktanter vedlagt, men uden en nærmere beskrivelse af disse stoffer. Er der tale om nærtbeslægtede stoffer, nedbrydningsprodukter, stoffer der tit findes sammen med analyten eller er det bare nogle tilfældige stoffer fra kemikaliehylde. For den uøvede vil det derfor kræve ekstra arbejde at identificere, om krydsreaktanterne overhovedet vil kunne være til stede i prøven.

Antallet af medfølgende standarder ligger fra 3 til 6. Da standardkurven er relativt kompliceret, er 3 standarder langt fra nok. Der vil derfor være behov for yderligere standardniveauer enten ved fortynding af de medfølgende standarder eller anvendelse af egne opløsninger.

Der er kun to immunkemiske kit, som kan overholde de danske krav til detektionsgrænsen, og et kit, der ligger lige på grænsen.

Usikkerheden ved bestemmelse af pesticidindholdet ved hjælp af kommercielle immunkemiske kit er ikke noget, som normalt angives. Det er kun på Rapid® assay kit, der er angivet usikkerheder. På resten er det ikke oplyst.

Om de enkelte immunkemiske kit kan overholde de danske krav til detektionsgrænse og usikkerhed, kan umiddelbart først afgøres ved en ordentlig metodevalidering. Nogle af detektionsgrænserne ligger så langt fra kravet, at det ikke virker sandsynligt, at de nogensinde vil kunne komme i nærheden af kravniveauet.

4 Indikatorpesticider

Formålet er at finde et sæt af indikatorpesticider, som kan reducere analysepakken, og som skal anvendes til prøver fra private brønde og borer med så lille indvirkning på antallet af positive prøver som muligt. Målet er at reducere analysepakken fra 26 til 5 stoffer og efterfølgende vurdere eller opsætte prisindeks for de reducerede analyseprogrammer.

4.1 Udvælgelse af indikatorpesticider

Med baggrund i de analysedata, der er tilvejebragt i projektet "Pesticidforurenede vand i små vandforsyningsanlæg", er fordelingen af pesticidfund på de 26 pesticider analyseret i relation til at etablere et fornuftigt sæt af indikatorpesticider.

Det er primært analyseresultaterne fra den første analyserunde, hvor glyphosat og AMPA er medbestemt, som er vurderet. Ligeledes indgår kun datasæt, der indeholder resultater for alle 26 pesticider. Reanalyser af enkeltforbindelser er derfor ikke medtaget i vurderingen. I alt vurderes der på 649 datasæt, som består af prøver fra 4 amter beliggende forskellige steder i landet. Amterne repræsenterer både meget sandjord og meget lerjord samt forskellig landbrugsintensitet. Prøverne repræsenterer derved et gennemsnit og ikke nogen bestemt jordtype eller erhvervsform. Ligeledes er prøverne fra små vandforsyningsanlæg, hvor vandet hovedsagelig hentes fra de øverste grundvandsmagasiner. Indikatorpesticiderne repræsenterer derfor udelukkende denne type prøver og ikke prøver fra dybere grundvandsmagasiner.

De 649 datasæt er overført til Excel-regneark og underinddelt i 8 stofgrupper, se tabel 1. Inddelingen er foretaget efter, hvordan stofferne kemisk naturligt hører sammen, og ikke efter hvordan stofferne anvendes. Excel regnearket er sat op, således at et eller flere stoffer kan markeres som indikator med en bestemt detektionsgrænse og derefter søge på tværs af prøverne for positive fund.

Først er enkeltstoffer indenfor grupperne markeret skiftevis for at se, hvilke stof der bedst repræsenterer gruppen se bilag B1.0. Det giver et sæt på 7 indikatorpesticider, idet dimethoat fra dimethoatgruppen er udeladt, fordi der kun findes et positivt fund. Derfor er stoffet urelevant som indikator stof. De 7 stoffer er så sat ind i regnearket som en indikatorpakke se bilag B1.1. Ved kun at analysere for disse 7 indikatorpesticider er det muligt at finde 92,3% af de positive prøver. En fjernelse af DNOC fra indikatorpakken forrykker ikke procenten, der er uændret på 92,3%. En yderligere reduktion i indikatorpakken fra 6 til 5 ved at fjerne hexazinon bevirker, at procenten falder 0,6% til 91,7%. Da de fleste positive fund indeholder stoffer fra triazingruppen og desisopropylatrazin ikke dækker gruppen 100%, er det forsøgt at forøge indikatorpakken på 5 stoffer med alle stofferne fra triazingruppen med undtagelse af cyanazin, som aldrig er fundet. Denne forøgelse medfører, at der findes 96,7% af de positive prøver, se bilag B1.1. En aftrapning af

stofferne i triazingruppen til kun desisopropyl- og desethylatrazin gør at 93,5% positive prøver findes.

BAM gruppe
BAM (metabolit af dichlobenil), dichlobenil
Triazin gruppe
Desisopropylatrazin (metabolit af atrazin, simazin, terbutylazin og cyanazin), desethylatrazin (metabolit af atrazin og simazin), atrazin, simazin, desethylterbutylazin (metabolit af terbutylazin), terbutylazin, cyanazine
Urea gruppe
Diuron, isoproturon
Phenoxy gruppe
Bentazon, dichlorprop, 2,4-dichlorphenol (metabolit af dichlorprop og 2,4D), mechlorprop, 2,6-dichlorphenol, MCPA, 2,4-D
Keto gruppe
Hexazinon, met amitron
Nitro gruppe
DNOC, dinoseb, pendimethalin
Organophosphor gruppe
Dimethoat
Glyphosat gruppe
AMPA (metabolit af glyphosat), glyphosat

Tabel 1. Gruppeinddeling af pesticiderne til udvælgelse af indikatorpakker.

Denne procent er for en indikatorpakke med 6 stoffer, den kan reduceres til 5 stoffer ved enten at fjerne diuron eller bentazon. Dette gør at procenten falder til enten 91,4 eller 90,8%.

Der kan således dannes 2 indikatorpakker med 5 stoffer, der giver stort set samme procent, se tabel 2.

Indikatorpakke 1	Indikatorpakke 2
BAM	BAM
Desisopropylatrazin	Desisopropylatrazin
Diuron	Desethylatrazin
Bentazon	Bentazon
AMPA	AMPA
Positive prøver: 91,7%	Positive prøver: 91,4%

Tabel 2. De 2 mest fordelagtige indikatorpakker til private brønde og boringer.

Udvælgelse af indikatorpesticiderne kunne være foretaget ved at vælge de 5 stoffer, der er fundet mest. Det vil betyde, at der kun findes 84% af de positive prøver, se bilag B1.1. Ved at medtage AMPA i stedet for simazin gør, at der kan findes 89,9% af de positive prøver.

Der vil kunne sammensættes alternative indikatorpakker med flere stoffer fra triazingruppen, som er meget fordelagtige, men det vil betyde en udvidelse i antallet af stoffer, se tabel 3. Rent analyseteknisk bestemmes mange af

stofferne fra triazingruppen i samme analysegang, og det vil sandsynligvis give en minimal merudgift i analyseprisen at medtage flere stoffer fra denne gruppe. For hvert ekstra stof fra triazingruppen stiger antallet af positive prøver med cirka 1%.

Indikatorpakke 3	Indikatorpakke 4
BAM	BAM
Desisopropylatrazin	Desisopropylatrazin
Desethylatrazin	Desethylatrazin
Diuron	Atrazin
Bentazon	Simazin
AMPA	Desethylterbutylazin
	terbutylazin
	Diuron
	Bentazon
	AMPA
Positive prøver: 93,5%	Positive prøver: 96,7%

Tabel 3. Al ternative indikatorpakker til private brønde og boringer.

Gengangen af datamaterialet viser, at enkelte pesticider kan fjernes fra analyseprogrammet uden at påvirke antallet af positive prøver nævneværdigt. Cyanazin er ikke fundet i nogen af prøverne og vil derfor umiddelbart kunne sløjfes i analyseprogrammet. Dichlobenil, moderstoffet til BAM, findes næsten aldrig, uden BAM ligeledes er til stede. Talmaterialet indeholder kun en enkelt prøve, hvor dichlobenil optræder alene uden BAM. Det vil derfor være nærliggende ikke at medtage dichlobenil i analyseprogrammet, når bare der analyseres for BAM. Pendimethalin og dimethoat er ligeledes kun fundet en enkelt gang og altid sammen med andre pesticider. De vil derfor kunne fjernes fra analyseprogrammet uden, at det påvirker antallet af positive fund. Glyphosat og AMPA kan derimod ikke umiddelbart fjernes, idet de optræder meget hyppigt og uden nogen sammenhæng til de andre pesticider. Ved ca. en fjerdedel af de positive glyphosat og AMPA prøver findes der ikke andre pesticider i prøven, se bilag B3.1.

4.2 Pesticider der kan analyseres i en analysegang.

Formålet med denne del er at undersøge muligheden for et prisbilligt alternativ til den nuværende pesticidpakke ved udelukkende at bestemme pesticider, som kan analyseres ved en metode.

Den væsentlige del af udgiften til pesticidanalyser skyldes, at der skal anvendes flere forskellige analyseprincipper for at kunne bestemme samtlige 26 pesticider. Det vil derfor være relevant at indskrænke pesticidpakken, beregnet til private brønde og små vandforsyninger, til pesticider, der kan analyseres enten ved GC/MS eller LC/MS analyseprincip og ved en analysegang.

Ud fra stoffernes fysisk-kemiske egenskaber og analysetekniske vurderinger, samt hyppigheden af stoffer i private brønde og små vandforsyninger er der opstillet 3 analysepakker.

En pakke rettet mod de stoffer, der kan bestemmes ved en analysegang på GC/MS, én pakke rettet mod LC/MS, samt en pakke udelukkende til glyphosat og AMPA.

De 3 pakker ser ud som følger:

GC/MS (18 pesticider)	LC/MS (13 pesticider)	LC/MS (2 pesticider)
BAM	BAM	Glyphosat
Desisopropylatrazin	Desisopropylatrazin	AMPA
Desethylatrazin	Desethylatrazin	
Atrazin	Atrazin	
Simazin	Simazin	
Desethylterbutylazin	Desethylterbutylazin	
Terbutylazin	Terbutylazin	
Bentazon	Bentazon *	
Diuron **	Hexazinon	
Hexazinon	Isoproturon	
2,6-Dichlorphenol	DNOC	
2,4-Dichlorphenol	Dinoseb	
Dichlobenil	Cyanazin	
Isoproturon **		
Metamitron *		
Dimethoat *		
Cyanazin		
Pendimetalin		

Tabel 4. Oversigt over pesticider, der kan analyseres ved samme analysegang.

*) Der kan være problemer med at overholde detektionsgrænsen på 0.01g/l.

**) Hvorvidt stoffet kan medtages i pakken afhænger af injektionssystemet

I bilag B2.1 er der yderligere vist flere mulige pakker, som supplerer ovenstående pakker.

4.3 Prisindeks for de enkelte pesticidpakker.

Med basis i tekniker- og apparattid, samt kemikalieforbrug er der udregnet et prisindeks for de forskellige analysepakker. Prisindekset bygger på listepreiser, og der er ikke taget højde for rabatter og andet, som eventuelt kan komplicere prisindekset yderligere.

I Tabel 5 er de mest interessante pakker trukket frem.

Prisindeks 100 svarer til den samlede pakke med de 26 pesticider. Prisindeks 100 vil kunne relateres til prisen for den nuværende boringskontrols pesticidpakke plus analyseprisen for glyphosat og AMPA. I bilag C1.01 til bilag C1.15 ses prisindekset for de enkelte analysepakker.

Til sammenligning er medtaget forskellige andre pesticidpakker, som måske kan være interessante, hvis der ønskes en anden pesticidesammensætning. I bilag C1.03 og C1.04 er prisindekset for pesticidpakke GC/MS og LC/MS angivet og det ses, at prisen mere end halveres, når der kun anvendes en analysegang og metode. Samtidig vil der alligevel fanges henholdsvis 92% og 89,9% af de positive prøver.

Som det kan ses af bilag C1.03 er det forholdsvis dyrt at få bestemt glyphosat og AMPA, idet 30% af prisen for bestemmelse af 26 pesticider kommer fra disse to stoffer. Det er denne tendens, som bevirker at indikatorpakkerne 1 og 2 bliver dyrere end de rene GC/MS og LC/MS metoder. Indikatorpakkerne 1 og 2 vil koste cirka 60% af en fuld metode på 26 stoffer.

Indikatorpakke	Antal Pesticider	AMPA indgår	Positive fund i %		Prisindeks
			alle	≥0,1µg/l	
Alle 26 pesticider	26	x	100	100	100
Alle stoffer minus glyphosat og AMPA	24		93,5	93,4	69,9
Kun glyphosat og AMPA	2	x	21,3	11,7	30,1
Indikatorpakke 1	5	x	91,7	95,9	60,7
Indikatorpakke 2	5	x	91,4	97,0	60,7
Indikatorpakke 3	6	x	93,5	97,5	61,4
Indikatorpakke 4	10	x	96,7	99,0	63,6
Indikatorpakke GC/MS	18		92,0	92,4	40,8
Indikatorpakke LC/MS	13		89,9	92,9	37,2
De 5 hyppigst forekommende	5		84,0	89,3	31,3
Kun BAM	1		68,9	79,7	28,4

Tabel 5. Oversigt over de forskellige indikatorpakker med angivelse af, hvor effektive de er til at fange positive prøver, samt prøver over grænseværdien på 0,1µg/l. Der er ligeledes angivet et prisindeks for de enkelte pakker.

Prisforskellen imellem indikatorpakkerne og de rene GC/MS og LC/MS metoder er cirka 20%, og de fanger stort set lige stor procentdel af de positive prøver. Sammenlignet med den almindelige boringskontrolpakke er det derimod en meget billig og besparende måde at få inkluderet glyphosat og AMPA i analyseprogrammet på. Prisindekset er beregnet efter AMPA, der fungerer som indikator for glyphosat, men det vil sandsynligvis koste et minimalt tillæg at få begge stoffer bestemt.

Indikatorpakkerne 3 og 4 er kun nogle få procent dyre end indikatorpakkerne 1 og 2. Det vil derfor være relativt billigt at forøge antallet af positive prøver, der fanges ved at inkludere flere stoffer fra triazingruppen. Indikatorpakke 4 fanger hele 96,7% af de positive fund, og til en pris der ligger 35% under, hvad det koster at bestemme samtlige 26 stoffer.

I bilag C1.14 ses prisindekset for pesticidpakken kun indeholdende BAM. Det indikerer at, hvis analysemetoden målrettes mod dette stof vil det, kunne gøres for cirka en fjerdedel af prisen for bestemmelse af 26 pesticider. Denne pris vil således matche anvendelse af immunkemiske metoder.

4.4 Konklusion på indikatorpesticider:

Prisindekset for indikatorpakkerne viser, at der kan spares mange penge ved at reducere antallet af pesticider, der skal bestemmes. Besparelsen ligger på 35-40% for indikatorpakkerne 1 til 4. Med så få stoffer vil det alligevel være muligt at fange imellem 91,7 og 96,7% af alle positive prøver, men vigtigere er, at kun ganske få procent af prøverne over grænseværdien ikke opdages. For analysepakkerne, der kun består af en metode, vil besparelsen være over 50%. Disse analysepakker er en smule dårligere end indikatorpakkerne til at fange positive prøver, og 3-4% dårligere til at opfange prøver over grænseværdien, se bilag C1.04 og C1.05.

5 Reduceret krav til analysekvalitet

I dag er der fastsat et generelt krav om, at laboratorieanalyser af miljøfremmede stoffer skal foregå med en detektionsgrænsen på en tiendedel af grænseværdien for de pågældende stoffer. For pesticider i drikke- og grundvand er kravet en detektionsgrænse på 0,01g/l. En så lav detektionsgrænse kan kun opnås ved anvendelse af dyrt og avanceret måleudstyr, samt erfarent personale til at gennemgå tal og resultater. En ændring af detektionsgrænsen fra nuværende værdi på 0,01g/l til et højere niveau vil måske kunne forenkle analysearbejdet i laboratorierne og derved analyseprisen.

5.1 Prisindeks for forøget detektionsgrænse

En vurdering af prisindekset ved et reduceret krav til detektionsgrænsen er efterfølgende gennemført ved at bruge laboratoriets egen erfaring med kvalitetskravene, samt en vurdering af udgifterne ved de enkelte analyser. De to niveauer, der evalueres, er en ændring af detektionsgrænsen fra det nuværende niveau på 0,01g/l til henholdsvis 0,025g/l og 0,05g/l. Niveaulet på 0,1g/l er ligeledes medtaget som et referenceniveau.

I bilag C1.01 til bilag C1.15 kan ses prisindekset for de forskellige detektionsgrænser. Bilagene indeholder ligeledes prisindeks for de reducerede analysepakker, der er fremkommet i afsnit 4.1.

Som det kan ses af bilagene vil en ændring af detektionsgrænsen fra det nuværende niveau på 0,01g/l til 0,025g/l betyde en besparelse på cirka 10% i analyseprisen. En yderligere forøgelse af detektionsgrænsen til 0,05g/l vil bevirke en reduktion i prisen på ekstra 5%. Der vil følgelig kunne spares cirka 15% i analyseprisen ved at forøge detektionsgrænsen fra 0,01g/l til 0,05g/l. Denne besparelse opnås kun ved et fuldt analyseprogram indeholdende alle 26 pesticider. Besparelsen reduceres, når antallet af pesticider i analyseprogrammet reduceres, således opnås der kun en reduktion i prisen på 5 til 10% for de små reducerede indikatorpakker fra afsnit 4.1.

Besparelsen opnås ved, at talbehandlingen og vurdering af chromatogrammerne forenkles. Da der i første omgang ikke er tale om ændrede analysemetoder, foreligger der ikke besparelse andre steder i laboratorieanalyserne. Der vil måske på sigt kunne anvendes billigere analyseapparatur og andre analysemetoder, som vil kunne sænke prisen yderligere.

Prisindekset bygger på, at detektionsgrænsen for alle prøvematrixer forøges, eller at der forefindes tilstrækkelig mange prøver med forhøjet detektionsgrænse således, at analysesekvenserne kan fyldes med denne type prøver. Får analyselaboratorierne kun ganske få prøver til en anden detektionsgrænse vil der ikke kunne opnås nogen besparelsen i den efterfølgende talbehandling, og der vil derfor ikke kunne forventes nogen prisreduktion.

Prisindekset tager ligeledes udgangspunkt i, at analysekvalitet skal være på højde med akkrediterede analysemetoder. Det vil sige, at der skal foreligge kontrolkort, og hver analysesekvens skal indeholde forskellige former for

kontrolprøver, der viser om analysemetoden er under kontrol. Ligesom der kræves deltagelse i offentlige præstationsafprøvninger. En forøgelse af detektionsgrænsen ændrer ikke ved kravene til en akkrediteret analysemetode. Analyselaboratoriernes udgifter til kvalitetskontrol er derfor uafhængig af detektionsgrænseniveauet, og det vil derfor ikke give anledning til en reduktion i analyseprisen.

5.2 Positive prøver

Analysedataene fra projektet "Pesticidforurennet vand i små vandforsyningsanlæg" er brugt til at estimere, hvordan ændringen i detektionsgrænsen påvirker antallet af positive pesticidprøver.

Som det ses af tabel 6 og bilag C1.01 vil en ændring af detektionsgrænse fra den nuværende 0,01g/l til 0,025g/l bevirke, at der ville være fundet cirka 15% færre positive prøver i dette projekt. Ændres detektionsgrænsen til 0,05g/l er det over 25% af de positive prøver der forsvinder. Billedet er det samme ved anvendelse af de små indikatorpakker fra afsnit 4.1, se bilag C1.06 og C1.07. De positive prøver, der herved ikke findes ligger ikke over grænseværdien, men der vil forsvinde værdifuldt information, når op til en fjerdedel af de positive prøver kommer under detektionsgrænsen og udelades.

Pakke	Detektionsgrænse 2g/l	Positive prøver %
26 pesticider	0,01	100
	0,025	86,7
	0,05	73,4
Indikatorpakke 1	0,01	91,7
	0,025	80,2
	0,05	69,2

Tabel 6. Antal let af positive prøver ved ændring i detektionsgrænsen.

5.3 Ulemper ved forøget detektionsgrænse

Omkostningerne ved at forøge detektionsgrænsen fra 0,01g/l til 0,025g/l eller 0,05g/l er, at tidligere positive prøver ikke opdages. Prøverne vil dog ligge under den gældende grænseværdi på 0,1g/l, men den tidligere mulighed for at blive advaret om en måske forestående overskridelse mindskes, når afstanden imellem detektions- og grænseværdien er lille. Muligheden for at observere, om en eventuel pesticidforureningen ændres i positiv eller negativ retning i løbet af en tidsperiode begrænses ligeledes. Risikoen for at handle på baggrund af falske positive eller falske negative resultater øges med højere detektionsgrænse, især detektionsgrænsen på 0,05g/l kan give problemer. Opsættes de samme kvalitetskrav til analysen med detektionsgrænsen på 0,05g/l, som der eksisterer i dag til pesticidanalyser, vil usikkerheden på bestemmelsen i området 0,05g/l til 0,15g/l være $\pm 0,05g/l$. En så stor usikkerhed på resultater, der ligger lige op ad en grænseværdi, som der skal foretages forebyggende handlinger efter, vil give problemer. Blandt andet vil eventuelle reanalyser kunne give så divergerende resultater, at det er svært at afgøre om grænseværdien overskrides. Kvalitetskravene til 0,025g/l analysen gør, at usikkerheden er væsentlig mindre. Den vil efter de gældende krav være $\pm 0,025g/l$ i området 0,025g/l til

0,075g/l og der vil derfor være betydelig mindre tvivl, om et resultat overskrider grænseværdien eller ej.

5.4 Konklusion på ændret analysekvalitet

Generelt er det en lille prisgevinst, der opnås ved at forøge detektionsgrænsen fra det nuværende niveau på 0,01g/l til enten 0,025g/l eller 0,05g/l. En detektionsgrænse på 0,05g/l vil ikke være forenelig med den nuværende grænseværdi på 0,1g/l og kan derfor umiddelbar udelukkes.

En prisreduktion på 10% for pesticidanalyser foretaget med en detektionsgrænse på 0,025g/l er ikke meget, og med den usikkerhed, der ligger i ansættelsen af prisindekset, kan den reelle reduktionen måske endda blive mindre. En detektionsgrænse på 0,025g/l vil stadig være så lav, at der ikke kan ændres meget ved analysemetoderne og apparaturet.

Det vil medføre nogle gener for analyselaboratorierne at have en detektionsgrænse til prøver fra private brønde og borer, og en anden til grundvandsprøver, idet der således skal være 2 forskellige kontrolsystemer.

Der vil ligeledes kunne opstå situationer, hvor der findes pesticidrester i det nederste grundvand, som ikke er observeret i de øverste grundvandsmagasiner, fordi niveauet ligger imellem de to detektionsgrænser.

Det nuværende krav til analysemetoderne om en detektionsgrænse på en tiendedel af grænseværdien er fornuftigt valgt, og bør ikke ændres for at opnå en relativ beskedent besparelse.

6 Referencer

- [1] Mouvet C., Broussard S., Jeannot R., Maciag C., Abuknesha R. and Ismail G.. Validation of commercially available ELISA microtiter plates for triazines in water samples. *Analytica Chimica Acta* **311 (1995) 331-339**.
- [2] Meulenberg E. P. and Stoks P. G.. water quality control in the production of drinking water from river water. The application of immunological techniques for the detection of chlorophenoxy acid herbicides (2,4-D). *Analytica Chimica Acta* **311 (1995) 407-413**.
- [3] Sherry J.P. and Borgmann A.. Enzyme-immunoassay techniques for the detection of atrazine in water samples: Evaluation of a commercial tube based assay. *Chemosphere*, **Vol.26, No.12 pp 2173-2184, 1993**.
- [4] Gascon J., Oubina A., Ferrer I., Önnarfjord P., Marko-Varga G., Hammock B. D., Marco M. P. and Barcelo D.. Performance of two immunoassays for the determination of atrazine in sea water samples as compare with on-line solid phase extraction-liquid chromatography-diode array detection. *Analytica Chimica Acta* **330 (1996) 41-51**.
- [5] Schraer S. M., Shaw D. R., Boyette M., Coupe R. H. and Thurman E. M.. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and gas chromatography procedures for the detection of cyanazine and metolachlor in surface water samples. *J. Agric. Food Chem.* **2000, 48, 5881-5886**.
- [6] Gascon J., Martinez E., Barcerlo D.. Determination of atrazine and alachlor in natural waters by a rapid-magnetic particle-based ELISA, Influence of common cross-reactants: deethylatrazine, deisopropylatrazine, simazine and metolachlor. *Analytica Chimica Acta* **311 (1995) 357-364**.
- [7] Ballesteros B., Barcelo D., Dankwardt A., Schneider P. and Marco M. P.. evaluation of field-test kit for triazine herbicides (SensioScreen®TR500) as a fast assay to detect pesticide contamination in water samples. *Analytica Chimica Acta* **475 (2003) 105-115**.
- [8] Gruessner B., Shambaugh N. C. and Watzin M. C.. Comparison of an enzyme immunoassay and gas chromatography/mass spectrometry for the detection of atrazine in surface waters. *Environ. Sci. technol.* **1995, 29, 251-254**.
- [9] Meulenberg E. P. Vree L. G. and Dogterom J.. Investigation of indicative methods in the Netherlands: validation of several commercial ELISAs for pesticides. *Analytica Chimica Acta* **399 (1999) 143-149**.

- [10] Dinelli G., Vicari A., Bonetti A. and Catizone P.. Comparison of capillary electrophoresis, HPLC, and enzyme immunoassay for terbuthylazine detection in water. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 951-955.
- [11] Mouvet C., Broussard S., Riolland H., Baran N., Abuknesha R. and Ismail G.. Evaluation of ELISA microtiter plate-based assays for direct determination of isoproturon in water samples and soil extracts. *Chemosphere*, vol. 35, No. 5, pp. 1099-1116, 1997.
- [12] Thurman E. M., Meyer M., Pomes M., Perry C. A. and Schwab A. P.. Enzyme-linked immunosorbent assay compared with gas chromatography/mass spectrometry for the determination of triazine herbicides in water. *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 2043-2048.
- [13] Brady J. F., LeMasters G. S., Williams R. K., Pittmann J. H., Daubert J. P., Cheung m. W., Skinner D. H., Turner J., Rowland M. A., Lange J. and Sobek S. M.. Immunoassay analysis and gas chromatography conformation of atrazine residues in water samples from a field study conducted in the state of Wisconsin. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 268-274.
- [14] Miller J. C. and Miller J. N.. Statistics for analytical chemistry. Ellis Horwood ptr Prentice Hall 1993.
- [15] Hennion M. C. and Barcelo D., Strengths and limitations of immunoassays for effective and efficient use for pesticide analysis in water samples: A review. *Analytica Chimica Acta* 362 (1998) 3-34.
- [16] Andrea Dankwardt. Immunochemical assays in pesticide analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Edited by Robert A. Meyers. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- [17] Aiyagari N. and Breche T. Environmental Sampling & Monitoring Primer. <http://www.cee.vt.edu>
- [18] Bruun L., Koch C., pedersen B., Jakobsen M.H., and Aamand J.. A quantitative enzyme-lined immunoassay for the detection of 2,6-dichlorobenzamide (BAM), a degradation product of the herbicide dechlorobenzil. *Journal of Immunological Methods* **240 (2000)** 133-142.
- [19] Bruun L., Koch C., Jakobsen M.H., and Aamand J.. New monoclonal antibody for the sensitive detection of hydroxy-s-atrazines in water by enzyme-linked immunosorbent assay. *Analytica Chimica Acta* **423 (2000)** 205-213.
- [20] Hock and Dankwardt. Recommendations about the Use of Immunochemical Methods for the FAO/IAEA Training and Reference Centre for Food and Pesticide Control. Immunochemical Assays in Pesticide Analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry. John Wiley & Sons Ltd.*

7 Ordforklaring

Antistof	Et protein(immunoglobulin) produceret af kroppens B-celler til at binde sig til antigen
Antigen	Fremmede molekyle der er agerer med immunsystemet
B-celler	En lymfocyt der producere Antistof
ELISA	Enzym-linked Immunosorbent Assay
Hapten	Små molekyler der kan binde til antibody, men ikke i stand til at frembringe immunorespons
IC ₅₀	Et udtryk for krydsreaktivitet, der angiver hvilken koncentration af stof, der skal til for at halvere signalet 50% B/B ₀ i forhold til maksimal signal 100%b/B ₀ .
Microtiter	Små plastikplader indeholdende et antal brønde. Fremstillet i enten polystyren eller polypropylen begge transparent materiale.

Kommercielle Immunkemiske Kit

Parameter	Format	kvantifiseringsområde	Detektionsgrænse	IC ₅₀	Krydsreaktanter	navn	Firma	pris	pris pr. prøve ^a
Atrazin	tube	0,04-5,0µg/l	0,046µg/l (90%)	0,72µg/l	Se 1	Atrazine Rapid Assay	SDI Quick England	kr.3374,-100tube kr.1606,-30tube	kr.117,-100tube kr.282,-30tube
Atrazin	tube	0,015-1,0µg/l	0,015µg/l (90%)	0,22µg/l	se 2	HS-Atrazine Rapid Assay	SDI Quick England	kr.4301,-100tube Minimum bestilling 10stk	kr.150,-
Atrazin	Microtiter	0,03-3µg/l			se 3	Atrazine ELISA kit	Abrixis USA Biosense Norge	kr.2275,- kr.3375,- i Norge	kr.83,- kr.124,-
BAM									
Bentazon									
Cyanazin	tube	0,04-3,0µg/l	0,035µg/l (90%)	0,43µg/l	se 4	Cyanzine Rapid Assay	SDI Quick England	kr.4015,- 100tube	kr.140,-
Cyanazin	Microtiter	Ikke angivet, højeste medfølgende standard 5,0µg/l	0,14µg/l (90%)	0,73µg/l	se 5	EnviroGard	SDI Quick England	kr.4510,- Minimum bestilling 10stk	kr.165,-
Cyanazin	Microtiter	0,4-10µg/l	0,15µg/l (3 x bl)	2,6µg/l	se 6	EnviroLogix	EnviroLogix	kr.4510,- Minimum bestilling 10stk	kr.165,-
2,4D	tube	1-50µg/l	0,7µg/l (90%)	15µg/l	se 7	2,4D Rapid Assay	SDI Quick England	kr.3674,- 100tube kr.1947,- 30tube	kr.128,- kr.365,-
2,4D	tube Microtiter	Ikke angivet, højeste medfølgende standard 50µg/l	1,4µg/l (85%)	ia	se 8	EnviroGard	SDI Quick England	kr.4510,- (microtiter) kr.2530,- (20tube) Minimum bestilling 10stk	kr.165,- kr.1265,-
DE-atrazin									
DIP-atrazin									
Dichlorbenil									
Dichlorprop									
Dimetoat									
Dinoseb									
DNOC									
Hexazon									
HO-atrazin									
Isoproturon	Microtiter	Ikke angivet, højeste medfølgende standard 0,50µg/l	0,02µg/l	0,13 µg/l	se 9	EnviroGard	SDI Quick England	kr.2200,-	kr.80,-
Isoproturon	Microtiter	0,05-2µg/l	0,005µg/l (3 x bl)	0,41µg/l	se 10	EnviroLogix	EnviroLogix	kr.2574,-	kr.94,-

Kommercielle Immunkemiske Kit

Parameter	Format	kvantificerings- område	Detektions- grænse	IC ₅₀	Kryds- reaktanter	navn	Firma	pris	pris pr. prøve ^a
MCPA									
Mechlorprop metamitron									
Simazin	tube	0,03-3,0µg/l	0,03µg/l	0,70µg/l	se 11	Simazine Rapid Assay	SDI Quick England	kr.4015,- 100tube	kr.140,-
Terbythylazin									
Triazin	Microtiter	0,04-4,0µg/l	0,01µg/l (3 x bl) atrazin	0,39µg/l	se 12	EnviroLogix	EnviroLogix	kr.2574,-	kr.94,-
Triazin	tube	0,1µg/l-? højeste medfølgende standard 1,0µg/l	0,1µg/l	?	ia	Transia	Diffchamb Danmark	???	
Triazin	microtiter	0,05µg/l-? højeste medfølgende standard 1,0µg/l	0,02µg/l	0,15µg/l	ia	Transia	Diffchamb Danmark	????	
4-Cl-2- methylphenol									
2,4- dichlorphenol									
Glyphosat	tube	1,0-25,0µg/l	0,6µg/l	ia	ingen beslægtede pesticider eller AMPA	Glyphosate HS ELISA kit	Abrixis USA Biosense Norge	kr.4388,- 120tube kr.6375,-i Norge	kr.124,- kr.180,-
AMPA									

Til Rapid kits kan købes accessory kit indeholdende; Rapid fotometer, magnetisk separator(60 pladser), forskellige pipetter, vortex mixer, vægt og stopur. pris kr.47300,- kan lejes for kr.2750,-/uge. Delene kan også købes enkeltvis. De pågældende –ELISA-kit kan stort set ikke anvendes uden dette accessory kit.

Til EnviroGard kan ligeledes købes accessory kit indeholdende; Fotometer, pipetter, vægt og stopur. pris kr.16500,- kan lejes.

Til de andre ELISA-kit kræves ligeledes ekstraudstyr såsom; Pladelæser/fotometer, pipetter, stopur, pladeryster og rent vand. Sælges ikke hos de pågældende firmaer.

Omregningskurs anvendt 100£= 1100kr., 100\$= 650kr. og 100Euro=750kr.

Alle priserne er angivet uden fragt samt eventuel moms eller anden afgift der er forbundet med indførelse af vare fra udlandet.

^a)pris pr. prøve er beregnet ved at antage følgende; 6 standardniveauer med dobbelt bestemmelse plus 2 blindprøve, og hver prøve analyseres tre gange.

Kommercielle Immunkemiske Kit

Krydsreaktion

1) Atrazin Rapid assay Stof	LDD IC50	2) HS-Atrazine Rapid Assay Stof	LDD IC50	3) Atrazin ELISA kit Stof	%
Atrazin	0,046 0,72	Atrazin	0,015 0,22	Atrazin	100
Propazine	0,033 0,74	Propazine	0,005 0,091	Propazine	81
Ametryn	0,053 0,39	Prometryn	0,013 2,38	Simazine	6,9
Prometryn	0,054 0,64	prometon	0,015 2,38	Ametryn	3,9
prometon	0,056 2,22	Ametryn	0,019 6,08	HO-atrazine	1,8
DE-atrazine	0,062 3,21	Terbutylazine	0,019 5,09	DE-atrazine	1,3
Terbutryn	0,090 5,50	Simazine	0,019 2,03	Terbutylazine	1,0
Terbutylazine	0,31 15,5	DE-atrazine	0,027 0,87	Der er yderligere ikke fundet kryds-reaktion for: aldicarb, aldicarb sulfoxid, aldicarb sulfone, alachlor, benomyl, butachlor, butylate, captan, carbaryl, carbendazim, carbofuran, 2,4D,	
Simazine		Terbutryn			

Kommercielle Immunkemiske Kit

	0,34 4,90		0,027 63,5		
DIP-atrazine		Cyanazine			1,3-dichloropropen, dinoseb, MCPA, metolachlor, metribuzin, pentachloro- phenol, pichloram, propachlor, terbufos, thiabendazole, thiophanate-methyl.
	0,8 217		0,036 50,7		
Cyanazine		DIP-atrazine			
	1,0 >10000		0,156 128		
HO-atrazine		HO-atrazine			
	1,1 148		0,156 >1000		

Der er yderligere ikke fundet krydsreaktion for: aldicarb, aldicarb sulfoxid, aldicarb sulfone, alachlor benomyl, butachlor, butylate, captan, carbaryl, carbendazim, carbofuran, 2,4D, 1,3-dichloropropen, dinoseb, MCPA, metolachlor, metribuzin, pentachlorophenol, pichloram, propachlor, terbufos, thiabendazole, thiophanate-methyl.

Der er yderligere ikke fundet krydsreaktion for: alachlor, aldicarb, aldicarb sulfoxid, aldicarb sulfone, butachlor, butylate, captan, carbaryl, butachlor, butylate, captan, carbaryl, carbendazim, carbofuran, chlorothalonil, 2,4D, 1,3-dichloropropen, dicamba, dinoseb, folpet, metolachlor, metribuzin, pentachlorophenol, pichloram, propachlor, terbufos, thiabendazole, thiophanate-methyl, triclopyr.

Kommercielle Immunkemiske Kit

Krydsreaktion

4) Cyanzine Rapid Assay
Stof

LDD
IC50

Cyanazine

0,035
0,43

Terbutylazin

0,050
12,0

Terbultryn

0,110
15,0

Ametryn

0,500
80,0

Prometryn

1,5
640

Simazine

1,6
200

Propazine

3,5
390

Prometon

82
1900

DE-atrazine

Bilag A

5) EnviroGard
Stof

LDD
IC50

Cyanazine

0,14
0,73

Cyanazine acid

>1000
>1000

Cyanazine amide

1,5
750,0

De-ethylated cyanazine

0,1
1,0

G-hydroxy cyanazin acid

100,0
>1000

Ametryn

100,0
10,0

Atrazine

10,0
867,0

De-ethylated atrazine

10,0
1000,0

Di-dealkylated atrazine

6) EnviroLogix
Stof

LDD
IC50

Cyanazine

0,15
2,6

Ametryn

36
>1000

DE-atrazin

2,2
392

Atrazine

3,3
537

Prometon

86
>1000

Prometryn

57
>1000

propazine

2,9
810

Simazine

60
>1000

Simetryn

Kommercielle Immunkemiske Kit

	117		100,0		188
	2480		10000		>1000
Atrazine		HO-atrazine		Terbutylazine	
	200		100,0		0,04
	>10000		10000		98
Der er yderligere ikke fundet kryds-reaktion for: aldicarb, aldicarb sulfoxid, aldicarb sulfone, alachlor, benomyl, butylate, captafol, captan, carbaryl, carbendazim, carbofuran, 2,4D, 1,3-dichloropropen, dinoseb, MCPA, metolachlor, metribuzin, pentachloro-phenol, pichloram, propachlor, terbufos, thiabendazole, thiophanate-methyl.		Prometryn		Der er yderligere ikke fundet kryds-reaktion for: Silvex, 2,4,5-T, aldrin, α -BHC, β -BHC, γ -BHC, δ -BHC, p,p-DDT, p,p-DDE, p,p-DDD, endrin, heptachlor, dieldrin, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfate, endrin aldehyde, heptochlor epoxide, carbofuran, oxamyl, methomyl, aldicarb, aldicarb sulfone, aldicarb sulfoxide, 3-hydroxycarbofuran, methiocarb.	
		Prometon			
			100,0		
			10000		
		propazine			
			10,0		
			500		
		Simetryn			
			100,0		
			10000		
		Simazine			
			100,0		
			10000		
		Terbutylazine			
			0,52		
			23,0		
		Terbutryn			
			10,0		
			1000		
		Trietazine			
			100,0		
			>10000		

Kommercielle Immunkemiske Kit

Krydsreaktion

7) 2,4D Rapid Assay Stof	LDD IC50	8) EnviroGard 2,4D Stof	LDD IC50	9) EnviroGard isoproturon Stof	LDD IC50
2,4D	0,70 15,0	2,4D	1,4	Isoproturon	0,02 0,13
2,4D propyleneglycol ester	0,05 0,79	2,4D butyl ester	0,2	Chlorbromuron	85 1000
2,4D ethyl ester	0,05 0,82	2,4D methyl ester	0,6	Chlorotoluen	6 165
2,4D isopropyl ester	0,07 1,44	2,4D isopropyl ester	4,4	Chloroxuron	>100 >1000
2,4D methyl ester	0,12 1,64	2,4DB	29	Diuron	7 475
2,4D butyl ester	0,19 2,40	2,4DB butyl ester	65	Fenuron	>100 >1000
2,4D sec-butyl ester	0,13 2,20	2,4DB isobutyl ester	26	Fluometurn	>100 >1000
2,4D butoxyethyl ester	0,13 3,10	2,4-dichlorophenol	650	Linuron	46 2249
2,4D butoxy-propylen ester		2,4,5T		metobromuron	

Kommercielle Immunkemiske Kit

	1,21 31,1		81		3 46
2,4D isooctyl ester		Silvex		Metoxuron	
	2,08 30,0		>2600		47 >1000
2,4D 5-T		Dichlorprop		monolinuron	
	2,98 190		760		41 442
2,4DB		MCPA		monuron	
	3,95 139		12		5 104
MCPA		MCPP		Neburon	
	7,80 159		780		6 586
MCPB		Diclofop		Siduron	
	57 1470		1500		>100 >1000
4-chlorophenoxy-acetic acid				4-isopropylanaline	
	61 1220				30 306
Dichlorprop					
	117 7500				
Silvex					
	167 2060				
Dichlorophenol					
	217 3570				
Triclopyr					

Kommercielle Immunkemiske Kit

830
>10000

Der er yderligere ikke fundet krydsreaktion for: aldicarb, aldicarb sulfoxid, aldicarb sulfone, alachlor, benomyl, butachlor, butylate, captan, captofol, carbaryl, carbendazim, carbofuran, dicamba, 1,3-dichloropropen, dinoseb, MCPP, mecoprop, metolachlor, metribuzin, pentachlorophenol, pichloram, propachlor, terbufos, thiabendazole, thiophanate-methyl.

Kommercielle Immunkemiske Kit

Krydsreaktion

10) EnviroLogix isoproturon Stof	LDD IC50	11) Simazin Rapid assay Stof	LDD IC50	12) EnviroLogix Triazine Stof	LDD IC50
Isoproturon	0,005 0,41	Simazine	0,03 0,70	Atrazine	0,01 0,39
Chlorotuluen	9,5 2469	Atrazin	0,05 1,13	Atrazine mercapturate	0,04 0,27
Menuron	9,0 1009	Terbutylazine	0,03 1,70	Acetochlor ESA	>1000 >1000
Diuron	5,0 8971	Propazine	0,10 1,80	Alachlor ESA	>1000 >1000
Linuron	385 3653	DIP-atrazine	0,13 4,60	Ametryn	0,01 0,11
Flluometuron	83 >10000	Cyanazine	0,14 7,40	Cyanazine	7 116
Der er yderligere ikke fundet kryds- reaktion for: aldrin, α -BHC, β -BHC, γ -BHC, δ -BHC, p,p-DTT, p,p-DDE, p,p-DDD, endrin, heptachlor, dieldrin, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfate, endrin aldehyde, heptochlor epoxide, carbofuran, oxamyl, methomyl, aldicarb, aldicarb sulfone, aldicarb sulfoxide, 3-hydroxycarbofuran, methiocarb.		DE-atrazine	0,35 23,8	DE-atrazine	0,65 6,5
		Promrton	1,80 164	DIP-atrazine	17 104
		Prometryn		Di-deakyl atrazine	

Kommercielle Immunkemiske Kit

	3,00 301		100 >1000
Terbutryn	0,41 388	HO-atrazine	3 45
Ametryn	0,72 1000	Prometon	0,002 0,06
HO-atrazine	29,9 2540	Prometryn	0,01 0,08
Didealkylatrazine	15,1 10000	Propazine	0,02 0,25
Carbendazin	197 >10000	metolachlor	>1000 >1000
Benomyl	359 >10000	Simazine	0,27 3,5
Thiophant-methyl	1370 >10000	Simetryn	0,05 0,48
Thiabendazole	1920 >10000	Terbuthylazine	0,70 48
Propachlor	2380 >10000	Trietazine	12 413
picloram			

Kommercielle Immunkemiske Kit

	3090
	>10000
Chlorothalonil	3090
	>10000
Folpet	3930
	>10000
Butylate	4220
	>10000
Captan	5400
	>10000
Dicamba	5770
	>10000
2,4D	7870
	>10000

Der er yderligere ikke fundet krydsreaktion for: alachlor, aldicarb, aldicarb sulfone, amitrole, carbaryl, carbofuran, 1,3-dichloropropen, hydroxysimazine, metolachlor, metribuzin, pentachlorophenol, terbufos, triclopyr.

Indikatorpesticider inden for stofgrupper

% Positive prøver inden for gruppen
Antal positive prøver inden for gruppen

100	99,6	100	70,1	58,4	51,8	47,7	19,8	13,2	100	94,4	100	70,8	14,6	12,5	12,5	100	76,5	100	53,8	100	100	94,4
234	233	197	138	115	102	94	39	26	36	34	48	34	7	6	6	17	13	13	7	1	72	68

alle
338

BAM gruppe

BAM (2,6Dichlorbenzamid)	233	x																					
Dichlobenil	25	1																					

%
35,9
3,9

Triazin gruppe

Desisopropylatrazin		138	x	54	62	54	111	120															
Desethylatrazin		115	31	x	32	58	94	103															
Atrazin		102	26	19	x	45	80	91															
Simazin		94	10	37	37	x	71	81															
Desethylterbutylazin		39	12	18	17	16	x	20															
Terbutylazin		26	8	14	15	13	7	x															
Cyanazine		0	0	0	0	0	0	0															

21,3
17,7
15,7
14,5
6,0
4,0
0,0

Urea gruppe

Diuron		34	x																				
Isoproturon		4	2																				

5,2
0,6

Phenoxy gruppe

Bentazon		34	x	32	31	31																	
Dichlorprop		7	5	x	4	5																	
2,4-dichlorphenol		6	3	3	x	5																	
Mechlorprop		6	3	4	5	x																	
2,6-dichlorphenol		4	4	4	4	4																	
MCPA		3	1	2	2	3																	
2,4-D		2	2	2	1	2																	

5,2
1,1
0,9
0,9
0,6
0,5
0,3

Keto gruppe

Hexazinon									13	x													
Metamitron									4	4													

2,0
0,6

Nitro gruppe

DNOC												7	x										
Dinoseb												6	6										
Pendimethalin												1											

1,1
0,9
0,2

Organophosphor gruppe

Dimethoat																					1		
-----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---	--	--

0,2

Glyphosat gruppe

AMPA																					68	x	
Glyphosat																					46	4	

10,5
7,1

x = analyse program
= ikke analyseret , misset positive prøver

Indikatorpesticider

% positiv af max 338

100	0,0	92,3	92,3	91,7	96,7	96,4	95,3	94,7	93,5	90,8	91,4	89,9	84,0
338	0	312	312	310	327	326	322	320	316	307	309	304	284

Antal positive prøver

% hyppighed

BAM gruppe	Alle														% hyppighed	
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	x	233	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	35,9
Dichlobenil	x	25														3,9
Triazin gruppe																
Desisopropylatrazin	x	138	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	21,3
Desethylatrazin	x	115	6	6	6	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	17,7
Atrazin	x	102	6	6	6	x	x	x	x	4	4	4	x	x	x	15,7
Simazin	x	94	2	2	2	x	x	x	x	2	2	2	3	3	x	14,5
Desethylterbutylazin	x	39	4	4	5	x	x	4	5	5	5	5	5	5	5	6,0
Terbutylazin	x	26	4	4	4	x	1	3	4	4	5	4	5	4	4	4,0
Cyanazine	x															0,0
Urea gruppe																
Diuron	x	34	x	x	x	x	x	x	x	x	x	7	7	6	6	5,2
Isoproturon	x	4														0,6
Phenoxy gruppe																
Bentazon	x	34	x	x	x	x	x	x	x	x	9	x	9	10	10	5,2
Dichlorprop	x	7	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,1
2,4-dichlorphenol	x	6														0,9
Mechlorprop	x	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9
2,6-dichlorphenol	x	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	0,6
MCPA	x	3														0,5
2,4-D	x	2														0,3
Keto gruppe																
Hexazinon	x	13	x	x	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	2,0
Metamitron	x	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,6
Nitro gruppe																
DNOC	x	7	x												1	1,1
Dinoseb	x	6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0,9
Pendimethalin	x	1														0,2
Organophosphor gruppe																
Dimethoat	x	1														0,2
Glyphosat gruppe																
AMPA	x	68	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	23	10,5
Glyphosat	x	46	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	17	7,1

*oprindelig positive prøver hvor der som følge af et reduceret analyse program ikke konstateres et positive indeholder af nogle pesticider

x

= del af analyse programmet
= ikke analyseret

Indikatorpakker metodevis

Metode= x

BAM gruppe	LC/MS 1	LC/MS 2	GC/MS 1	GC/MS 2	AMPA/Glyphosat
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	x		x		
Dichlobenil			x		

Triazin gruppe

Desisopropylatrazin	x		x		
Desethylatrazin	x	x	x		
Atrazin	x	x	x		
Simazin	x	x	x		
Desethylterbutylazin	x	x	x		
Terbutylazin	x	x	x		
Cyanazine	x	x	x		

Urea gruppe

Diuron		x	x**		
Isoproturon	x	x	x**		

** Injektionssystemet afgørende

* Injektionssystemet afgørende

Phenoxy gruppe

Bentazon	x *	x	x		
Dichlorprop		x		x	
2,4-dichlorphenol			x		
Mechlorprop		x		x	
2,6-dichlorphenol			x		
MCPA		x		x	
2,4-D		x		x	

*Der kan være problem med DL

Keto gruppe

Hexazinon	x	x	x		
Metamitron		x	x*		

*Der kan være problem med DL

Nitro gruppe

DNOC	x	x		x	
Dinoseb	x	x		x	
Pendimethalin			x		

Organophosphor gruppe

Dimethoat		x	x*		
-----------	--	---	----	--	--

*Der kan være problem med DL

Glyphosat gruppe

AMPA					x
Glyphosat					x

Glyphosat/AMPA sammehæng

% positive af 649	11,1% 72 i alt		3,4 % 22 i alt		0,6% 4 i alt	
	Alle positiv AMPA		Kun positiv Glyphosat/AMPA negativ andre		Kun positiv Glyphosat og negativ AMPA	
	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj
BAM gruppe						
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	11	25				1
Dichlobenil	7	3				
Triazin gruppe						
Desisopropylatrazin	19	9			1	
Desethylatrazin	12	9				1
Atrazin	9	11				1
Simazin	19	7			1	
Desethylterbutylazin	8	2			1	
Terbutylazin	4	2				
Cyanazine						
Urea gruppe						
Diuron	7	3				
Isoproturon	1					
Phenoxy gruppe						
Bentazon	4	1			1	
Dichlorprop		1				
2,4-dichlorphenol	1				1	
Mechlorprop	2					
2,6-dichlorphenol	3					
MCPA	1	1			1	
2,4-D						
Keto gruppe						
Hexazinon	1	2				
Metamitron	1					
Nitro gruppe						
DNOC	6	1				
Dinoseb		1				
Pendimethalin	1					
Organophosphor gruppe						
Dimethoat						
Glyphosat gruppe						
AMPA	45	23	15	4		
Glyphosat	33	9	11	2	4	

Alle 26 pesticider

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	100,0		86,7		73,4		58,3		
	338		293		248		197		
	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
Detektions grænser	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM gruppe									
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	11	0	31	0	61	0	x
Dichlobenil	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	7	0	16	0	32	0	x
Desethylatrazin	0	0	4	0	8	0	20	0	x
Atrazin	0	0	4	0	10	0	18	0	x
Simazin	0	0	2	0	7	0	14	0	x
Desethylterbutylazin	0	0	1	0	7	0	10	0	x
Terbutylazin	0	0	2	0	6	0	8	0	x
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Urea gruppe									
Diuron	0	0	4	0	6	0	8	0	x
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	x
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	0	0	0	0	2	0	2	0	x
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Mechlorprop	0	0	0	0	1	0	1	0	x
2,6-dichlorphenol	0	0	1	0	2	0	2	0	x
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	x
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Keto gruppe									
Hexazinon	0	0	0	0	1	0	2	0	x
Metamitron	0	0	1	0	2	0	2	0	x
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Dinoseb	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Glyphosat gruppe									
AMPA	0	0	9	0	18	0	26	0	x
Glyphosat	0	0	2	0	8	0	15	0	x
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	0		54		79		102		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	0		0		53		82		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	0		0		0		55		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		0		0		0		0	
>=1 µg/l		0		0		0		0	
100 (de 24 pesticider)									
Pris Indeks			100	88	83	83			

Analyse programmet fanger

338 positive prøver
100,0 % (af 338)

197 positive prøver >= 0,1
100,0 % (af 197)

* x = Analyse program

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

Alle Pesticider undtaget Glyphosat/AMPA

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	93,5		81,1		69,5		54,4		
	316		274		235		184		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	13	0	33	0	64	0	x
Dichlobenil	0	0	1	0	1	0	3	0	x
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	8	0	19	0	37	0	x
Desethylatrazin	0	0	4	0	9	0	22	0	x
Atrazin	0	0	5	0	12	0	21	0	x
Simazin	0	0	3	0	9	0	18	0	x
Desethylterbutylazin	0	0	1	0	7	0	13	0	x
Terbutylazin	0	0	2	0	6	0	9	0	x
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Urea gruppe									
Diuron	0	0	4	0	6	0	9	0	x
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	x
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	0	0	0	0	2	0	2	0	x
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Mechlorprop	0	0	0	0	1	0	1	0	x
2,6-dichlorphenol	0	0	2	0	2	0	3	0	x
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	x
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Keto gruppe									
Hexazinon	0	0	1	0	1	0	2	0	x
Metamitron	0	0	1	0	2	0	2	0	x
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	0	0	0	0	3	0	x
Dinoseb	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Glyphosat gruppe									
AMPA	15	4	20	6	21	9	26	13	
Glyphosat	11	2	16	2	17	4	22	6	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	14		69		90		117		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	9		14		61		95		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	3		4		4		61		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		4		6		11		17	
>=1 µg/l		2		2		2		2	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	70		61		58		58		

Analyseprogrammet fanger

316 positive prøver
93,5 % (af 338)

184 positive prøver >= 0,1
93,4 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

Glyphosat/AMPA

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	21,3		16,0		9,8		6,8		
	72		54		33		23		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	65	131	67	136	70	144	71	150	
Dichlobenil	11	4	13	4	13	5	14	5	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	82	27	85	29	90	31	94	32	
Desethylatrazin	64	29	68	29	68	34	72	34	
Atrazin	54	27	57	27	57	32	58	34	
Simazin	53	14	56	16	61	17	65	18	
Desethylterbutylazin	27	1	29	1	30	2	31	3	
Terbutylazin	18	2	19	2	19	3	20	3	
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	19	5	21	5	22	6	23	6	
Isoproturon	2	1	3	1	3	1	3	1	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	16	12	16	12	19	12	20	12	
Dichlorprop	4	2	4	2	4	2	4	2	
2,4-dichlorphenol	3	1	3	1	5	1	5	1	
Mechlorprop	2	2	3	2	4	2	4	2	
2,6-dichlorphenol	1	0	1	0	2	0	3	0	
MCPA	0	0	0	0	1	0	1	0	
2,4-D	2	0	2	0	2	0	2	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	5	5	5	5	6	5	6	5	
Metamitron	3	0	3	0	3	0	3	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	2	0	2	0	2	0	
Dinoseb	3	2	3	2	3	3	3	3	
Pendimethalin	0	0	1	0	1	0	1	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	1	0	1	0	1	0	1	
Glyphosat gruppe									
AMPA	0	0	17	0	36	0	45	0	x
Glyphosat	0	0	2	0	14	0	24	0	x
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	177		208		227		242		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	145		155		182		188		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	112		117		126		144		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l	211		216		239		247		
>=1 µg/l	55		59		62		65		
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	30		26		25		25		

Analyseprogrammet fanger

72 positive prøver
21,3 % (af 338)

23 positive prøver >= 0,1
11,7 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

GC/MS indikatorpakke

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	92,0		79,3		68,0		53,8		
	311		268		230		182		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	13	0	35	0	65	0	x
Dichlobenil	0	0	1	0	1	0	3	0	x
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	8	0	20	0	37	0	x
Desethylatrazin	0	0	4	0	10	0	22	0	x
Atrazin	0	0	5	0	12	0	21	0	x
Simazin	0	0	3	0	9	0	18	0	x
Desethylterbutylazin	0	0	2	0	8	0	13	0	x
Terbutylazin	0	0	2	0	6	0	9	0	x
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Urea gruppe									
Diuron	0	0	4	0	6	0	9	0	x
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	x
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	0	0	3	0	3	0	3	0	x
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	0	0	1	0	1	0	2	0	x
Metamitron	0	0	1	0	2	0	2	0	x
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	1	0	2	1	3	1	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Glyphosat gruppe									
AMPA	15	4	20	7	22	11	26	14	
Glyphosat	11	2	16	3	18	5	23	6	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	14		71		95		117		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	12		17		64		97		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	4		6		7		61		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		5		9	0	16		20	
>=1 µg/l		2		2	0	2		2	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	41		34		31		31		

Analyseprogrammet fanger

311 positive prøver
92,0 % (af 338)

182 positive prøver >= 0,1
92,4 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

LC/MS indikatorpakke

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	89,9		78,7		68,9		54,1		
	304		266		233		183		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	14	0	33	0	64	0	x
Dichlobenil	0	0	1	0	1	0	3	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	8	0	19	0	37	0	x
Desethylatrazin	0	0	5	0	9	0	22	0	x
Atrazin	0	0	5	0	12	0	21	0	x
Simazin	0	0	4	0	9	0	18	0	x
Desethylterbutylazin	0	0	1	0	7	0	13	0	x
Terbutylazin	0	0	2	0	6	0	9	0	x
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	x
Urea gruppe									
Diuron	5	1	7	1	7	1	9	1	
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	x
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	2	0	2	0	2	0	3	0	
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	0	0	1	0	1	0	2	0	x
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	0	0	0	0	3	0	x
Dinoseb	0	0	0	0	0	0	1	0	x
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	16	4	20	6	21	9	26	13	
Glyphosat	12	2	16	2	17	4	22	6	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	21		72		90		117		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	14		20		61		95		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	4		5		5		61		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		5		7		12		18	
>=1 µg/l		2		2		2		2	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	37		32		29		29		

Analyseprogrammet fanger

304 positive prøver
89,9 % (af 338)

183 positive prøver >= 0,1
92,9 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

Indikatorpakke 1

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	91,7 310		80,2 271		69,2 234		55,9 189		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		*
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	13	0	33	0	64	0	x
Dichlobenil	0	0	0	0	0	0	1	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	10	0	21	0	38	0	x
Desethylatrazin	6	0	10	0	12	2	23	3	
Atrazin	6	0	9	1	12	3	18	5	
Simazin	2	0	5	0	8	0	14	0	
Desethylterbutylazin	5	0	7	0	9	0	11	0	
Terbutylazin	4	0	6	0	6	0	9	0	
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	0	0	4	0	6	0	8	0	x
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	1	0	2	0	2	0	2	0	
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	1	1	1	1	2	1	2	1	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	0	0	1	0	1	0	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	0	0	11	0	21	0	27	0	x
Glyphosat	3	0	5	0	11	0	16	0	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	16		71		87		106		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	11		17		60		88		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	6		7		10		61		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		1		2		6		9	
>=1 µg/l		1		1		1		1	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	61		54		51		51		

Analyseprogrammet fanger

310 positive prøver
91,7 % (af 338)

189 positive prøver >= 0,1
95,9 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

Indikatorpakke 2

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	91,4		80,2		70,1		56,5		
	309		271		237		191		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM gruppe									
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	13	0	32	0	63	0	x
Dichlobenil	0	0	0	0	0	0	1	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	9	0	18	0	35	0	x
Desethylatrazin	0	0	6	0	9	0	23	0	x
Atrazin	4	0	7	0	11	0	18	3	
Simazin	3	0	6	0	8	0	14	0	
Desethylterbutylazin	5	0	7	0	9	0	11	0	
Terbutylazin	4	0	6	0	6	0	9	0	
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	6	1	7	1	7	1	8	1	
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	1	0	2	0	2	0	2	0	
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	1	1	1	1	2	1	2	1	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	0	0	1	0	1	0	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	0	0	11	0	20	0	26	0	x
Glyphosat	3	0	5	0	10	0	15	0	x
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	16		70		84		105		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	11		17		56		84		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	5		5		8		60		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		2		2		2		5	
>=1 µg/l		1		1		1		1	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	61		54		51		51		

Analyseprogrammet fanger

309 positive prøver
91,4 % (af 338)

191 positive prøver >= 0,1
97,0 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

Indikatorpakke 3

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	93,5		81,4		70,7		56,8		
	316		275		239		192		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	13	0	32	0	63	0	x
Dichlobenil	0	0	0	0	0	0	1	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	9	0	18	0	35	0	x
Desethylatrazin	0	0	6	0	9	0	23	0	x
Atrazin	4	0	7	0	11	0	18	3	
Simazin	2	0	5	0	8	0	14	0	
Desethylterbutylazin	5	0	7	0	9	0	11	0	
Terbutylazin	4	0	6	0	6	0	9	0	
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	0	0	4	0	6	0	8	0	x
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	1	0	2	0	2	0	2	0	
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	1	1	1	1	2	1	2	1	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	0	0	1	0	1	0	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	0	0	11	0	20	0	26	0	x
Glyphosat	3	0	5	0	10	0	15	0	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	12		69		84		105		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	9		15		56		84		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	4		4		7		60		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		1		1		1		4	
>=1 µg/l		1		1		1		1	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	61		54		51		51		

Analyseprogrammet fanger

316 positive prøver
93,5 % (af 338)

192 positive prøver >= 0,1
97,5 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

Indikatorpakke 4

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	96,7 327		83,4 282		71,3 241		57,7 195		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM gruppe									
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	12	0	32	0	61	0	x
Dichlobenil	0	0	0	0	0	0	1	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	7	0	17	0	32	0	x
Desethylatrazin	0	0	5	0	9	0	20	0	x
Atrazin	0	0	4	0	10	0	18	0	x
Simazin	0	0	2	0	7	0	14	0	x
Desethylterbutylazin	0	0	2	0	8	0	10	0	x
Terbutylazin	0	0	2	0	6	0	8	0	x
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	0	0	4	0	6	0	8	0	x
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	1	0	2	0	2	0	2	0	
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	0	1	1	1	2	1	2	1	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	0	0	1	0	1	0	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	0	0	10	0	20	0	26	0	x
Glyphosat	3	0	5	0	10	0	15	0	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	3		59		83		102		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	4		6		55		82		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	2		3		5		55		
		1		1		1		1	
		1		1		1		1	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	64		56		52		52		

Analyseprogrammet fanger

327 positive prøver 96,7 % (af 338)
195 positive prøver >= 0,1 99,0 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

De 5 hyppigst forekommende

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	84,0		73,7		63,9		52,1		
	284		249		216		176		
	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
Detektions grænser	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM gruppe									
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	16	0	40	0	67	0	x
Dichlobenil	0	0	1	0	1	0	3	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	9	0	21	0	37	0	x
Desethylatrazin	0	0	7	0	11	0	23	0	x
Atrazin	0	0	7	0	13	0	22	0	x
Simazin	0	0	6	0	9	0	18	0	x
Desethylterbutylazin	5	0	8	0	9	0	13	0	
Terbutylazin	4	0	7	0	7	0	10	0	
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	5	1	7	1	7	1	9	1	
Isoproturon	0	0	2	0	2	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	8	2	9	3	12	4	12	4	
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	3	0	3	0	3	0	3	0	
MCPA	0	0	1	0	1	0	1	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	2	1	2	1	2	1	2	1	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	1	0	1	0	2	1	3	1	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	18	5	22	8	23	12	26	15	
Glyphosat	14	3	18	3	20	5	24	6	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	36		90		103		121		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	19		29		70		99		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	10		13		16		62		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		9		12		20		24	
>=1 µg/l		4		5		5		5	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	31		28		26		26		

Analyseprogrammet fanger

284 positive prøver
84,0 % (af 338)

176 positive prøver >= 0,1
89,3 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

BAM ,Triaziner samt Bentazon

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	88,8		77,2		66,9		53,3		
	300		261		226		180		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	14	0	35	0	65	0	x
Dichlobenil	0	0	1	0	1	0	3	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	8	0	20	0	37	0	x
Desethylatrazin	0	0	5	0	10	0	22	0	x
Atrazin	0	0	5	0	12	0	21	0	x
Simazin	0	0	4	0	9	0	18	0	x
Desethylterbutylazin	0	0	3	0	9	0	13	0	x
Terbutylazin	0	0	2	0	6	0	9	0	x
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	5	1	7	1	7	1	9	1	
Isoproturon	0	0	1	0	1	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	0	0	5	0	6	0	12	0	x
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	2	0	3	0	3	0	3	0	
MCPA	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	1	1	2	1	2	1	2	1	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	1	0	2	1	3	1	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	17	4	20	7	22	11	26	14	
Glyphosat	13	2	16	3	18	5	23	6	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	23		75		96		117		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	15		20		64		97		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	5		8		9		61		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		6		10		17		21	
>=1 µg/l		3		3		3		3	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	34		29		27		27		

Analyseprogrammet fanger

300 positive prøver
88,8 % (af 338)

180 positive prøver >= 0,1
91,4 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

BAM og Triaziner

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	86,1		75,1		63,9		52,1		
	291		254		216		176		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	16	0	40	0	67	0	x
Dichlobenil	0	0	1	0	1	0	3	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	0	0	8	0	21	0	37	0	x
Desethylatrazin	0	0	6	0	11	0	23	0	x
Atrazin	0	0	6	0	13	0	22	0	x
Simazin	0	0	4	0	9	0	18	0	x
Desethylterbutylazin	0	0	3	0	9	0	13	0	x
Terbutylazin	0	0	3	0	7	0	10	0	x
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	5	1	7	1	7	1	9	1	
Isoproturon	0	0	2	0	2	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	8	1	9	3	12	4	12	4	
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	0	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	0	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	0	
2,6-dichlorphenol	2	0	3	0	3	0	3	0	
MCPA	0	0	1	0	1	0	1	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	1	1	2	1	2	1	2	1	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	0	0	1	0	2	1	3	1	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	18	4	21	8	23	12	26	15	
Glyphosat	14	2	18	3	20	5	24	6	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	29		82		103		121		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	16		22		70		99		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	8		13		16		62		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		6		12		20		24	
>=1 µg/l		4		5		5		5	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	33		29		27		27		

Analyseprogrammet fanger

291 positive prøver
86,1 % (af 338)

176 positive prøver >= 0,1
89,3 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

BAM og Atrazin

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	74,9		66,9		58,6		50,0		
	253		226		198		169		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	18	0	42	0	70	0	x
Dichlobenil	0	0	1	0	1	0	3	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	22	1	28	1	34	3	38	6	
Desethylatrazin	6	1	13	1	17	2	25	3	
Atrazin	0	0	10	0	17	0	25	0	x
Simazin	10	1	14	1	18	1	20	4	
Desethylterbutylazin	8	0	10	0	11	0	13	0	
Terbutylazin	8	0	10	0	10	0	10	0	
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	8	1	8	1	9	1	11	2	
Isoproturon	1	0	2	0	2	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	8	2	10	3	12	4	12	5	
Dichlorprop	2	0	2	0	2	0	2	1	
2,4-dichlorphenol	0	0	0	0	0	0	1	1	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	1	
2,6-dichlorphenol	3	0	3	0	3	0	3	0	
MCPA	0	0	1	0	1	0	1	0	
2,4-D	0	0	0	0	0	0	0	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	2	1	2	1	2	1	2	2	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	2	0	
Nitro gruppe									
DNOC	2	0	3	0	3	1	3	1	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glyphosat gruppe									
AMPA	19	8	23	12	23	13	26	15	
Glyphosat	15	5	20	5	21	5	24	6	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	58		105		114		124		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	34		46		82		104		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	25		31		36		67		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		16		20		26		40	
>=1 µg/l		5		6		6		8	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	29		26		25		25		

Analyseprogrammet fanger

253 positive prøver
74,9 % (af 338)

169 positive prøver >= 0,1
85,8 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

BAM

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

	68,9		62,7		55,6		46,4		
	233		212		188		157		
Detektions grænser	<0,01 µg/l		<0,025 µg/l		<0,05 µg/l		<0,1 µg/l		
BAM gruppe	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	0	0	21	0	45	0	76	0	x
Dichlobenil	1	0	1	0	1	0	3	0	
Triazin gruppe									
Desisopropylatrazin	28	7	34	7	37	9	43	13	
Desethylatrazin	15	6	19	7	19	9	29	11	
Atrazin	14	6	17	7	18	9	25	12	
Simazin	16	2	19	2	19	4	22	7	
Desethylterbutylazin	13	0	14	0	14	0	18	0	
Terbutylazin	10	1	11	1	11	1	12	1	
Cyanazine	0	0	0	0	0	0	0	0	
Urea gruppe									
Diuron	9	4	9	4	9	5	11	6	
Isoproturon	1	0	2	0	2	0	2	0	
Phenoxy gruppe									
Bentazon	9	3	10	4	12	5	13	6	
Dichlorprop	2	1	2	1	2	1	2	2	
2,4-dichlorphenol	1	0	1	0	1	0	2	1	
Mechlorprop	1	0	1	0	1	0	1	1	
2,6-dichlorphenol	3	0	3	0	3	0	3	0	
MCPA	0	1	1	1	1	1	1	1	
2,4-D	1	0	1	0	2	0	2	0	
Keto gruppe									
Hexazinon	3	2	3	2	3	2	3	3	
Metamitron	1	0	2	0	2	0	3	0	
Nitro gruppe									
DNOC	2	0	3	0	3	1	3	1	
Dinoseb	1	1	1	1	1	1	1	1	
Pendimethalin	0	0	0	0	0	0	0	0	
Organophosphor gruppe									
Dimethoat	0	0	0	0	0	0	0	1	
Glyphosat gruppe									
AMPA	21	11	24	13	24	14	27	16	
Glyphosat	17	6	21	6	22	6	25	7	
Fordeling lav	Fordeling Høj								
>0 µg/l til <0,025 µg/l	85		116		118		132		
>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l	51		64		91		117		
>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l	33		40		43		78		
>=0,1 µg/l til <1 µg/l		44		48		60		77	
>=1 µg/l		7		8		8		13	
100 (de 24 pesticider)									
Prisindeks	28		26		24		24		

Analyseprogrammet fanger

233 positive prøver
68,9 % (af 338)

157 positive prøver >= 0,1
79,7 % (af 197)

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

Reference skema uden pesticider

Reduceret krav til analysekvalitet

% positive af max 338

antal positive prøver af de 649

0,0

0

Ingen analyser

BAM gruppe	Lav	Høj	*
BAM (2,6Dichlorbenzamid)	76	157	
Dichlobenil	18	7	
Triazin gruppe			
Desisopropylatrazin	102	36	
Desethylatrazin	76	39	
Atrazin	63	39	
Simazin	73	21	
Desethylterbutylazin	36	3	
Terbutylazin	22	4	
Cyanazine	0	0	
Urea gruppe			
Diuron	26	8	
Isoproturon	3	1	
Phenoxy gruppe			
Bentazon	21	13	
Dichlorprop	4	3	
2,4-dichlorphenol	5	1	
Mechlorprop	4	2	
2,6-dichlorphenol	4	0	
MCPA	2	1	
2,4-D	2	0	
Keto gruppe			
Hexazinon	6	7	
Metamitron	4	0	
Nitro gruppe			
DNOC	6	1	
Dinoseb	3	3	
Pendimethalin	1	0	
Organophosphor gruppe			
Dimethoat	0	1	
Glyphosat gruppe			
AMPA	45	23	
Glyphosat	37	9	

Fordeling lav Fordeling Høj

>0 µg/l til <0,025 µg/l

>=0,025 µg/l til <0,05 µg/l

>=0,05 µg/l til <0,1 µg/l

>=0,1 µg/l til <1 µg/l

>=1 µg/l

269	
210	
160	
	301
	78

100 (de 24 pesticider)

Prisindeks

0

Analyseprogrammet fanger

0 % af alle (338)
0 positive prøver

0 % af de (197)
0 positive prøver >= 0,1

* x = Analyseprogram

Lav = området 0.01 til 0.099 µg/l

Høj = området >= 0.1 µg/l

1 Immunkemiske metoder (teori)

Indhold

1.1	Introduktion	77
1.2	Fremstilling af antistof	78
1.3	ELISA	79
1.4	Fremgangsmåde i immunkemisk metode	80
1.5	Krydsreaktion	81
1.6	Standardkurve	82
1.7	Detektionsgrænsen og måleområde	83

1.1 Introduktion

Immunkemiske metoder har deres oprindelse i 1960, hvor Yalow og Berson som de første udviklede en metode til bestemmelse af Insulin i blod [15]. Siden er de immunkemiske metoder blevet en del af hverdagen indenfor klinisk kemi og anvendes blandt andet til bestemmelse af hormoner, virus og meget andet i blod og urin.

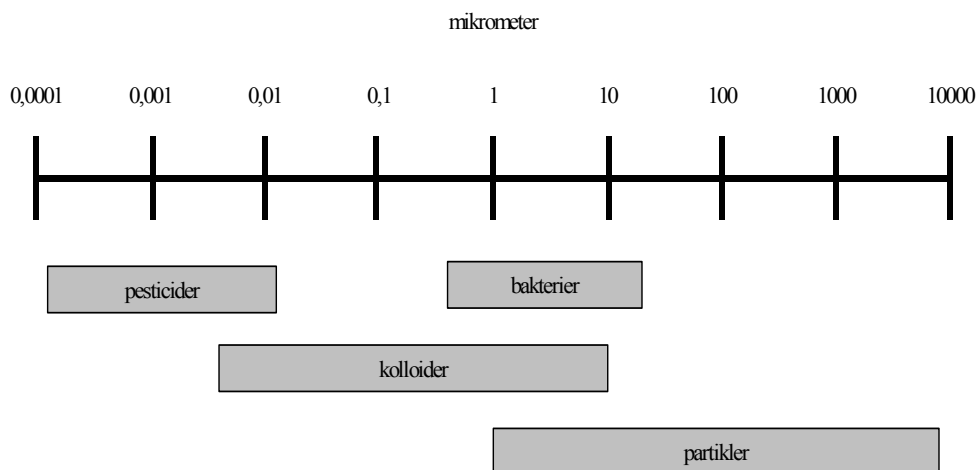
Immunkemiske metoder er blevet udbredte og populære, fordi de er billige, specifikke og simple at anvende. Udbredelsen er blevet så stor, at der i dag sælges immunkemiske kit på apoteket, hvor almindelige mennesker uden speciel baggrund, kan købe bl.a. graviditetstest, som de uden videre kan anvende hjemme på køkkenbordet.

I dag anvendes immunkemiske metoder ikke kun indenfor klinisk kemi, men også på en lang række andre felter såsom fødevarer og landbrug, hvor det blandt andet bruges til at afsløre genmodificerede afgrøder. Siden starten af 90'erne har immunkemiske metoder været brugt i forbindelse med miljøanalyser til bestemmelse af både PAH'er, PCB og pesticider.

Det grundlæggende princip i immunkemi er binding imellem antistof og antigen, hvor antistoffet kan være immobiliseret på en fast overflade, og koncentration i prøven afspejles i antal bindinger imellem antistof og antigen. Da selve bindingen ikke producerer noget signal, må der efterfølgende tilsættes en tracer, som kan bruges til at estimere antallet af bindinger. Traceren kan efterfølgende kvantificeres ved fluorescens, radioaktivitet eller enzymer/UV.

Når et fremmed legeme for eksempel influenza- eller forkølelsesvirus trænger ind i kroppen sætter det immunsystemet i gang med at producere antistof, som bindes til viruset og derved reducerer virus-aktiviteten eller gør det muligt at tilintetgøre den. Det er anslået, at dyr og mennesker kan producere omkring 100 millioner forskellige antistoffer. Det er denne mulighed for at skelne imellem millioner af molekyler, der gør antistof-antigen binding anvendelig til blandt andet miljøanalyser deriblandt pesticidanalyser.

Virus og makromolekyler såsom proteiner, polysaccharider og DNA, som kan trigge immunsystemet benævnes antigen. Pesticidmolekyler er almindeligvis så små, at selvom de bindes til antistoffer, kan de ikke forårsage en immunkemisk respons. Små molekyler, som trænger ind i legemet fjernes ikke af immunsystemet, men ved forskellige konjugationsreaktioner .



Figur 1. Relativ størrelsesforhold imellem pesticider og partikler. De fleste pesticider er i den lave ende af pesticidstørrelsen[17]

Et molekyle, som bindes til immunsystemets makromolekyler uden at forårsage en immunrespons, benævnes haptent.

Pesticidmolekylerne trigger kun immunsystemet, hvis de er bundet til et carrierprotein som et enzymkonjugat. Måden pesticidet er bundet til carrierproteinet samt antallet er vigtigt for dannelse af det rigtige antistof med den rette selektivitet og følsomhed. Carrierproteinet er almindeligvis globulin, serumalbumin eller større hemocyanin. For serumalbumin er det optimale antal 10-20 pesticider pr. carrierprotein og 800-1000 pesticider for de store hemocyanin. Bliver antallet for stort, skygger molekylerne for hinanden, og de aktive sider er derved ikke tilgængelige. En anden vigtig ting er måden pesticidmolekylet er bundet til carrierproteinet, idet antistoffet specificeres efter den del af molekylet, som er længst væk fra carrierproteinet. Der kan opnås bedre specifikation ved at indsætte en spacer imellem carrierproteinet og pesticidmolekylet, således at molekylet er mere tilgængeligt. Det er kompliceret at fremstille den rigtige spacerstørrelse og få vendt molekylet rigtigt med den bedste side udad. Der skal som regel prøves med mange forskellige kombinationer. Urenheder i stoffet, der bindes til carrierproteinet, kan forringe antistoffets specificitet og skal derfor helst undgås.

Enzymkonjugatet skal ligeledes bruges i selve den immunkemiske metode. Derfor skal enzymkonjugatet tjene to formål, at danne antistof med den rette specificitet og at kunne konkurrere med pesticidmolekylet om antistofpladserne i den immunkemiske metode.

1.2 Fremstilling af antistof

Antistof produceres ved, at et enzymkonjugat injiceres i for eksempel en mus. Efter et stykke tid begynder musen at danne antistof imod det pågældende enzymkonjugat. Antistofferne isoleres fra musens serum og vil bestå af forskellige antistoffer, alle rettet mod forskellige dele af enzymkonjugatet. Hver B-celle producerer kun et unikt antistof. Kommer antistoffet fra forskellige B-celler er der tale om polyklonalt antistof og antistof fra en B-celle er monoklonalt antistof.

Polyklonalt antistof er ikke særligt specifikt. Det varierer fra dyr til dyr, og produktionen stopper når dyret dør. Der kan derfor ikke garanteres for ensartet produkt i længden.

Ønskes et mere specifikt og ensartet antistof, skal der anvendes monoklonalt antistof. Til isolering og udvælgelse af den B-celle, som producerer antistof med de ønskede egenskaber, behøves en mere sofistikeret teknik.

Efter cirka 30 dage fjernes milten fra den injicerede mus og B-cellerne isoleres. B-cellerne kan ikke gro i almindelig cellekultur, da de har en indbygget selvdestruktion, der bevirker, at de går til grunde efter et stykke tid. For at bevare B-cellerne og deres produktion af antistof klones de med kræftceller (myeloma celler), og kan efterfølgende isoleres i hver sin microtiterbrønd. Herefter undersøges antistofferne for deres specifikation, og den med de rette egenskaber udvælges, og B-cellerne kan efterfølgende opformeres og anvendes til produktion af det udvalgte antistof. De klonede B-celler kan nedfryses og anvendes på et senere tidspunkt. Fordelen ved monoklonalt antistof er, at der kan etableres en konstant produktion af ensartet antistof, og det er i princippet mere specifikt end polyklonalt antistof.

1.3 ELISA

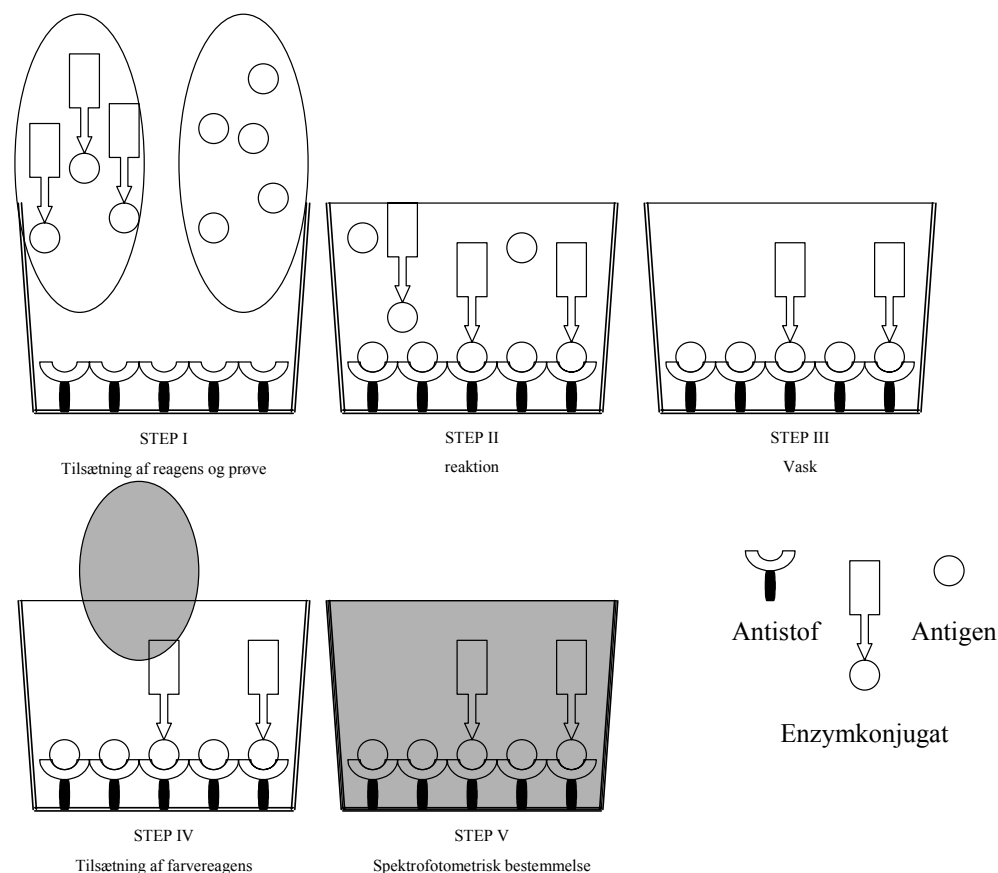
Som tidligere nævnt (se 1.1) giver bindingen imellem antistof og antigen ikke i sig selv noget analytisk signal, men der skal benyttes en tracer, der kan give et signal, som kan henføres til antal bindinger imellem antigen og antistof. Signalet kan være fluorescens, chemiluminescens, enzymaktivitet eller radioaktivitet.

Indenfor miljøanalyser er det specielt enzymaktivitet, der benyttes, også kaldet ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Princippet er, at et enzym bindes kovalent til enten antistof eller antigen som et enzymkonjugat uden at ændre på stofferne. Efter reaktion imellem antigen og antistof kan der tilsættes et substrat, som spaltes eller bindes til enzymet og giver en farverekation, der kan måles. Der findes forskellige principper indenfor ELISA metoderne. Der kan være tale om direkte- eller indirekte-ELISA, som igen kan inddeles i kompetitiv eller non-kompetitiv type.

I direkte-ELISA er antistoffet fastgjort, mens det er antigenet i indirekte-ELISA. I den kompetitiv type tilsættes der sammen med prøven enten enzytbundet antistof eller enzytbundet antigen, mens det kun er prøven i non-kompetitiv typen. Der kan således være tale om direkte kompetitiv ELISA, indirekte kompetitiv ELISA eller direkte non-kompetitiv ELISA og indirekte non-kompetitiv ELISA.

I de kommercielle pesticid kit benyttes udelukkende den direkte kompetitiv ELISA[15], hvor en begrænset mængde antistoffet er fastgjort til en overflade, se figur 2. Samtidig med prøven tilsættes en kendt mængde enzymkonjugat, som konkurrerer med pesticidet fra prøven, om de begrænsede pladser på antistoffet. Efter et separationsstep, hvor overskydende enzymkonjugat og prøve fjernes, måles koncentrationen ved, som tidligere omtalt at tilsætte et substrat, der spaltes eller bindes til enzymkonjugatet og herved danner en farve, som kan måles spektrofotometrisk. Farveudviklingen er direkte proportional med mængden af enzymkonjugat bundet til antistoffet og derved omvendt proportional

med pesticidkoncentrationen i prøven. Det vil sige, at høj pesticidkoncentration i prøven giver svag farve, mens lav koncentration giver meget farve.



Figur 2. Princippet i den mest almindelige ELISA-metode, direkte kompetitiv ELISA.

1.4 Fremgangsmåde i immunkemisk metode

To forskellige type af kit er tilgængelige og varierer kun i måden antistoffet er fastgjort på. I den ene type er antistof fæstet i rør eller microtiterplader. I den anden type er antistoffet bundet til 1 μm store magnetiske partikler. Til den første type tilsættes prøven, typisk 100-200 μl og en kendt mængde enzymkonjugat. I den anden type tilsættes i et rør en kendt mængde magnetisk antistof sammen med prøven og enzymkonjugat. Efter en reaktionstid på 10-60 minutter, hvor stoffet i prøven konkurrerer mod enzymkonjugatet om de begrænsede antistofpladser, vaskes den overskydende prøve og enzymkonjugat bort. For de magnetiske partikler dog først efter, at røret er placeret i et magnetisk felt, som suger partiklerne fast til siderne. Herefter tilsættes et chromogen, der reagerer med det bundne enzymkonjugat. Efter en tid stoppes reaktionen, og farven måles med et spektrofotometer eller en pladelæser.

Farveintensiteten er omvendt proportional med pesticidkoncentrationen i prøven.

Da farven er i det synlige område, kan de immunkemiske kit udover kvantitativ bestemmelse, anvendes til simpel visuel kvalitativ eller semi-kvantitativ afgørelse.

I en kvalitativ afgørelse sammenlignes farven fra den ukendte prøve med en blindprøve. Er farven mere svag end blindprøven, er der pesticid i prøven. I den semi-kvantitative bestemmelse afgøres om farveudviklingen er mere eller mindre intens end en standard på bestemt niveau. Indholdet vil så enten være over eller under standardens niveau.

Der er flere grundlæggende begreber, som går igen i beskrivelser af de immunkemiske kit, og derfor kræver det en nærmere beskrivelse af krydsreaktion, standardkurve, detektionsgrænse og måleområde.

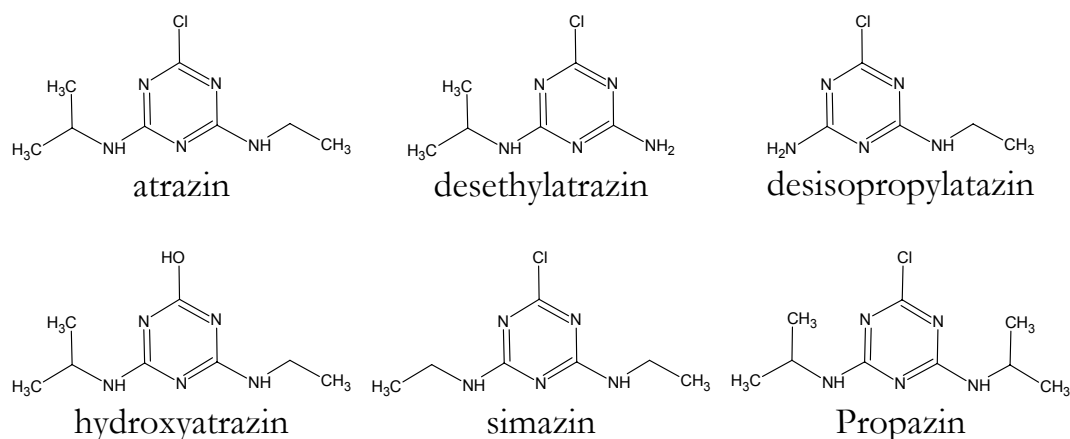
1.5 Krydsreaktion

Krydsreaktion er antistoffets affinitet for andre molekyler, end det antistoffet er beregnet til. Dette kan sammenlignes med interferens i almindelige kemiske analyser. Andre stoffer reagerer med antistoffet, fordi de har næsten samme opbygning og tredimensionelle struktur, se figur 3. For at forebygge krydsreaktion skal antistoffet være meget specifikt, hvilket almindeligvis ikke er praktisk og økonomisk muligt.

Krydsreaktiviteten er ofte angivet som IC_{50} , hvilket er den koncentration af stof, der skal til for at halvere signalet 50%B/B₀ i forhold til maksimal signal 100%B/B₀. Der kan ligeledes være angivet en detektionsgrænse for den pågældende krydsreaktant.

Med disse værdier for krydsreaktiviteten kan det vurderes, hvilken betydning andre stoffer i prøven vil få på det forventede resultat eller, om der er andre kommercielle kit, der måske er bedre egnede til opgaven. På grund af krydsreaktioner vil resultatet fra en immunkemisk metode være sammensat af bidrag fra analyten plus alle krydsreaktanter, der er i den ukendte prøve.

En lav detektionsgrænse for en krydsreaktant indikerer, at det immunkemiske kit er meget følsomt over for netop dette stof. En lav detektionsgrænse kombineret med en relativt høj IC_{50} værdi antyder, at standardkurven for den pågældende krydsreaktant har en anden hældning end for analyten. En koncentration af analyten og krydsreaktant nær detektionsgrænsen vil en sådan krydsreaktant give væsentligt bidrag til resultatet. Ved højere koncentration af analyten og krydsreaktanten vil den få mindre betydning for resultatet.

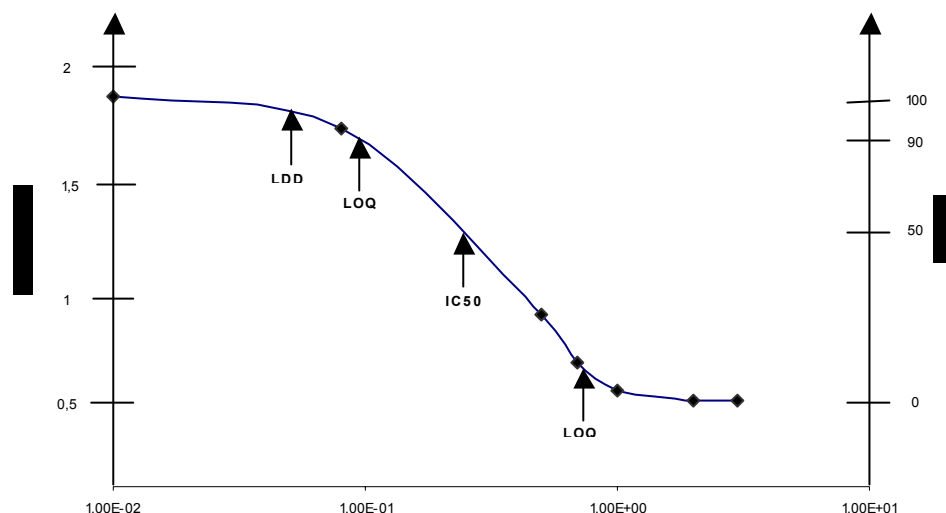


Figur 3. Strukturen af atrazin, samt metaboliter og nærtbeslægtede stoffer.

1.6 Standardkurve

I de immunkemiske pesticid kit er signalet omvendt proportional med koncentrationen i prøven.

En typisk standardkurve, hvor logaritmen til koncentration (x-aksen) plottes mod signalet/absorbansen (y-aksen), vil have et sigmoidal-form, se figur 4, med et lineært område omkring IC_{50} (koncentrationen, hvor halvdelen af antistoffet er mættet med prøve).



Figur 4. Typisk sigmoidal standardkurve. LDD er detektionsgrænsen, IC_{50} er koncentrationen, hvor halvdelen af antistoffet er besat med prøve, LOQ er øvre og nedre grænse for kvantifikation.

For at sammenligne kurveforløbet normaliseres signalet typisk til $\%B/B_0$ efter følgende formel.

$$\frac{\%B}{B_0} = \frac{A - A_{\text{overskud}}}{A_0 - A_{\text{overskud}}} \times 100$$

hvor A er absorbansen for standarden, A_0 er absorbansen for blindprøven og A_{overskud} er absorbansen for en standard med stort overskud af stof. En øvet tekniker kan på kurveforløbet hurtigt afgøre, om der eventuelt er noget galt.

For at finde koncentrationen i en ukendt prøve skal standardkurven transformeres til en ligning.

Der er foreslået mange forskellige måder at transformere kurven til en ligning. Den mest brugte er anvendelse af det normaliserede respons til lineært fit efter følgende:

$$\log \frac{\%B}{B_0} = \ln \frac{A - A_{\text{overskud}}}{A_0 - A_{\text{overskud}}} \times 100$$

De fleste pladelæsere har indbygget kurvefitingsprogram, der hurtig transformerer de målte standarder til en lineær standardkurve og regner koncentration i prøverne.

1.7 Detektionsgrænsen og måleområde

Følsomheden for en immunkemisk metode angives ligesom konventionelle analytiske metoder ved en detektionsgrænsen LDD (least detectable dose) og en kvantificeringsgrænse LOQ (limit of quantification).

Detektionsgrænsen angives som den mindste koncentration, der giver et signal, som kan adskilles fra nul med en hvis sikkerhed. Den beregnes enten som den koncentration, der mætter 10% af antistoffet ($\%B/B_0 = 90\%$), se figur 4, eller som 3 gange standardafvigelsen fra gentagne målinger af en blindprøve.

Kvantificeringsgrænsen LOQ er niveauet, hvor resultatet kan angives med en vis præcision eller sikkerhed. Denne grænse sættes skønsomt til den lineære del af standardkurven. Da det lineære område typisk starter omkring $\%B/B_0 = 90\%$, vil LOQ og LDD have samme værdi. Dog kun hvor detektionsgrænsen angives som $\%B/B_0 = 90\%$.