SJAAK DE KONING*, RALF LÖSCHER* UND PETER HORST TABLACK**

Pestizidanalytik in Trauben mit LV-DTD/DMI-GC/TOF-MS

Mit einem automatisierten Large-Volume-Difficult-Matrix-Injektionssystem in Kombination mit GC/Time-of-Flight-Massenspektrometrie lässt sich beim Screening von Pestizidrückständen in Lebensmitteln der Probenvorbereitungsaufwand erheblich reduzieren.

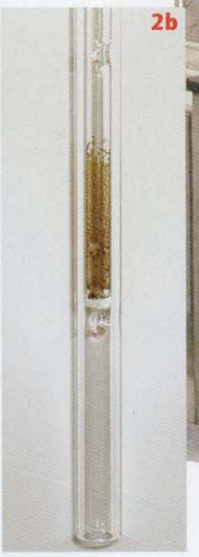
1 Eine Systemkombination zur Pestizidanalytik: Leco Pegasus III GC/TOF-MS, Agilent GC6890N, Atas Focus xyz Autosampler und Atas Optik Multiinjektor mit DTD-Injektorkopf

Die Routineanalytik von Nahrungsmitteln auf Rückstände von Pestiziden mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS) stellt hohe Ansprüche an die verwendeten Analysengeräte. Neben der Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Analysenergebnisse ist heutzutage die betriebswirtschaftliche Effizienz der Analysenmethode von wachsender Bedeutung. Wegen der typischerweise schwierigen und komplexen Matrix von Lebensmittelproben sind zeit- und kostenaufwändige Probenvorbereitungschritte erforderlich, um vor der eigentlichen Analyse störende Komponenten zu entfernen.

Um die Effizienz einer Analysenmethode im Bereich der Pestizid-Rückstandsanalytik von Lebensmittelproben mit GC/MS zu steigern, bedarf es eines Probenaufgabesystems, das robust genug ist, Proben, die mit geringerem oder gar keinem Probenaufreinigungsaufwand vorbereitet wurden, zu injizieren. Des weiteren ist ein Massenspektrometer gefragt, das in der Lage ist, die Rückstandsanalyten in komplexen Matrices zu identifizieren und mit den erforderlichen Nachweisgrenzen zu quantifizieren.

Erste Ansätze

In Arbeiten von Amirav [1] und Lehotay [2] wurde beschrieben, dass die Verwendung eines Microvials bei der GC-Injektion eine gute Möglichkeit darstellt, Proben mit einer komplexen Matrix zu injizieren. Von De Koning et al. [3] wurde eine Methode vorgestellt, die einen automatischen Linerwechsel bei der GC-Injektion ermöglicht. Der Liner ist dabei so dimensioniert, dass er ein MPI-µ-Vial aufnehmen kann. Als Analysator stellt ein Time-of-Flight Massenspekrometer eine elegante und zuverlässige Möglichkeit dar, Rückstandsanalyten in komplexen Proben zu identifizieren und zu quantifizieren. Für die Identifikation werden dabei die vollen Massenspektren herangezogen. Durch Verwendung integrierter Dekonvolutionsalgorithmen stellt auch die Auflösung der in komplexen Matrices häufig vorkommenden Koelutionen kein grundsätzliches Problem dar.



2a Gefritteter DTD-Liner mit magnetischer Verschlusskappe und Mikro-Vial

2b DTD-Liner mit Mikro-Vial nach Gebrauch

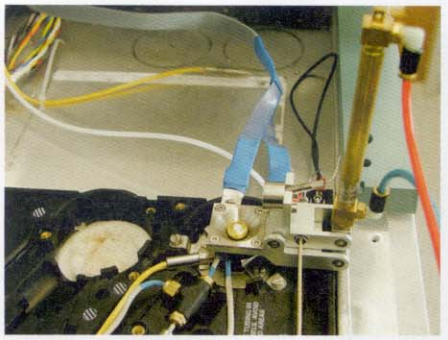
In diesem Artikel wird die Kombination eines hochentwickelten, automatisierten Injektionssystems mit einem Time-of-Flight-Massenspektrometer für die Pestizid-Rückstandsanalytik in einer Traubenmatrix vorgestellt. Die Linearität und die Reproduzierbarkeit der Methode wurde mit einer dotierten Traubenmatrix-Probe überprüft.

Material und Methoden

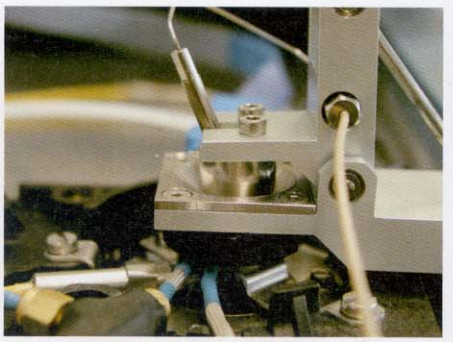
Die verwendete Systemkombination basiert auf einem Leco Pegasus III GC/TOF-MS. Als Gaschromatograph wurde ein Agilent 6890N verwendet, der mit einem Atas Optic 3 Multi-Injektor, einer Einheit zur direkten thermischen Desorption (Atas DTD/DMI-Probeneinlasssystem), und einem Atas Focus XYZ Probenvorbereitungs- und Automatisierungssystem ausgerüstet war (Abb. 1 und 3).

Die Proben werden in Standard-Vials auf dem Autosampler-Rack positioniert.

*S. de Koning, R. Löscher, Leco Instrumente GmbH, 41199 Mönchengladbach
**P. H. Tablack, Atas Deutschland GmbH, 99441 Magdala



3a DTD-Kopf offen



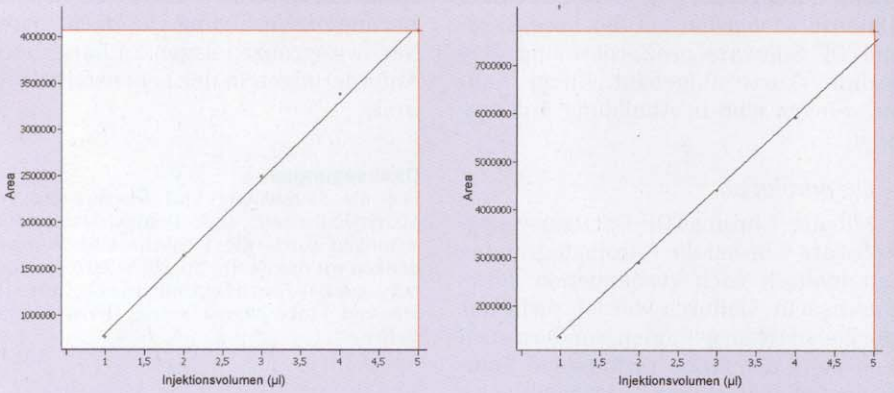
3b DTD-Kopf geschlossen

Vorbereitete DTD-Liner mit MPI-µ-Vials befinden sich auf einem weiteren speziellen Rack des Autosamplers (Abb. 2 und 7). Der Atas Focus Autosampler transferiert ein Aliquot der Probe in das MPI-µ-vial eines DTD-Liners. Dieser beladene Liner wird anschließend vom Roboterarm des Focus in den Injektorkörper gesetzt. Der Injektorkopf wird dabei automatisch geöffnet und geschlossen. Die verwendete Injektionstechnik wird im Folgenden als LV-DTD/DMI (Large-Volume-Direct-Thermo-Desorption/Difficult-Matrix-Introduction) bezeichnet. Als Kapillar-GC-Säule wurde eine VF-5 MS 25m x 0,25mm x 0,25µm von Varian verwendet. Die Referenzmaterialien und Proben stellte das Hamburger Labor Dr. Specht & Partner zur Verfügung.

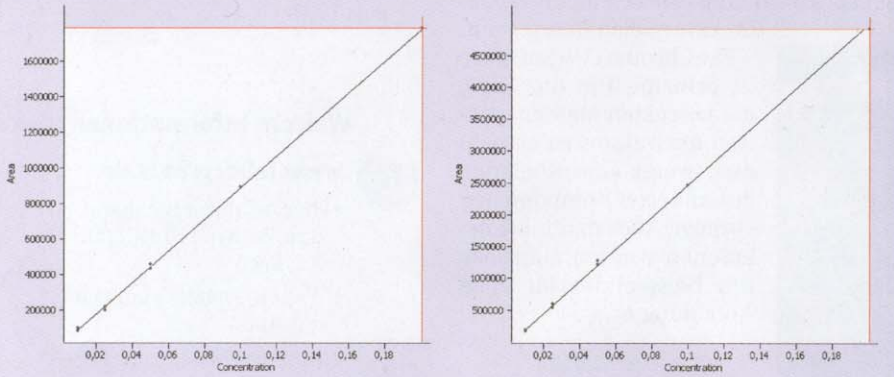
Ergebnisse

Linearität der Injektion

In einer Serie von Injektionen wurde die Linearität der Injektion bezogen auf das Injektionsvolumen getestet. Hierzu



4 Linearität der Injektion:
Ein Pestizid-Mix wurde im LV-DTD-Modus mit einem Injektionsvolumen von 1, 2, 3, 4 und 5 µl injiziert. Am Beispiel von Chlormephos (links) und Quinalphos (rechts) wird gezeigt, dass die Response über den gesamten Injektionsbereich linear ist.



5 Matrixkalibrierung:
Eine Traubenmatrix mit einer Matrixkonzentration von 4,68 mg/ml wurde mit einem Pestizid-Mix auf verschiedenen Konzentrationsleveln gespiket. Die Endkonzentrationen waren 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 und 0,2 µg/ml. Am Beispiel von Vinclozolin (links) und Oxadiazon (rechts) ist die Linearität der Kalibrierung über den gesamten Kalibrationsbereich gezeigt.

HTS mit ELSD

Die HPLC wird für das Reinheits-Screening großer Probenmengen eingesetzt. Dabei werden zur Maximierung des Durchsatzes hohe Flussraten und steile Gradienten angewandt. Der PL-ELS 1000 Verdampfungs-Lichtstreu-Detektor von Polymer Laboratories ist der ideale Detektor für schnelle Gradienten mit unübertroffener Basislinienstabilität, wodurch die Detektion von Komponenten im Spurenbereich möglich ist.

Vorteile des PL-ELS 1000:
- ausgezeichnete Basislinienstabilität
- hohe Empfindlichkeit
- ideal für HPLC, µHPLC, LC/MS
- 24 Stunden-Betrieb
- PC-Kontrolle
- keine UV-Chromophore erforderlich

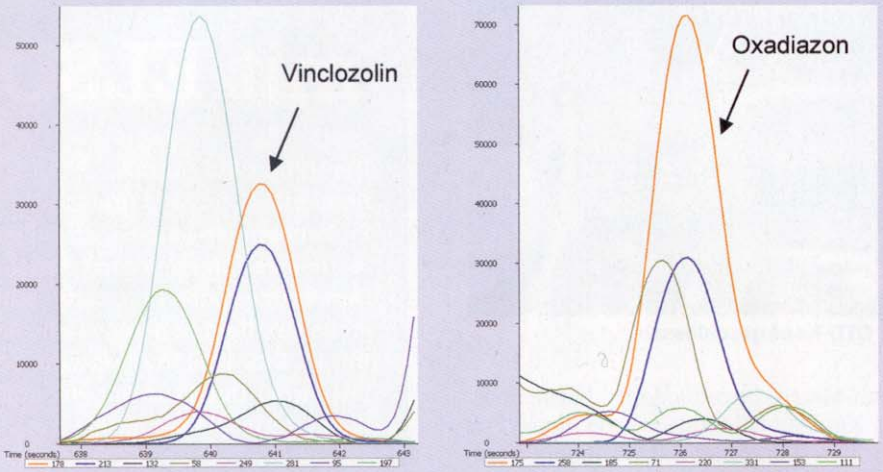
Für weitere Informationen besuchen Sie uns im Internet, www.polymerlabs.com/elsd

Polymer Laboratories GmbH
PEKA Park T5, Otto-Hesse-Straße 19
D-64293 Darmstadt
Tel: 06151 860690
Fax: 06151 860670
Email: PLDeutsch@polymerlabs.com

Polymer Laboratories

www.polymerlabs.com/elsd

▲ Weitere Informationen über Kennziffer 45



6 Koelutionen mit Zielanalyten:
Am Beispiel von Vinclozolin und Oxadiazon wird gezeigt, dass zwischen den Zielanalyten und Matrixkomponenten multiple Koelutionen auftreten, die durch Dekonvolutionsalgorithmen aufgelöst werden. In orange ist der Graph der Quantifizierungsmasse dargestellt, in dunkelblau die Unique-Mass. In anderen Farben sind die Graphen der koeluierenden Komponenten dargestellt. (n=10; RSD (Area) = 2,4 % für Vinclozoline; RSD (Area) = 3,4 % für Oxadiazon)

wurde ein Pestizid-Mix (je ca. 0,4 ng/µl) in Ethylacetat mit einem Volumen von 1, 2, 3, 4 bzw. 5 µl injiziert. Die Wiederfindung war über den gesamten Volumenbereich linear (Abb. 4), so dass für die nachfolgenden Experimente mit einem Injektionsvolumen von 5 µl gearbeitet wurde, um eine hohe Nachweisempfindlichkeit zu erzielen.

Matrixkalibrierung

Matrixstandards wurden auf der Basis einer pestizidfreien Traubenmatrix hergestellt, die mit einem Pestizid-Mix auf unterschiedliche Konzentrationen von 0,01, 0,025, 0,05, 0,1 und 0,2 µg/ml dotiert wurde. Die Extraktkonzentration in den Proben lag bei 4,68 mg/ml. Die eingestellten Konzentrationen entsprechen Gehalten von ca. 2 bis 40 ppb, was im unteren Konzentrationsbereich der Diät-VO bezüglich Babynahrungsmitteln (10 ppb) entspricht. Von jedem Dotierungsniveau wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die resultierenden Datensätze wurden mit der Leco ChromaTOF Software prozessiert und eine Kalibrierkurve aufgebaut. Einige Kalibrierungen sind in Abbildung 5 dargestellt.

Dekonvolution

Mit der ChromaTOF-Datenauswerte-Software wurden die Chromatogramme automatisch nach vorhandenen Peaks durchsucht. Dadurch werden nicht nur die Zielanalyten gefunden, sondern auch andere in der Probe vorhandene Komponenten detektiert, beispielsweise Komponenten der Matrix. Über spezielle Dekonvolutionsalgorithmen werden die Massenspektren aller gefundenen Peaks errechnet (dekonvolutierte Massenspektren) und diese einem Bibliotheksvergleich unterzogen.

Die ChromaTOF Software ist prinzipiell in der Lage, die korrekten Massenspektren auch dann zu errechnen, wenn eine Koelution mit anderen Komponenten vorliegt. Auch multiple Koelutionen werden aufgelöst. Ein Beispiel hierfür zeigt Abbildung 6.

7 Racks für Probenfläschchen und DTD-Liner

Reproduzierbarkeit

Von größtem Interesse ist die Reproduzierbarkeit eines komplexen Injektionsvorganges wie der LV-DTD/DMI Injektion. Um die Reproduzierbarkeit der Analysenmethode zu überprüfen, wurde Traubenmatrix mit einer Pestizidmischung auf eine Konzentration von 0,05 µg/ml dotiert. Zehn Wiederholungsinjektionen über LV-DTD/DMI-Injektion wurden durchgeführt und die Datensätze über die ChromaTOF Software unter Verwendung der oben genannten Matrixkalibrierung ausgewertet. Mittelwerte und Standardabweichungen der Retentionszeit und der ermittelten Flächenwerte der einzelnen Pestizide wurden ermittelt (s. Bildunterschrift Abb.6).

Fazit

Die Verwendung eines voll automatisierten LV-DTD/DMI-GC/TOF-MS-Systems für das Screening von Pestizidrückständen in Lebensmitteln stellt eine alternative, interessante und zukunftsweisende Technik zu den gängigen Routinemethoden im Bereich der Pestizid-Rückstandsanalytik dar. Die gezeigten Resultate deuten darauf hin, dass sich mit einer derartigen Technik der Probenvorbereitungsaufwand deutlich reduzieren lässt. Dabei steht stets die Vollspektrum-Information für die Identifizierung zur Verfügung. Die erreichbaren Nachweisgrenzen liegen im Bereich der Anforderungen in der Lebensmittelkontrolle.

Danksagungen
Für die Herstellung und Überlassung von Matrix-Extrakten und Pestizid-Standardmischungen sowie die fachliche Unterstützung danken wir der Fa. Dr. Specht & Partner, Hamburg, speziell Herrn Dr. Günter Lach, Herrn Dr. Manfred Linkerhägner sowie Herrn Markus Oeffen.

Literatur

[1] Amirav, A., Dagan, S. Eur. Mass. Spectrom. 1997, 3, 105
[2] Lehotay, S.J. J. AOAC Int. 2000, 3, 83
[3] De Koning, J.A.; Blokker, P.; Jüngel, P.; Alkema, G.; Brinkman, U.A.Th. Chromatographia 2002, 56, 185

Weitere Informationen über:
www.laborpraxis.de
- Hier erfahren Sie mehr zum Pegasus III GC/TOF-MS von Leco
- Weitere Details zum Optic 3 von Atas
- Weitere Details zum Focus von Atas
- Zahlreiche Applikationen mit GC/TOF-MS zum Download

Kennziffer: 302