

# Schnelle und robuste GC/MS/MS-Analyse von 203 Pestiziden in Spinat in 10 Minuten



## Autoren

Anastasia A. Andrianova,  
Bruce D. Quimby  
und Limian Zhao  
Agilent Technologies, Inc.

## Zusammenfassung

In dieser Application Note werden zwei GC/MS/MS-Methodenansätze für eine robuste Multirückstand-Pestizidanalyse von frischen Spinatproben in 10 Minuten beschrieben. Obwohl diese Proben eine sehr schwierige Matrix mit hohem Chlorophyllgehalt besitzen, war die chromatographische Auflösung hoch genug, um über 200 Pestizide nachzuweisen. Beim ersten Ansatz wurde eine herkömmliche Konfiguration von 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25 µm) mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung und einer beschleunigten Steigung der Ofentemperatur verwendet, die eine Analysendauer von 10 Minuten ergab. Bei dem zweiten Ansatz wurde eine Minibore 10 x 10 m-Konfiguration (0,18 mm x 0,18 µm) mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung verwendet, die eine schnelle 10-minütige Analysendauer ermöglichte. Die zweite Methode wurde mit dem Agilent Verfahren zur Übertragung von GC-Methoden genau skaliert. Backflush in der Mitte der Säulenordnung fördert nachweislich die Robustheit der Methode und verlängert den wartungsfreien Betrieb, da das Kürzen von Säulen und die Reinigung der Ionenquelle auf ein Minimum begrenzt werden.

Die Ergebnisse belegen, dass die Agilent 7000E und 7010C Triple Quadrupol GC/MS-Systeme über einen Konzentrationsbereich von 0,1 bis 1000 ppb (*parts per billion*, Teilen pro Milliarde) eine hervorragende Linearität ermöglichen. Die Robustheit der Methoden wurde durch 700 aufeinanderfolgende Injektionen eines Spinatextrakts mit 20 ppb zugesetzten Pestiziden untersucht. Dies entspricht 175 Stunden eines kontinuierlichen Betriebs des GC/TQ-Systems.

## Einleitung

Der Bedarf nach schnelleren Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung von Chemikalienrückständen im Rahmen der Lebensmittelanalytik wächst. Einbußen bei der Methodenrobustheit oder der chromatographischen Leistungsfähigkeit sind dabei nicht erwünscht. Herkömmliche Methoden zur Multirückstand-Pestizidanalyse dauern gewöhnlich mindestens 20 Minuten, was längere Proben-Zykluszeiten bedeutet. Die GC/MS-Analyse einer Probencharge kann daher mehrere Tage dauern. Dies führt zu einem Engpass bei der Probenanalyse und begrenzt die Laborproduktivität. Aus diesem Grund führt eine Beschleunigung der GC/MS-Analyse zweifellos zu einem gesteigerten Analysendurchsatz und letztendlich zu einer höheren Laborproduktivität. Verkürzte GC-Methoden sind jedoch gewöhnlich mit Kompromissen bei der Methodenrobustheit bzw. -leistung verbunden. Diese Application Note konzentriert sich auf zwei schnelle GC/MS/MS-Methoden für (a) ein **Agilent 8890 GC und 7000E** Triple Quadrupol GC/MS-System und (b) ein **Agilent 8890 GC und 7010C** Triple Quadrupol GC/MS-System. Die vorgestellten Methoden sorgen für eine verkürzte Analysendauer von 10 Minuten bei gleichbleibender Robustheit der Systemleistung ohne Verluste bei der Empfindlichkeit oder Methodenleistung.

Die beiden in dieser Application Note beschriebenen GC/TQ-Systemkonfigurationen mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung sorgen für eine Analysendauer von 10 Minuten, wobei eine ausreichende chromatographische Auflösung und MS-Selektivität für 203 Verbindungen erreicht wird. Als Vergleichsmaßstab für die optimierten, schnellen Analysen diente eine herkömmliche 20-minütige GC/MS/MS-Methode mit Retention Time Locking zu der Agilent MassHunter MRM-Datenbank für Pestizide und Umweltschadstoffe (P&EP MRM-Datenbank).

Beim ersten Ansatz wurde eine herkömmliche Konfiguration von 15 x 15 m (0,25 mm x 0,25 µm) mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung und einer beschleunigten Steigung der Ofentemperatur verwendet, die eine Analysendauer von

10 Minuten ergab. Für diese Konfiguration war keine Änderung von Gerätekomponenten notwendig. Bei dem zweiten Ansatz wurde eine Minibore 10 x 10 m-Konfiguration (0,18 mm x 0,18 µm) mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung verwendet, die eine 10-minütige Analysendauer ermöglichte. Für diese Konfiguration waren gegenüber der herkömmlichen 15 x 15 m-Konfiguration ein neuer Säulensatz und ein GC-Ofen-Einsatz (ein Kissen) erforderlich. Die zweite Konfiguration ermöglichte jedoch eine genauere Vorhersage der Retentionszeiten, und die Reihenfolge aller getesteten Verbindungen blieb erhalten.

Bei beiden schnellen Methoden konnten die Retentionszeiten auf Grundlage der Retentionszeiten in der MRM-Datenbank für Pestizide und Umweltschadstoffe genau vorhergesagt werden.<sup>1</sup> Dank des Verfahrens für die Übertragung von GC-Methoden und der Aufrechterhaltung des gleichen Säulen-Phasen-Verhältnisses konnten die Retentionszeiten der 203 analysierten Pestizide in der 10 x 10 m-Konfiguration genau vorhergesagt und die Elutionsreihenfolge beibehalten werden. Um die Retentionszeiten für die 10-Minuten-Methode mit der herkömmlichen 15 x 15 m-Konfiguration zu aktualisieren, wurde eine Kombination von Pestiziden und n-Alkanen verwendet.

Backflush in der Mitte der Säulenordnung verbesserte bei beiden Säulenkonfigurationen die Robustheit der Methode durch Senkung der Häufigkeit der Wartung (beispielsweise Kürzen des Säulenkopfs und Reinigung der Ionenquelle). Im Vergleich zu einer herkömmlichen Konfiguration, bei der eine Säule den Einlass direkt mit dem Massenspektrometer verbindet, erlaubt ein Multimode-Einlass (MMI) mit Temperaturprogrammierung außerdem die sehr viel schnellere Durchführung von Wartungsmaßnahmen am Einlass wie Liner-Wechseln, da die MS-Quelle und die Übertragungsleitung nicht gekühlt werden müssen.

Die entwickelten Methoden eignen sich für die Analyse der verschiedensten Pestizide in Spinat. Dabei werden die unterschiedlichsten Rückstandhöchstgehalte (MRL, Maximum Residue Limits) der Pestizide abgedeckt und ausgezeichnete Kalibrierungsergebnisse über einen dynamischen Bereich von 0,1 bis 1000 ppb erzielt.

Um die Robustheit der Methode zu bewerten, wurde Spinatextrakt mit niedrig konzentrierten Pestiziden versetzt und 700 dieser Proben nacheinander injiziert. Über dieser 700 Injektionen lag die relative Standardabweichung (RSD) der Signale vieler schwieriger Analyten unter 15 %. Im Laufe des Tests musste die Säule nicht gekürzt, die Quelle nicht gereinigt und kein MS-Tuning durchgeführt werden. Die Wartung war auf einen Liner- und Septum-Wechsel nach jeweils 100 Injektionen beschränkt.

## Experimentelles

### GC/TQ-Analyse

Die beiden Säulenkonfigurationen mit den 8890/7000E bzw. 8890/7010C GC/TQ-Systemen sind in Abbildung 1 dargestellt. Die Konfiguration des GC-Teils umfasste: a) einen Agilent 7693A automatischen Flüssigprobengeber (ALS) und Probensteller mit 150 Positionen, b) einen MMI im Temperaturprogramm-Modus mit Splitless-Injektion (cold splitless), c) eine Agilent Purged Ultimate Union (PUU), installiert zwischen zwei identischen 15-m- oder 10-m-Säulen für Backflush in der Mitte der Säulenordnung und c) die 8890 GC Pneumatikschalteinheit (PSD). Die Bedienparameter des Geräts sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Die Daten wurden im dynamischen MRM (dMRM)-Modus erfasst. Dieser ermöglicht umfangreiche Multi-Analyt-Analysen und die genaue Quantifizierung von schmalen Peaks auf Grundlage der automatisierten und effizientesten Verteilung der Verweilzeiten.

Die dMRM-Funktion ermöglichte die erfolgreiche Analyse eines großen Panels mit 203 Pestiziden und 614 MRM-Übergängen insgesamt. Bei der herkömmlichen 15 x 15 m-Konfiguration lag die maximale Anzahl der gleichzeitigen MRM-Übergänge im Rahmen einer 20-Minuten-Analyse bei 52. Bei der 10-Minuten-Analyse lag diese maximale Anzahl der gleichzeitigen MRM-Übergänge bei der herkömmlichen 15 x 15 m-Konfiguration bei 127 und bei der Minibore 10 x 10 m-Konfiguration bei 83 (Abbildung 2). Darüber hinaus erlaubt dMRM Analytikern, zusätzliche Analyten einfach hinzuzufügen und zu entfernen. Durch die Verwendung der MRM-Datenbank für Pestizide und

Umweltschadstoffe konnte die Einrichtung einer gezielten dMRM-Methode vereinfacht und beschleunigt werden.

In dieser Arbeit wurden die Agilent MassHunter Workstation (Versionen 10.1 und 10.2, einschließlich MassHunter Acquisition Software für GC/MS-Systeme 10.2) und die Pakete MassHunter Quantitative Analysesoftware 10.1 und MassHunter Qualitative Analysesoftware 10 verwendet.

Die Kalibrierungsergebnisse wurden mithilfe einer Serie matrixangepasster Kalibrierstandards bewertet. Die Konzentrationen der Standards lagen im Bereich 0,1 bis 1000 ppb und betragen 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 250; 500 und 1000 ppb (w/v). Zur Herstellung von matrixangepassten Kalibrierstandards diente das GC-Multirückstands-Pestizidkit mit 203 Verbindungen (Restek, Bellefonte, PA, USA), die den Bestimmungen der FDA, USDA und anderer Behörden weltweit unterliegen.  $\alpha$ -BHC-d6 mit einer Endkonzentration von 20 ppb im Fläschchen diente als interner Standard zur Quantifizierung der Zielpestizide

(Agilent Bond Elut QuEChERS IS Standard 6; Bestellnummer PPS-610-1). Für alle Kalibrierungskurven wurde der Gewichtungsfaktor  $1/x$  angewendet.

### Retention Time Locking der 10-Minuten-Methoden

Durch Retention Time Locking wird sichergestellt, dass die Retentionszeiten einer neuen Säule bzw. eines neuen Geräts mit den Retentionszeiten in der MRM-Datenbank oder einer bestehenden Methode genau übereinstimmen, sodass Methoden einfach von einem Gerät zu einem anderen übertragen werden können. Dies vereinfacht die Methodenpflege und die Konfiguration des Systems. Die Retentionszeiten der herkömmlichen 20-Minuten-Pestizidanalyse können der MRM-Datenbank für Pestizide und Umweltschadstoffe entnommen werden. Bei der 10-Minuten-Methode mit herkömmlicher 15 x 15 m-Konfiguration wurde der gleiche GC-Säulenfluss verwendet wie bei der 20-Minuten-Analyse, auf die sich die Retentionszeiten in der MRM-Datenbank für Pestizide und Umweltschadstoffe beziehen. Dies ergab eine neue Locking-

Retentionszeit für Chlorpyrifos-methyl bei 5,520 Minuten. Um die Retentionszeiten der restlichen Analyten zu aktualisieren, wurde eine Kombination von Pestiziden und n-Alkanen verwendet, um die Retentionszeiten der neuen Methode auf Grundlage der Retentionszeiten für die 20-Minuten-Methode in der MRM-Datenbank für Pestizide und Umweltschadstoffe vorherzusagen.

Die 10-Minuten-Analyse mit der Minibore 10 x 10 m-Konfiguration wurde mithilfe der Methodenübertragungsfunktion genau skaliert. Die Geschwindigkeit konnte verdoppelt werden. Durch Feinabstimmung der Methode konnte die beste Übereinstimmung zwischen vorhergesagten und beobachteten Retentionszeiten im Elutionsbereich der 203 Pestizide erzielt werden, was einen Offset von 0,09 Minuten ergab. Die neuen Retentionszeiten (RT) wurden mit der folgenden Gleichung berechnet:

$$RT_{\text{neu}} = RT_{\text{alt}} \div 2 + 0,09 \text{ Minuten.}$$

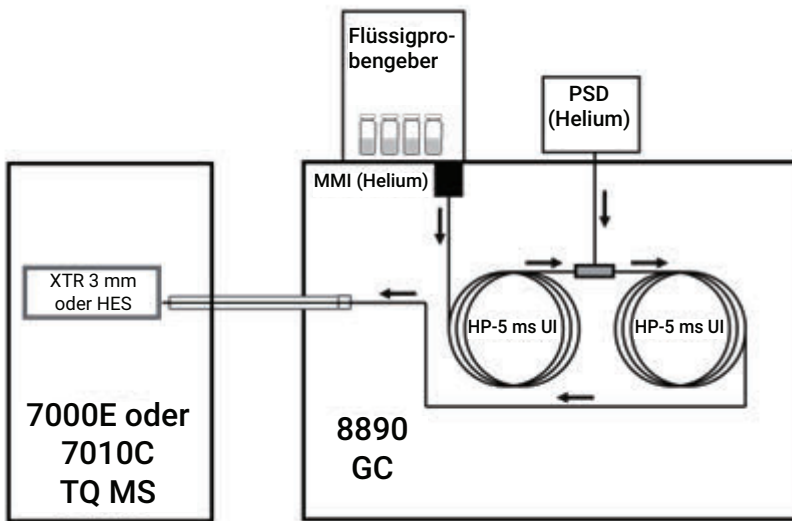
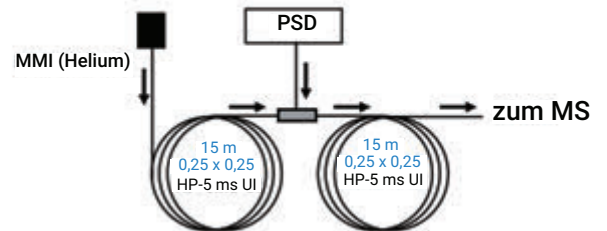
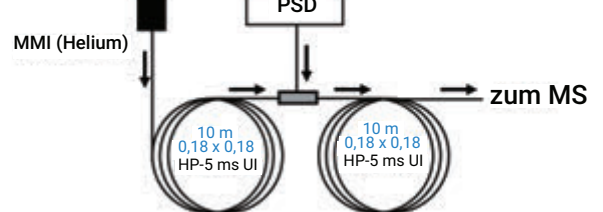


Abbildung 1: Agilent GC/TQ-System und die beiden eingesetzten Konfigurationen mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung (rechts).

Herkömmliche 15 x 15 m-Konfiguration mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung:



Minibore 10 x 10 m-Konfiguration mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung:



**Tabelle 1:** Bedingungen für die Systemkombinationen Agilent 8890 GC und 7000 GC/TQ bzw. Agilent 8890 GC und 7010C GC/TQ für 10-Minuten-Analysen von Pestiziden.

GC		
Agilent 8890 GC (220-V-Ofen) mit schnellem Ofen, automatischem Probengeber und Probenhalter		
Einlass	Multimode-Einlass (MMI)	
Modus	Cold Splitlos	
Purge-Fluss zum Splitauslass	60 ml/min bei 0,75 min	
Septumpülungsfluss	3 ml/min	
Modus Septumpülungsfluss	Geschaltet	
Injektionsvolumen	1,0 µl	
Injektionstyp	Standard	
L1 Airgap	0,2 µl	
Gassparfluss	Einschaltung mit 30 ml/min nach 3 min	
Einlasstemperatur	60 °C für 0,1 min, dann bis 280 °C mit 600 °C/min	
Einlasstemperatur Nachlauf	310 °C	
Gesamtfluss Nachlauf	25 ml/min	
Trägergas	Helium	
Einlass-Liner	Agilent Ultra Inert 2 mm Liner mit Verwirbelungszone	
Einlass-Liner Bestellnummer	5190-2297	
Ofen		
	Mit 15 x 15 m	Mit 10 x 10 m
Anfängliche Ofentemperatur	60 °C	60 °C
Anfängliche Ofen-Haltezeit	1 min	0,5 min
Anstiegsrate 1	80 °C/min	80 °C/min
Endtemperatur 1	170 °C	170 °C
Endtemperatur-Haltezeit 1	0 min	0 min
Anstiegsrate 2	35 °C/min	20 °C/min
Endtemperatur 2	310 °C	310 °C
Endtemperatur-Haltezeit 2	3,625 min	1,125 min
Gesamtlaufzeit	10 min	10 min
Nachlaufzeit	1,5 min	1,5 min
Äquilibrierungszeit	0,25 min	0,25 min
		Einsatz für Hochgeschwindigkeitsofen (Kissen)

Säule 1		
	Mit 15 x 15 m	Mit 10 x 10 m
Typ	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert
Agilent Bestellnummer	19091S-431UI-KEY	Spezielle Säule <sup>2</sup>
Länge	15 m	10 m
Durchmesser	0,25 mm	0,25 mm
Filmdicke	0,25 µm	0,25 µm
Steuerungsmodus	Konstanter Fluss	Konstanter Fluss
Fluss	1,016 ml/min	1,3 ml/min
Anschluss Säuleneingang	Multimode-Einlass (MMI)	Multimode-Einlass (MMI)
Anschluss Säulenausgang	PSD (PUU)	PSD (PUU)
PSD-Spülfluss	5 ml/min	5 ml/min
Fluss Nachlauf (Backflushing)	-7,873	-3,174
Säule 2		
	Mit 15 x 15 m	Mit 10 x 10 m
Typ	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert
Agilent Bestellnummer	19091S-431UI-KEY	Spezielle Säule <sup>2</sup>
Länge	15 m	10 m
Durchmesser	0,25 mm	0,25 mm
Filmdicke	0,25 µm	0,25 µm
Steuerungsmodus	Konstanter Fluss	Konstanter Fluss
Fluss	1,216 ml/min	1,5 ml/min
Anschluss Säuleneingang	PSD (PUU)	PSD (PUU)
Anschluss Säulenausgang	MSD	MSD
Fluss Nachlauf (Backflushing)	8,202	3,290

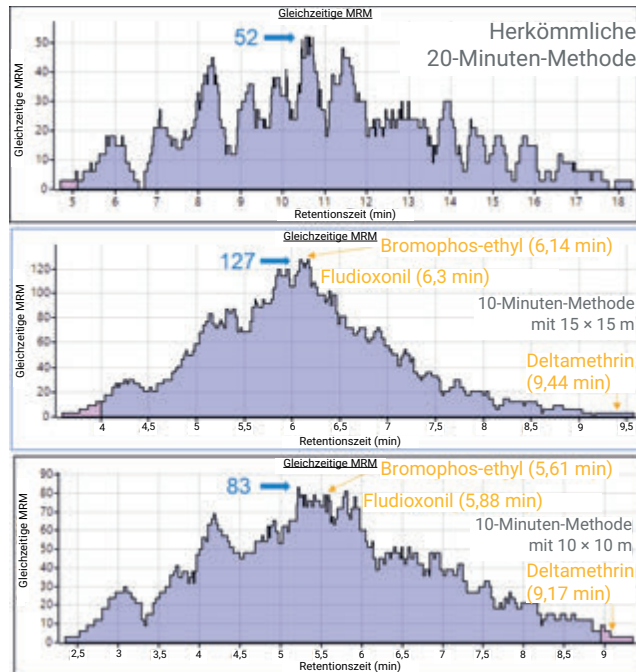
MSD		
Modell	Agilent 7000 Serie (7000D und 7000E) oder 7010C Triple Quadrupol GC/MS	
Quelle	Inerte Extraktor-Ionenquelle mit 3-mm-Linse oder HES	
Vakuumpumpe	Performance-Turbopumpe	
Tuning-Datei	Atunes.eiex.jtune.xml oder Atunes.eihs.jtune.xml	
Solvent Delay	3 min	
Quad-Temperatur (MS1 und MS2)	150 °C	
Temperatur der Quelle	280 °C	
Modus	dMRM	
Quenchgas He	2,25 ml/min	
Kollisionsgas N <sub>2</sub>	1,5 ml/min	
MRM-Statistik		
	Mit 15 x 15 m	Mit 10 x 10 m
Gesamt-MRM (dMRM-Modus)	614	614
Minimale Verweilzeit	2,33 ms	3,99 ms
Minimale Zykluszeit	167,86 ms	110,38 ms
Maximale Anzahl gleichzeitiger MRM	127	83
Verstärkungsmodus EM-Spannung	10	10

## Probenvorbereitung

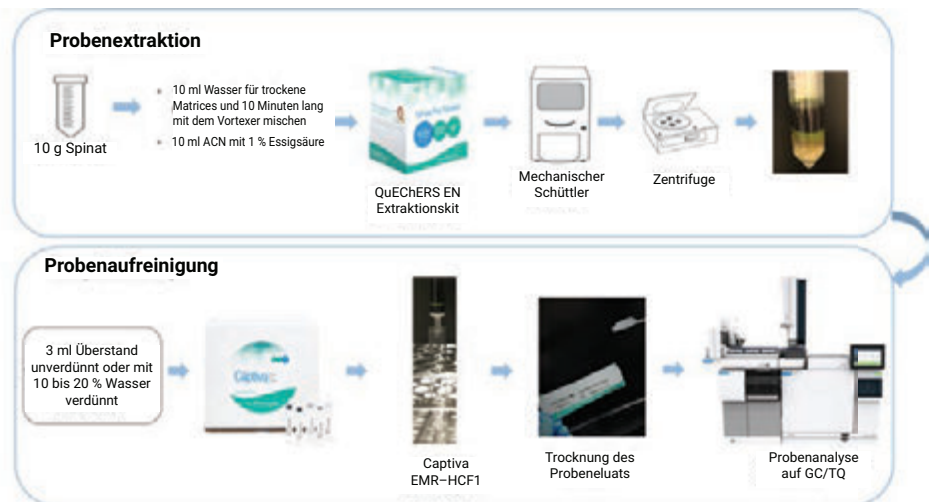
Der Arbeitsablauf der Probenvorbereitung ist in Abbildung 3 dargestellt.

Die Probenvorbereitung umfasst zwei wichtige Schritte: die Probenextraktion durch herkömmliche QuEChERS Extraktion, gefolgt von einer Captiva Enhanced Matrix Removal (EMR) Aufreinigung im Durchlauformat. Die Kartusche Agilent Captiva EMR-High Chlorophyll Fresh with NH<sub>2</sub> (Captiva EMR-HCF1) wurde für die Matrix mit einer hohen Chlorophyllkonzentration verwendet (frischer Spinat). Der neue Arbeitsablauf für die Probenvorbereitung ist ein vereinfachtes Verfahren, das mit Blick sowohl auf die Entfernung der Probenmatrix als auch auf die Datenqualität der Quantifizierungsdaten mit Verbesserungen verbunden ist.

Die Proben werden zunächst mit dem herkömmlichen Agilent Bond Elut QuEChERS EN Extraktionskit (Bestellnummer 5982-5650CH) extrahiert (Abbildung 3). Für die Extraktion diente homogenisierter frischer Spinat (10 g). 10 ml ACN mit 1 % Essigsäure wurde hinzugefügt. Dann erfolgte die Extraktion. Nach der Extraktion wurde 3 ml Rohextrakt in eine Captiva EMR-HCF1 Kartusche (Bestellnummer 5610-2088) überführt, um die Aufreinigung im Durchlauformat durchzuführen. Das Probeneluat wurde gesammelt und mit wasserfreiem MgSO<sub>4</sub> (Bestellnummer 5982-0102) weiter getrocknet. Dann waren die Proben für die GC/TQ-Analyse bereit. Für die Captiva EMR-Aufreinigung im Durchlauformat wurde der Agilent Überdruckverteiler-Prozessor 48 (PPM-48, Bestellnummer 5191-4101) verwendet.



**Abbildung 2:** Die Verteilung der 614 dMRM-Übergänge bei der herkömmlichen 20-Minuten-Analyse von Pestiziden, der 10-Minuten-Analyse mit der herkömmlichen 15 x 15 m-Konfiguration und der 10-Minuten-Analyse mit der Minibore 10 x 10 m-Säulenkonfiguration.



**Abbildung 3:** Flussdiagramm der Probenvorbereitung, bestehend aus der herkömmlichen Agilent QuEChERS Extraktion, gefolgt von der Agilent Captiva EMR-Aufreinigung im Durchlauformat.

## Ergebnisse und Diskussion

### Erhalt der chromatographischen Auflösung in der 10-Minuten-Analyse von über 200 Pestiziden

Die vorgestellten GC-Konfigurationen mit Backflush in der Mitte der Säulenanzahl (herkömmliche 15 x 15 m-Konfiguration und Minibore 10 x 10 m-Konfiguration) ermöglichten eine 10-Minuten-Analyse von 203 Pestiziden mit drei MRM-Übergängen pro Verbindung. Abbildung 4 zeigt, wie die chromatographische Auflösung bei der schnellen 10-Minuten-Methode mit 15 x 15 m-Konfiguration größtenteils (Abbildung 4A) und bei der schnellen Methode mit 10 x 10 m-Konfiguration vollständig (Abbildung 4B) erhalten blieb. Das Verfahren zur Übertragung von GC-Methoden, das für den Transfer zur 10 x 10 m-Konfiguration verwendet wurde, ermöglichte den Erhalt der relativen Elutionsreihenfolge der Verbindungen.

### Empfindlichkeit und Kalibrierungsergebnisse den 10-Minuten-Trennungen über einen breiten dynamischen Bereich

Die Methoden mit den unterschiedlichen Säulenkonfigurationen und 10-Minuten-Trennungen und die herkömmliche 20-Minuten-Methode waren hinsichtlich der Empfindlichkeit vergleichbar. Beide 10-Minuten-Methoden (mit 15 x 15 m- und 10 x 10 m-Säulenkonfiguration) ermöglichten den Nachweis aller

Zielpestizide unterhalb der festgelegten MRL-Werte, was auch auf die schwierigsten Analyten zutraf. Deltamethrin, eine mittels GC/MS schwer nachweisbare Verbindung, konnte in den Spinatproben beispielsweise mit dem 7010C GC/TQ bis zu einer Konzentration von 0,1 ppb und mit dem 7000 GC/TQ im Konzentrationsbereich 1 bis 5 ppb genau quantifiziert werden (Abbildung 5A). Für Deltamethrin gibt es zwar keinen festgelegten MRL-Wert in Spinat, es unterliegt jedoch in vielen anderen Lebensmitteln Bestimmungen, einschließlich in den Gemüsegruppen 8 und 9 und den Untergruppen IB und IC mit MRL-Werten im Bereich 40 bis 300 ppb.<sup>3</sup> Die für 7010 GC/TQ und 7000 GC/TQ beobachteten Kalibrierungsbereiche erfüllen daher den Analysebedarf für Deltamethrin in verschiedenen Lebensmittelmatrixen.

Obwohl bekannt ist, dass Deltamethrin mit GC/MS nur schwer nachweisbar ist, erfolgt die Elution am Ende der 10-Minuten-Analyse mit nur wenigen gleichzeitigen MRM-Übergängen. Die für Deltamethrin beobachteten wenigen gleichzeitigen MRM-Übergänge besitzen relative lange Verweilzeiten (über 50 ms) sogar in den schnellen 10-Minuten-Methoden (Abbildung 2). Dagegen eluiert Fludioxonil, ein Fungizid mit einem für Spinat festgelegten MRL-Wert von 10 ppb,<sup>4</sup> im dichten Abschnitt der MRM-Methoden mit 120 gleichzeitigen MRM-Übergängen bei der 15 x 15 m-Methode und 80 gleichzeitigen MRM-Übergängen

bei der 10 x 10 m-Methode. Trotz relativ kurzer Verweilzeiten von 3 ms bzw. 4,9 ms in den beiden Konfigurationen konnte Fludioxonil sowohl mit dem 7010C als auch mit dem 7000 GC/TQ-System bis auf 0,1 ppb genau quantifiziert werden; der Peakbereich wurde dabei von mindestens zehn Datenpunkten definiert (Abbildung 5B). Das 7010C GC/TQ-System mit High Efficiency Source (HES) war hinsichtlich der Empfindlichkeit dem 7000 GC/TQ nachweislich überlegen. Es ermöglichte eine genaue Quantifizierung bis hinunter zu 0,1 ppb, obwohl dies im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht notwendig war, da die MRL-Werte der von der US-amerikanischen Umweltschutzbehörde (EPA) regulierten Pestizide in den meisten Lebensmitteln keine Quantifizierung unter 0,1 ppb erfordern. Auf ähnliche Weise eluiert Bromophos-ethyl in einem dichten Retentionszeitfenster mit einer hohen Anzahl gleichzeitiger MRM-Übergänge. Dies führt zu einer kurzen Verweilzeit von nur 2,7 ms (15 x 15 m-Konfiguration) bzw. 4,7 ms (10 x 10 m-Konfiguration). Die für Bromophos-ethyl empfohlenen Toleranzwerte liegen zwischen 20 und 2000 ppb in verschiedenen Produkten.<sup>5</sup> Die Abbildungen 5B und 5C zeigen, dass in der schwierigen Spinatmatrix Fludioxonil und Bromophos-ethyl im breiten Konzentrationsbereich von 0,1 bis 1000 ppb mit hervorragender Empfindlichkeit und Linearität genau quantifiziert werden konnten; der Peakbereich wurde dabei von mindestens neun Datenpunkten definiert.

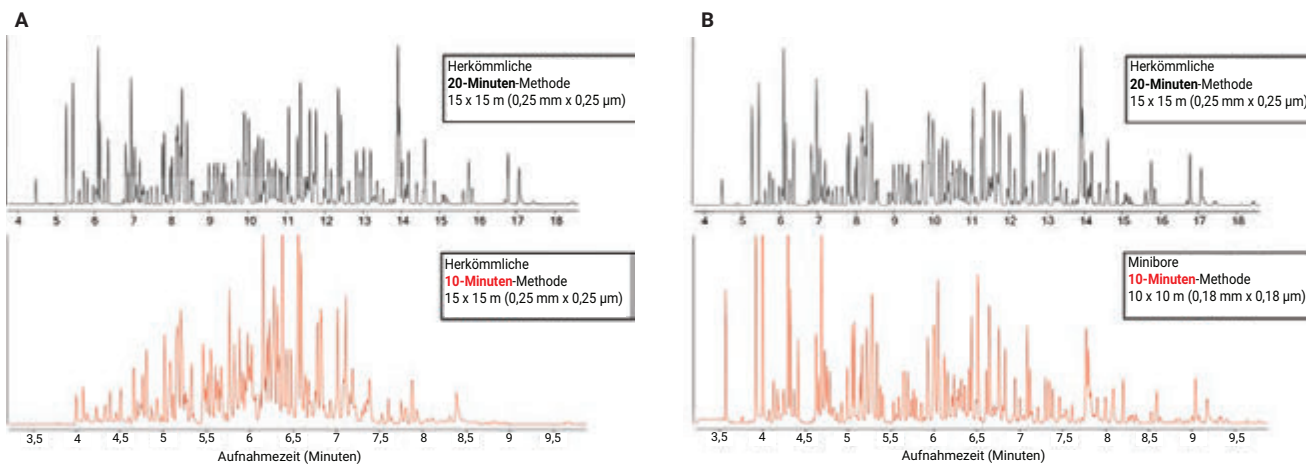
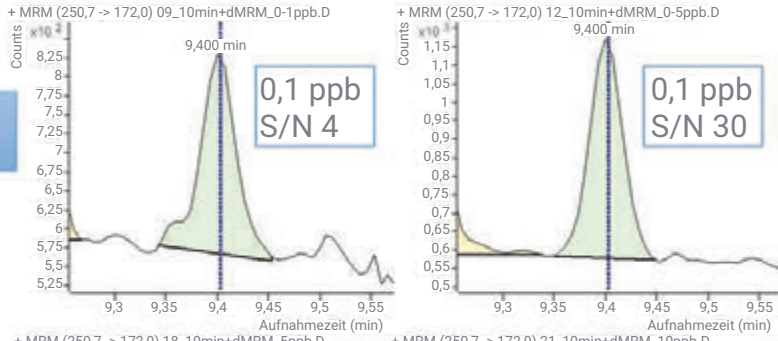


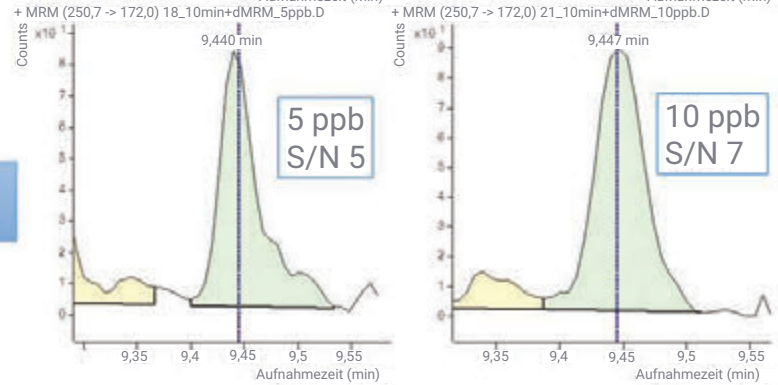
Abbildung 4: MRM Totalionen-Chromatogramm (TIC) einer Mischung von 203 Pestiziden, aufgenommen (A) mit einer herkömmlichen 15 x 15 m-Konfiguration und (B) mit einer Minibore 10 x 10 m-Konfiguration.

# A) Deltamethrin

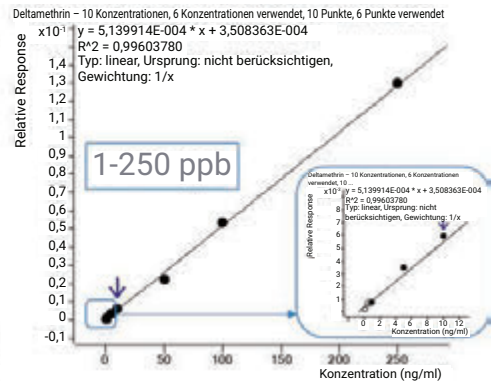
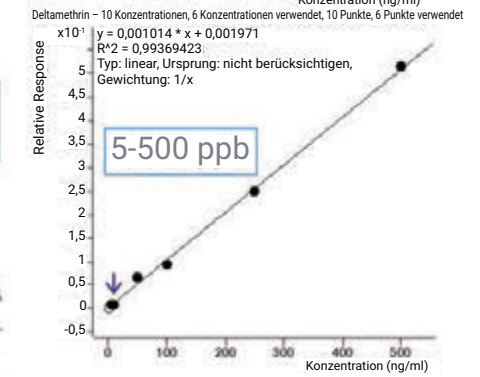
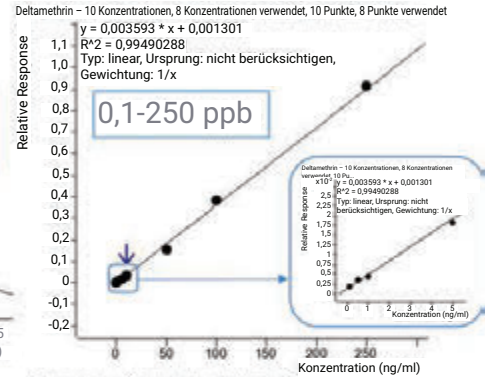
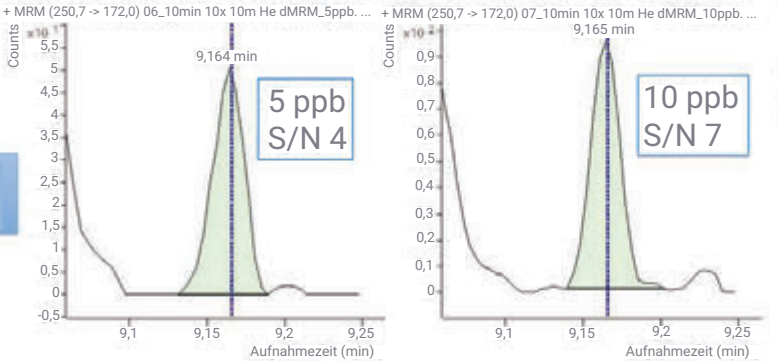
7010C  
15 x 15 m



7000E  
15 x 15 m

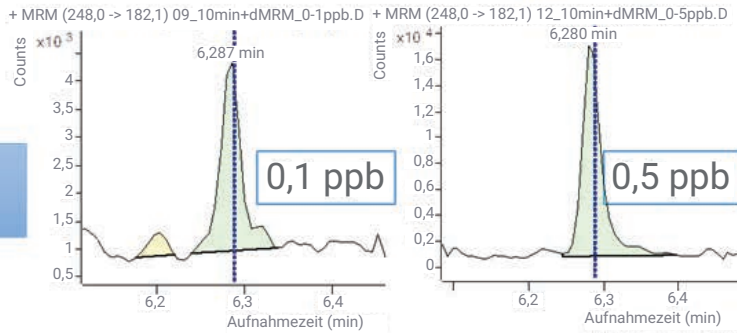


7000 Serie  
10 x 10 m

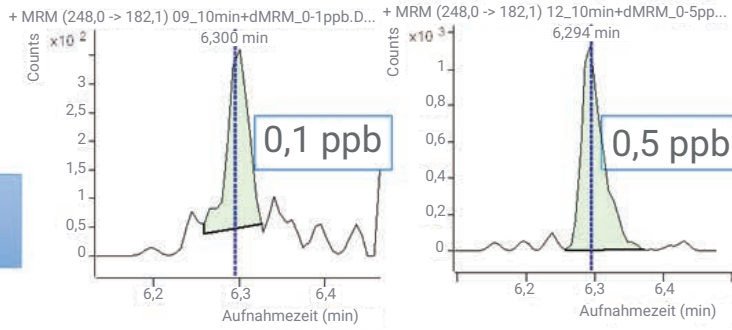


## B) Fludioxonil

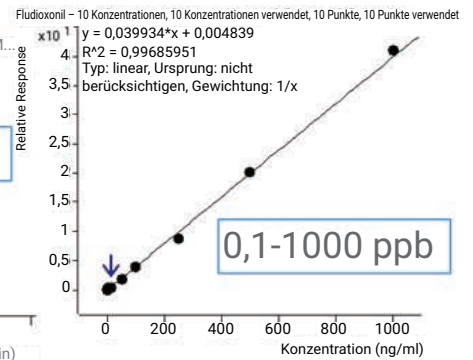
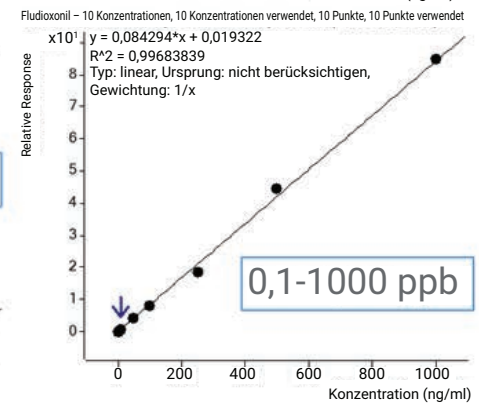
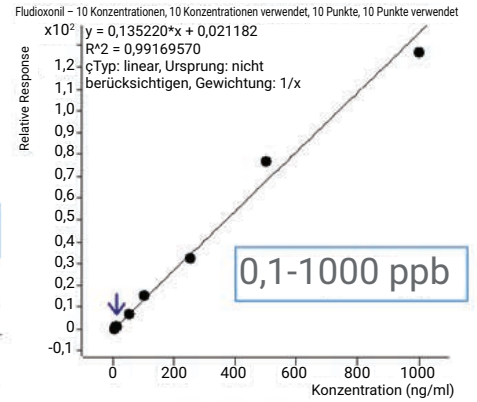
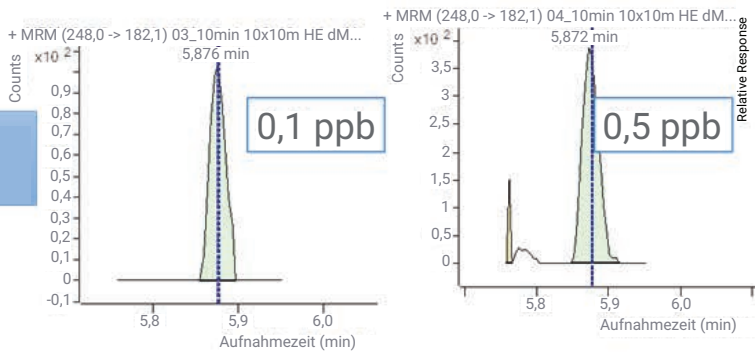
7010C  
15 x 15 m



7000E  
15 x 15 m

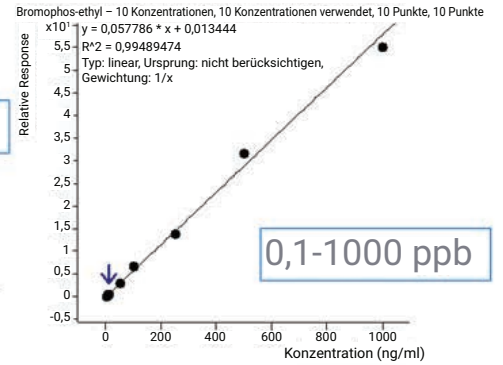
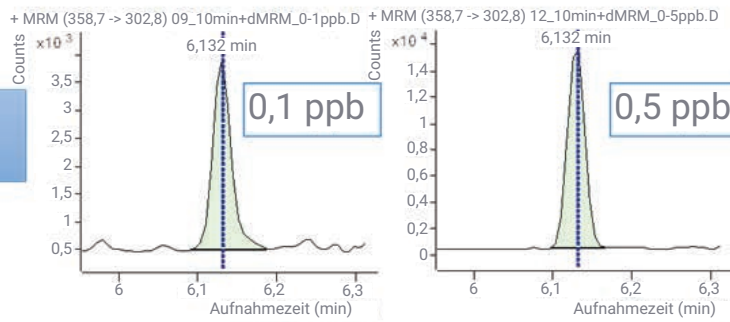


7000 Serie  
10 x 10 m

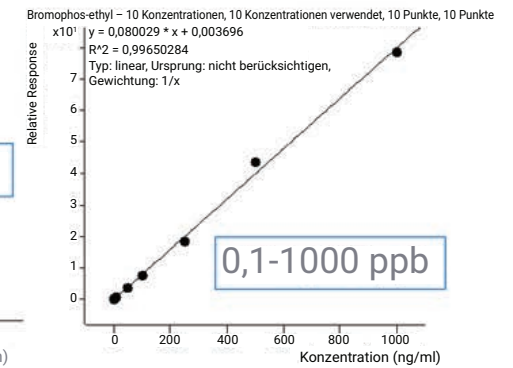
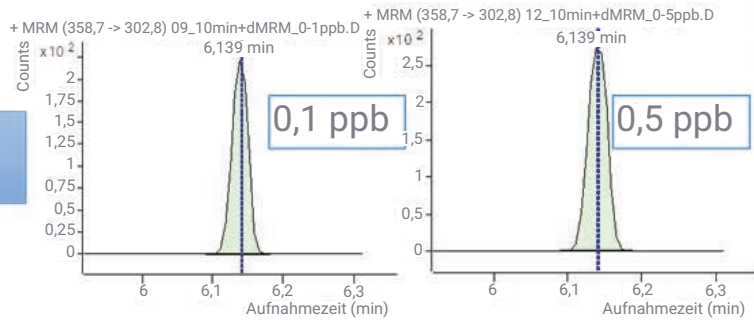


### C) Bromophos-ethyl

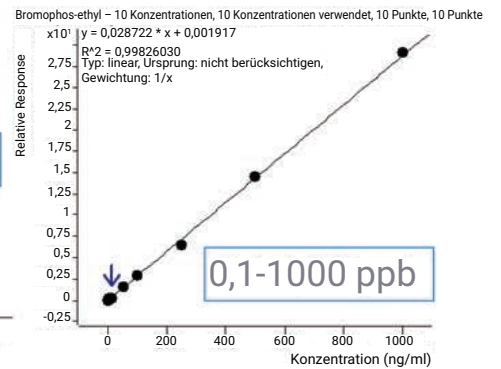
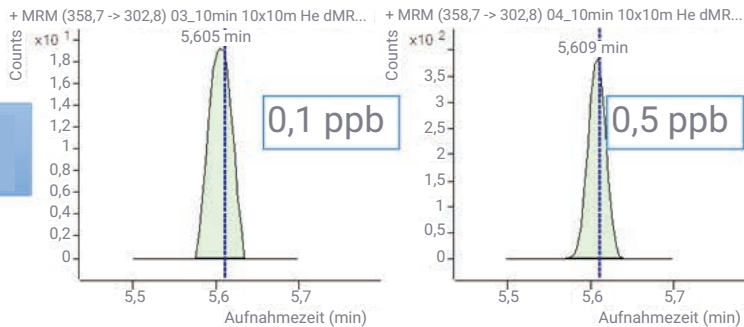
7010C  
15 x 15 m



7000E  
15 x 15 m



7000 Serie  
10 x 10 m



**Abbildung 5:** MRM-Chromatogramme und matrixangepasste Kalibrierungskurven (A) Deltamethrin, (B) Fludioxonil und (C) Bromphos-ethyl in Spinat. Die Beobachtung erfolgte nach 10-Minuten-Trennungen mit verschiedenen Säulenkonfigurationen mit den Agilent 7010C und 7000 Triple Quadrupol GC/MS-Systemen.

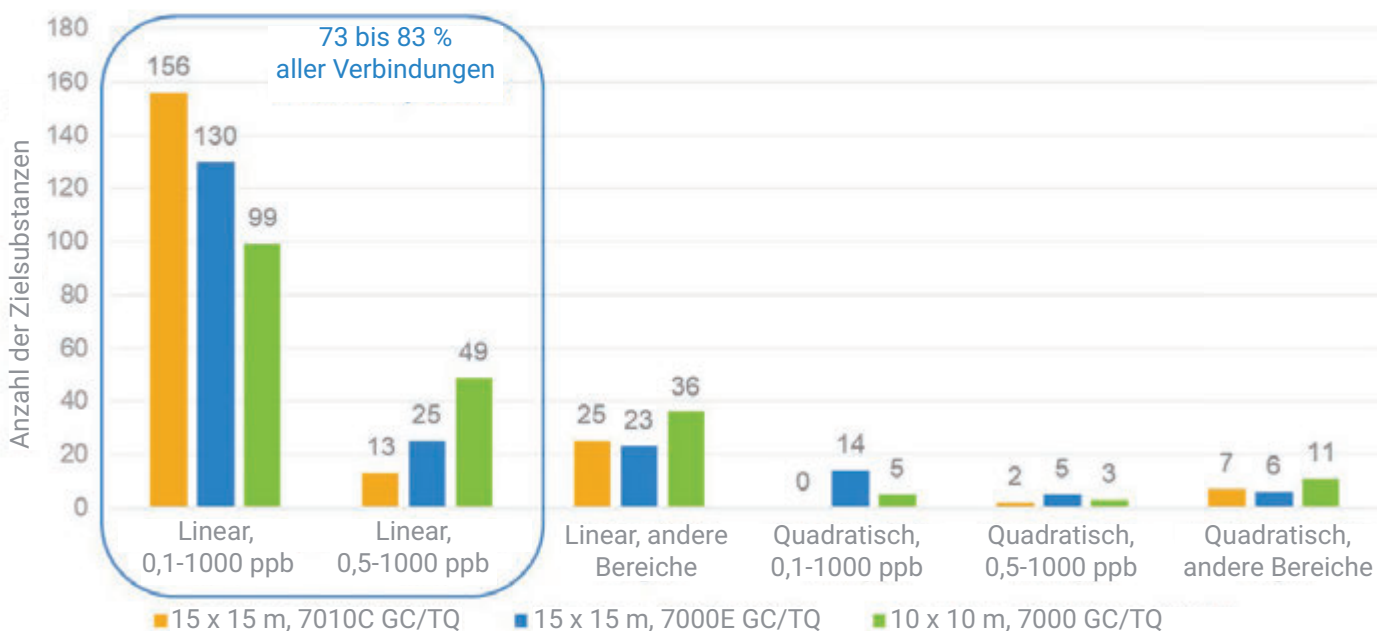
Die größte Herausforderung der Multirückstand-Pestizidanalyse ist die erhebliche Variabilität der für Lebensmittel festgelegten MRL-Werte für Pestizide. Dies kann eine unerwünschte erneute Injektion der Probe erforderlich machen, wenn nicht alle MRL-Werte der Zielverbindungen in den Kalibrierungsbereich der Methode fallen. Ein breiter dynamischer Kalibrierungsbereich ist für die allgemeinere Quantifizierungsmethode zur Analyse verschiedener Pestizide in einem Lebensmittel und im Vergleich mit anderen Lebensmitteln wünschenswert. Außerdem

vereinfacht ein solcher Bereich auch die Vorbehandlung von Proben einschließlich weiterer Verdünnungen vor dem Nachweis im Gerät. In Abbildung 6 werden die Kalibrierungsergebnisse für die 203 Pestizide der Spinatanalyse zusammengefasst. Dabei wird zur Trennung die 10-Minuten-Analyse mit der herkömmlichen 15 x 15 m-Konfiguration und dem 7010C bzw. dem 7000E GC/TQ-System und die 10-Minuten-Analyse mit der Minibore 10 x 10 m-Konfiguration und einem 7000 GC/TQ-System verglichen. Im Diagramm werden die Anzahl der Verbindungen

mit einem Korrelationskoeffizienten von  $R^2 > 0,99$ , die unterschiedlichen Regressionsanpassungen (linear oder quadratisch) und die unterschiedlichen Kalibrierungsbereiche dargestellt.

Für die meisten Zielsubstanzen wurden über einen breiten Bereich von 0,1 ppb bis 1000 ppb bzw. 0,5 bis 1000 ppb lineare Kalibrierungskurven erhalten. Diese ermöglichten eine zuverlässige Quantifizierung der verschiedenen Verbindungen im Bereich der unterschiedlich hohen MRL-Werte.

### Anzahl der Verbindungen mit $R^2 > 0,99$ und deren Kalibrierungsbereiche auf 7000 bzw. 7010C GC/TQ-Systemen mit zwei Säulenkonfigurationen und einer 10-Minuten-Trennung



**Abbildung 6:** Kalibrierungsergebnisse von 203 Pestiziden in Spinat mit der 10-Minuten-Methode mit herkömmlicher 15 x 15 m-Konfiguration (gekoppelt an Agilent 7010C und 7000E Triple Quadrupol GC/MS-Systeme) und mit der Minibore-10 x 10 m-Konfiguration (gekoppelt an ein Agilent 7000 Triple Quadrupol GC/MS-System). In den Diagrammen sind die Anzahl der Verbindungen und deren Kalibrierungsbereiche angegeben.

## Robustheit der Methode nach 700 Injektionen von Spinatextrakt

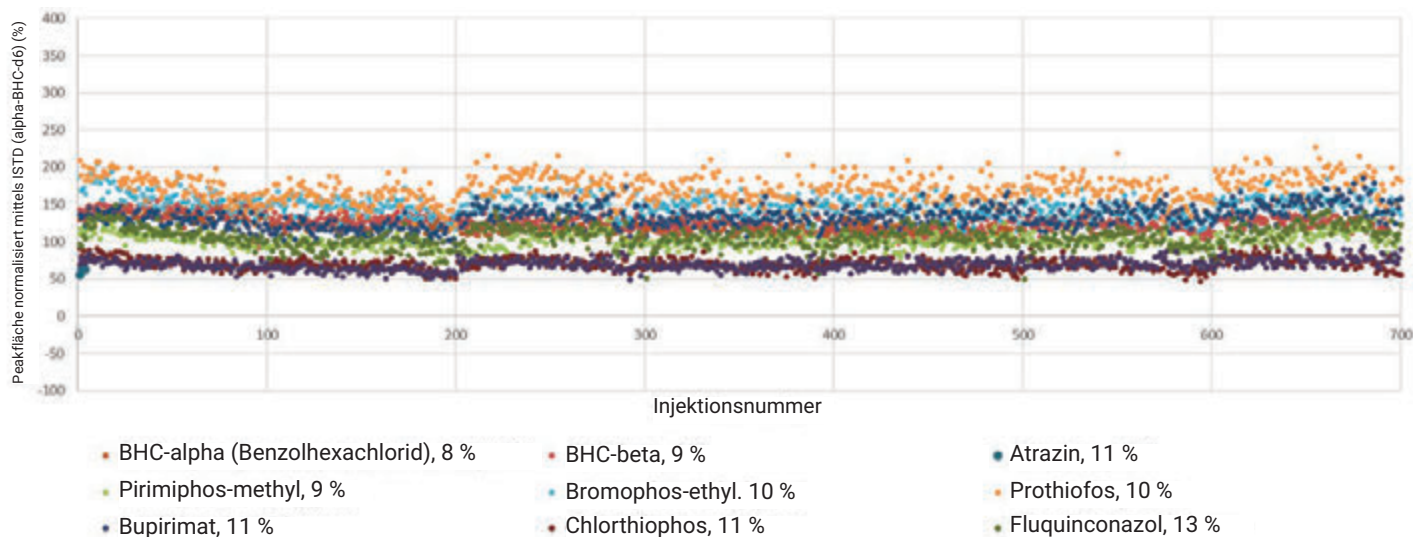
Die Robustheit der 10-Minuten-Analyse wurde durch Analyse eines schwierigen, stark pigmentierten Spinatextrakts, der mit 20 ppb Pestiziden versetzt wurde, nachgewiesen. Die Analyten wurden über 700 aufeinander folgende Injektionen hinweg überwacht. Die über 700 Injektionen wurden über 175 Stunden kontinuierlich mit der 10-Minuten-Methode und der herkömmlichen 15 x 15 m-Säulenkonfiguration und einem 7000E GC/TQ-System analysiert. In dieser Zeit blieb die Response der Analyten, normalisiert mithilfe des internen Standards (ISTD), bis zum Ende konsistent. Die einzige Wartungsprozedur, die während der Robustheitsprüfung durchgeführt wurde, war ein Wechsel von Septum und Liner alle 100 Injektionen.

Während der gesamten Studie, die sich über 1000 Injektionen hinzog (Robustheitsprüfung in 700 Analyseläufen und weitere Analysen zur Beurteilung des Systems und der Kalibrierung), entstand kein Bedarf nach Reinigung des Einlasses, Kürzen der GC-Säule, Reinigung der MS-Quelle oder Tuning des MS.

Die wichtigen Faktoren für eine erfolgreiche und robuste Pestizidanalyse, die über 700 Injektionen hinweg für stabile GC/TQ-Leistungen sorgt, werden in der Application Note 5994-4965DEE beschrieben.<sup>6</sup> Zu den Best Practices in dieser Arbeit gehören:

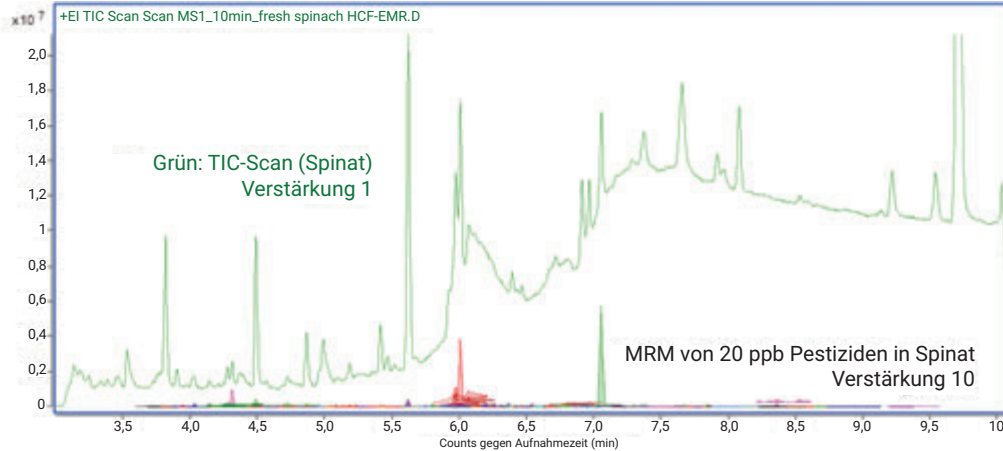
- Vereinfachte und verbesserte Probenvorbereitung durch eine herkömmliche QuEChERS Extraktion gefolgt von einer neuartigen und verbesserten Captiva EMR-Aufreinigung im Durchlaufformat.

- Ermittlung der Beladung der Quelle mit Matrix im Full-Scan-Datenerfassungsmodus.
- Backflush in der Mitte der Säulenordnung nach dem Lauf mit der herkömmlichen 15 x 15 m- und der Minibore 10 x 10m-Konfiguration.
- Leckagefreies GC/TQ-System dank selbstsichernder Säulenmutter mit Schraubfixierung und vergoldeten flexiblen CFT-Metall-Ferrulen.
- Verwendung des MMI mit Temperaturprogramm mit einem Ultra Inert 2-mm-Liner mit Verwirbelungszonen (keine Glaswolle).



**Abbildung 7:** Stabilität der Peakfläche für Pestizide, die dem Spinatextrakt mit einer Konzentration von 20 ppb zugesetzt wurden. Die Signale wurden mittels ISTD normalisiert. Es erfolgten über 700 aufeinander folgende Injektionen. 10-Minuten-Analyse mit der herkömmlichen 15 x 15 m-Säulenkonfiguration gekoppelt an ein Agilent 7000D Triple Quadrupol-GC/MS.

A)



B)



**Abbildung 8:** (A) TIC eines Full-Scan-Chromatogramms von Spinatextrakt und MRM-TIC für 20 ppb Pestizide. (B) Während der Analyse von Spinat im Rahmen der Robustheitsbewertung wurden die GC-Einlass-Liner alle 100 Injektionen ausgewechselt.

Der stark pigmentierte Spinatextrakt, der für die Robustheitsprüfungen ausgesucht wurde, hatte im Full-Scan-Datenerfassungsmodus nachweislich einen hohen Hintergrund (Abbildung 8A) im Vergleich zur Abundanz des MRM-Signals für Pestizide mit einer Konzentration von 20 ppb. Die nach jeweils 100 Injektionen ersetzten sieben Liner der Robustheitsstudie sind in Abbildung 8B gezeigt. Dies belegt, dass Spinatextrakt tatsächlich eine hohe Herausforderung für die GC/MS-Analyse darstellt. Daher eignet er sich auch als Matrix für die Bewertung im Rahmen einer Robustheitsstudie.

## Fazit

In dieser Application Note werden zwei GC/TQ-Systemkonfigurationen mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung beschrieben. Beide ermöglichen eine robuste Pestizidanalyse in 10 Minuten bei gleichzeitigem Erhalt einer ausreichenden chromatographischen Auflösung für 203 Verbindungen. Die herkömmliche 15 x 15 m-Konfiguration (0,25 mm x 0,25 µm) und die Minibore Format 10 x 10 m-Konfiguration

(0,18 mm x 0,18 µm), beide mit Backflush in der Mitte der Säulenordnung, wurden verwendet, um eine Analysendauer von 10 Minuten zu erzielen. Die Ergebnisse belegen eine hervorragende Linearität über einen dynamischen Kalibrierungsbereich von 0,1 bis 1000 ppb (Agilent 7010C Triple Quadrupol GC/MS-System) bzw. 0,5 bis 1000 ppb (Agilent 7000 Triple Quadrupol GC/MS-System). Die Robustheit der Methode wurde mithilfe von 700 aufeinander folgenden Injektionen untersucht. Injiziert wurde Spinatextrakt, der mit Pestiziden für eine Konzentration von 20 ppb versetzt worden war.

## Literatur

1. Agilent MassHunter MRM-Datenbank für Pestizide und Umweltschadstoffe (P&EP 4.0). G9250AA. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/gc-ms-application-solutions/gc-ms-ms-pesticides-analyser>
2. Kundenspezifische Agilent GC-Säulen können unter <https://explore.agilent.com/individual-column> bestellt werden.
3. 40 CFR § 180.435 - Deltamethrin; tolerances for residues. [https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=\(2\)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide](https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=(2)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide). Zugriff am 22. April 2022.
4. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity), US EPA. 12. Dezember 2012. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-01/documents/tolerances-commodity.pdf>. Zugriff am 28. April 2022.
5. IPCS INCHEM. <https://incchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v072pr04.htm>. Zugriff am 28. April 2022.
6. Andrianova, A; Zhao, L. Fünf wichtige Tipps für optimale Leistungen bei der GC/MS/MS-Analyse von über 200 Pestiziden in schwierigen Lebensmittelmatrices, *Agilent Technologies Application Note*, Publikationsnummer 5994-4965DEE, **2022**.

## Anhang 1

Die in dieser Arbeit verwendeten Verbindungen und deren beobachtete Retentionszeiten mit einer Zwei-Säulen-Konfiguration und 10-Minuten-Trennungen.

Name	Retentionszeit (min)		Name	Retentionszeit (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Allidochlor	3,773	2,542	BHC-gamma (Lindan, gamma-HCH)	5,201	4,174
Dichlorbenzotrifluorid, 2,6-	3,972	2,720	Pyrimethanil	5,222	4,246
Biphenyl	4,055	2,812	Tefluthrin	5,223	4,310
Mevinphos, E-	4,110	2,901	Fonofos	5,225	4,223
3,4-Dichloranilin	4,193	2,954	Pentachlornitrobenzol	5,227	4,210
Pebulat	4,223	3,006	Pentachlorbenzotrifluorid	5,247	4,228
Etridiazol	4,246	3,016	Disulfoton	5,273	4,312
N-(2,4-dimethylphenyl)formamid	4,305	3,091	Isazofos	5,285	4,361
cis-1,2,3,6-Tetrahydrophthalimid	4,312	3,090	Terbacil	5,285	4,323
Methacrifos	4,321	3,129	Triallat	5,322	4,379
Chloroneb	4,375	3,171	BHC-delta	5,330	4,351
2-Phenylphenol	4,444	3,228	Chlorthalonil	5,350	4,392
Pentachlorbenzol	4,495	3,276	Propanil	5,463	4,570
Propachlor	4,702	3,546	Endosulfanether	5,466	4,523
Tecnazen	4,712	3,547	Transfluthrin	5,476	4,658
Diphenylamin	4,734	3,582	Dimethachlor	5,477	4,596
Cycloat	4,757	3,626	Pentachloranilin	5,482	4,552
Chlorpropham	4,769	3,656	Acetochlor	5,502	4,641
2,3,5,6-Tetrachloranilin	4,793	3,633	Vinclozolin	5,503	4,654
Trifluralin	4,798	3,724	Parathion-methyl	5,526	4,668
Benfluralin	4,811	3,740	Chlorpyrifos-methyl	5,526	4,668
Ethalfuralin	4,812	3,670	Tolclofos-methyl	5,559	4,710
Sulfotep	4,869	3,789	Alachlor	5,564	4,725
Diallat I	4,928	3,846	Propisochlor	5,579	4,765
Phorat	4,932	3,852	Metalaxyl	5,583	4,763
BHC-beta	5,010	4,115	Ronnel	5,614	4,791
BHC-alpha (Benzolhexachlorid)	5,011	3,918	Prodiamin	5,622	4,871
Hexachlorbenzol	5,069	3,987	Heptachlor	5,630	4,763
Atrazin	5,072	4,048	Pirimiphos-methyl	5,650	4,892
Dichloran	5,072	3,998	Fenitrothion	5,676	4,891
Pentachloranisol	5,083	4,013	Malathion	5,696	4,962
Clomazon	5,122	4,092	Linuron	5,708	4,927
Profluralin	5,123	4,156	Dichlofluanid	5,745	4,980
Terbutylazin	5,155	4,163	Pentachlorthioanisol	5,767	4,972
Terbufos	5,173	4,178	Aldrin	5,768	5,061
Propyzamid	5,175	4,188	Fenthion	5,779	5,057
Diazinon	5,191	4,244	Metolachlor	5,783	5,046
Fluchloralin	5,199	4,261	Chlorpyrifos	5,790	5,075

Name	Retentionszeit (min)		Name	Retentionszeit (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Parathion	5,793	5,081	Chlorfenson	6,275	5,784
Triadimefon	5,811	5,100	Nonachlor, trans-	6,279	5,787
DCPA (Dacthal, Chlorthal-dimethyl)	5,829	5,124	Dieldrin	6,279	5,955
Anthrachinon	5,831	5,053	Fludioxonil	6,294	5,876
Dichlorbenzophenon, 4,4'-	5,840	5,110	Prothiofos	6,300	5,844
Pirimiphos-ethyl	5,869	5,241	Oxadiazon	6,303	5,920
MGK-264	5,881	5,315	Pretilachlor	6,303	5,895
Isopropalin	5,898	5,267	Iodofenphos	6,304	5,828
Fenson	5,902	5,194	Profenofos	6,312	5,877
Diphenamid	5,908	5,235	Oxyfluorfen	6,314	5,960
Bromophos	5,918	5,237	DDE-p,p'	6,342	5,906
Cyprodinil	5,941	5,314	Bupirimat	6,361	6,014
Pendimethalin	5,975	5,356	Myclobutanil	6,364	5,970
Chlozolinat	5,976	5,378	Chlorfenapyr	6,365	6,122
Allethrin	5,979	5,393	Flusilazol	6,370	5,995
Triflumizol	5,979	5,473	Fluazifop-P-butyl	6,388	6,090
Fipronil	5,993	5,431	DDD-o,p'	6,404	5,990
Penconazol	5,998	5,375	Tricyclazol	6,412	5,932
Metazachlor	5,999	5,358	Endrin	6,423	6,153
Chlorfenvinphos	6,016	5,436	Ethylan	6,453	6,121
Heptachlorexopoxid	6,016	5,402	Nitrofen	6,477	6,101
Isodrin	6,018	5,319	Chlorbenzilat	6,506	6,189
Captan	6,020	5,472	Ethion	6,571	6,315
Tolyfluanid	6,026	5,413	DDD-p,p'	6,582	6,280
Bromfenvinfos-methyl	6,036	5,436	DDT-o,p'	6,582	6,318
Quinalphos	6,047	5,463	Chlorthiophos	6,587	6,338
Triadimenol	6,053	5,476	Endosulfan II (beta-Isomer)	6,603	6,235
Procymidon	6,090	5,515	Triazophos	6,644	6,428
Folpet	6,127	5,513	Sulprofos	6,659	6,420
Paclobutrazol	6,137	5,653	Nonachlor, cis-	6,667	6,341
Chlorbensid	6,137	5,549	Carfentrazon-ethyl	6,668	6,509
Bromophos-ethyl	6,139	5,609	Methoxychlor-olefin	6,702	6,519
DDE-o,p'	6,176	5,631	Endrinaldehyd	6,709	6,402
Tetrachlorvinphos	6,181	5,680	Carbophenothion	6,726	6,513
Chlordan-trans	6,187	5,610	Norflurazon	6,754	6,576
Chlordan-cis	6,196	5,744	Edifenphos	6,786	6,566
Fenamiphos	6,227	5,797	Lenacil	6,787	6,588
Flutolanil	6,233	5,801	DDT-p,p'	6,805	6,615
Bromfenvinfos	6,252	5,800	Iprodion	6,826	6,947
Flutriafol	6,255	5,764	Methoxychlor, o,p'-	6,846	6,703
Endosulfan I (alpha-Isomer)	6,274	5,724	Endosulfansulfat	6,852	6,610

Name	Retentionszeit (min)		Name	Retentionszeit (min)	
	15 x 15 m	10 x 10 m		15 x 15 m	10 x 10 m
Piperonylbutoxid	6,854	6,788	Acrinathrin	7,415	7,607
Propargit	6,856	6,760	Leptophos	7,417	7,413
Resmethrin	6,857	6,756	Pyrazophos	7,556	7,660
Hexazinon	6,861	6,708	Fenarimol	7,631	7,641
Tebuconazol	6,886	6,739	Mirex	7,636	7,533
Captafol	6,890	6,805	Pyraclufos	7,645	7,728
Nitralin	6,913	6,862	Azinphos-ethyl	7,675	7,700
Bifenthrin	7,044	7,057	Permethrin, (1R)-cis-	7,785	7,901
Pyridaphenthion	7,048	7,004	Permethrin, (1R)-trans-	7,842	7,962
Tetramethrin I	7,052	6,999	Pyridaben	7,916	7,980
Fenpropathrin	7,106	7,121	Coumaphos	7,964	8,028
Bromopropylat	7,109	7,061	Fluquinconazol	7,964	8,023
EPN	7,112	7,061	Prochloraz	7,988	8,058
Tebufenpyrad	7,130	7,152	Cyfluthrin I	8,157	8,184
Methoxychlor, p,p'-	7,131	7,111	Cypermethrin I	8,250	8,339
Phosmet	7,135	7,054	Flucythrinat I	8,359	8,444
Endrinke-ton	7,189	7,033	Acequinocyl	8,409	8,534
Phenothrin I	7,230	7,243	Ethofenprox	8,431	8,485
Azinphos-methyl	7,330	7,405	Fluridon	8,708	8,662
Tetradifon	7,330	7,305	Fenvalerat I	8,881	8,799
Cyhalothrin (lambda)	7,334	7,438	Fluvalinat-tau I	8,970	8,894
Pyriproxyfen	7,358	7,406	Deltamethrin	9,444	9,166
Phosalon	7,389	7,387			

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE13474802

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2022  
 Gedruckt in den USA, 29. September 2022  
 5994-4967DEE