

Project 513.0001

Ontwikkelen en toepasbaar maken voor de praktijksituatie van een multimethode voor het aantonen van bestrijdingsmiddelen in agrarische produkten met "on-line" vloeistofchromatografie-gaschromatografie-massaspectrometrie

Rapport 93.04

januari 1993

ONTWIKKELEN VAN EEN MULTIMETHODE VOOR DE ANALYSE VAN VLUCHTIGE PESTICIDEN MET BEHULP VAN GASCHROMATOGRAPHIE-MASSASPECTROMETRIE

W.A. Traag en W. Kulik

afdeling: Instrumentele Analyse

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-75400

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

Copyright 1993, DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur
hoofden onderzoekafdelingen (2x)
public relations & secretariaat (2x)
projectleider (W.A. Traag)
ir. L.G.M.Th. Tuinstra
dr. J. de Jong
A.H. Roos
circulaire
bibliotheek (3x)

EXTERN:

Dienst Landbouwkundig Onderzoek
Directie Milieu, Kwaliteit en Voeding
Directie Wetenschap en Technologie
RIVM (dr. A.P.J.M. de Jong; dr. P. van Zoonen)
CBT (ir. A. van de Kamp)

ABSTRACT

Development of a multi component method for the gaschromatographic-mass spectrometric determination of pesticides (in Dutch)

Report 93.04

January 1993

W.A. Traag en W. Kulik

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO)

P.O. Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

A method for the analysis of pesticides in vegetables is developed using gaschromatography-mass spectrometry (GC-MS). With this method approximately 150 out of 400 pesticides, for which in the Netherlands maximal allowable tolerance is established, can be determined. After extraction with acetone and hexane gelpermeation chromatography is carried out. The pesticide containing fraction is collected and after concentration analyzed with GC-MS. The GC-MS system is primary used for screening purposes with a simultaneous possibility of confirmation. Therefore this method can not only be used for confirming suspected samples but can also operate as an initial technique. This report describes the possibilities and the use of the database of the GC-MS system in the field of pesticide analysis. The reliability of the GC-MS is discussed in terms of reproducibility of retention times and mass spectrometric results. The method is checked for a number of vegetables and fruit, eg paprika, carrot, tomato, cucumber and apple which were spiked with a mixture of pesticides of known concentration. Analysis was carried out in 20 salad samples and 19 spinach samples 9 salad samples contained iprodion (range 0.09-3.3 mg/kg), 4 salad samples contained vinchlozolin (range 0.06-0.35 mg/kg) en in 2 lettuce samples permethrin (0.05 en 0.08 mg/kg) could be determined. In spinach samples permethrin (0.13 en 0.24 mg/kg) could be determined. None of the analyzed samples exceeded the limits.

Keywords: pesticides, mass spectrometry, ion trap

SAMENVATTING

Een methode is ontwikkeld voor de analyse van bestrijdingsmiddelen in gewassen met behulp van gaschromatografie-massa-spectrometrie (GC-MS). Met de ontwikkelde methode kunnen nu reeds 150 bestrijdingsmiddelen aangetoond worden van de ongeveer 400 bestrijdingsmiddelen waarvoor in Nederland normen zijn vastgesteld. Na extractie met aceton en hexaan vindt een opzuivering plaats door middel van gelpermeatiechromatografie waarna de fractie waarin de bestrijdingsmiddelen zich bevinden, na concentreren geanalyseerd wordt op een GC-MS systeem. De GC-MS combinatie wordt hierbij primair gebruikt voor screening met de mogelijkheid van simultane detectie en confirmatie. Deze techniek wordt derhalve niet alleen gebruikt om met andere methoden gevonden "positieven" te bevestigen, maar ook om het initiële onderzoek in monsters uit te voeren.

In dit rapport wordt een beeld gegeven van de mogelijkheden met dit GC/MS systeem op het terrein van de bestrijdingsmiddelenanalyse. Het functioneren van de GC-MS en met name het database-systeem in zijn algemeenheid worden toegelicht.

De reproduceerbaarheid van gegenereerde resultaten (retentietijden, massaspectra, kwantificering), zijnde een maat voor de betrouwbaarheid van de kwalitatieve en kwantitatieve resultaten wordt besproken.

De methode is getoetst met een aantal groenten- en fruit-extracten o.a paprika's, waspeen, tomaten, komkommer en appels waaraan een mengsel bestrijdingsmiddelen met bekende samenstelling was toegevoegd.

Tevens is onderzoek uitgevoerd in 20 monsters sla en 19 monster spinazie. In 9 monsters sla kon iprodion aangetoond worden (range 0,09-3,3 mg/kg), 4 monsters sla bevatte vinchlozolin (range 0,06-0,35 mg/kg) en 2 monsters sla bevatten permethrin (0,05 en 0,08 mg/kg).

In 2 monsters spinazie kon permethrin aangetoond worden (0,13 en 0,24 mg/kg).

In geen van de onderzochte monsters werd een overschrijding van het maximaal toegestane gehalte gevonden.

INHOUD	<u>blz</u>
ABSTRACT	1
SAMENVATTING	3
1 INLEIDING	7
2 CONFIGURATIE APPARATUUR	7
3 BIBLIOTHEEK ITS40	7
3.1 Quantitation calibration file	7
3.2 Library file	10
3.3 Opzoekprocedures	10
4 REPRODUCEERBAARHEID	12
4.1 Identificatie	12
4.1.1 Retentietijden	12
4.1.2 Massaspectra	12
4.1.3 Discussie m.b.t reproduceerbaarheid	14
4.2 Kwantificering	15
4.2.1 Discussie m.b.t kwantificering	16
4.2.2 Kwantificeringsexperimenten	17
5 GEVOELIGHEID	17
6 PRAKTIJK	17
6.1 Groenten- en fruitmonsters waaraan pesticiden zijn toegevoegd	17
6.2 Screening van sla- en spinaziemonsters	18
7 CHEMISCHE IONISATIE	18
8 CONCLUSIE	18
9 AANBEVELINGEN	19
REFERENTIES	20
BIJLAGE 1: TABELLEN 1 T/M 5 EN FIGUREN 1 T/M 12	
BIJLAGE 2: OVERZICHT VAN DE TE BEPALEN PESTICIDEN	

1 INLEIDING

In de afgelopen jaren is gaschromatografie/massaspectrometrie (GC/MS) één van de steunpilaren geworden voor de zgn. "multiresidue pesticide screeningsmethode" (M. Monsour et al. 1992, G.C. Mattern et al. 1990). De GC/MS combinatie wordt hierbij primair gebruikt voor screening met de mogelijkheid van simultane detectie en confirmatie (L.G.M.Th Tuinstra et al. 1991). Deze techniek wordt derhalve niet alleen gebruikt om met andere methoden gevonden "positieven" te bevestigen, maar ook om het initiële onderzoek in monsters uit te voeren.

De ontwikkeling van het GC/MS-deel van de multimethode bestaat o.a. uit het creëren van een database binnen het GC/MS data- systeem waarmee na automatisering een eerste screening kan worden uitgevoerd op productextracten die zijn geïntroduceerd in het GC/MS systeem. In deze database worden per component criteria vastgelegd die betrekking hebben op o.a. de relatieve retentietijd, het massaspectrum, de signaal/ruis-verhouding en de ionen voor kwantificering.

Een automatische procedure zorgt voor een vergelijking van per component vastgestelde gaschromatografische en massa-spectrometrische criteria met de geregistreerde spectra van gevonden componenten. De met deze GC/MS-identificatie gevonden pesticiden kunnen in dezelfde screeningsprocedure worden gekwantificeerd op grond van eerder vastgestelde parameters bij calibratie van het GC/MS systeem.

In het kader van de ontwikkeling van een "multiresidue pesticide methode" is in april 1991 als GC/MS-systeem de "ITS40" (= Ion Trap System) aangeschaft: een volledig geïntegreerd GC/MS/DATA-systeem met een hoge gevoeligheid bij registratie van volledige massaspectra. Dit rapport is bedoeld om een beeld te geven van wat de mogelijkheden van dit GC/MS systeem op dit terrein zijn. In de eerste twee hoofdstukken wordt het functioneren van het database-systeem in zijn algemeenheid toegelicht waarna de reproduceerbaarheid van gegenereerde resultaten wordt besproken (retentietijden, massaspectra, kwantificering). Het rapport wordt afgesloten met een aantal aanbevelingen.

2 CONFIGURATIE APPARATUUR

Het GC/MS systeem bestaat uit een Finnigan GC-autosampler, een Varian 3400 gaschromatograaf, uitgerust met een Finnigan A200S autosampler, gekoppeld aan een Ion Trap massaspectrometer (Finnigan Mat, San Jose, Californië). Het geïntegreerde datasysteem en de aansturing van de GCMS zijn geïnstalleerd op een COMPAQ 386 20e/IBM compatibel personal computer (4 Mbyte RAM, 110 Mbyte harddisk).

De monsters werden splitloos geïnjecteerd op een J & W DB5 kolom ($L=25\text{m}$, i.d.= $0,25\text{mm}$, $df=0,12\text{ }\mu\text{m}$) met een injectievolume van $2\text{ }\mu\text{l}$ en als dragergas Helium, met een lineaire gassnelheid van ongeveer 35 cm/s .

Het temperatuurprogramma voor de gaschromatograaf is schematisch weergegeven in figuur 1 (injector= 260°C , transferline= 260°C , manifold= 260°C).

De ionisatie vond plaats met electron impact (EI) gebruikmakend van "autoionization control". De data-acquisitie vond plaats vanaf 4 minuten na injectie tot 45 minuten na injectie. Elke $1,1\text{ s}$ ($4\text{ }\mu\text{scans}$) werd het massaspectrum van $m/z\ 60$ - $m/z\ 500$ geregistreerd (zie fig.2).

Deze vorm van data-acquisitie nam, variërend met de monster samenstelling, tussen de 1 en 2 Mbyte aan geheugenruimte per analyse in beslag. De gebruikte pesticide-standaarden zijn afkomstig uit de voorraad RIKILT-standaarden en zijn opgenomen in ethylacetaat of iso-octaan. Als interne standaard werd PCB 198 gebruikt.

3 BIBLIOTHEEK ITS40

De database van de ITS40 bestaat feitelijk uit twee verschillende "bibliotheken" met gegevens over de afzonderlijke pesticiden aangemaakt. Deze twee bibliotheken zijn globaal van elkaar te onderscheiden in:

- de "Quantitation Calibration File" (=QCF), een bibliotheek die wordt gebruikt voor de automatische screening op en kwantificering van een set van geselecteerde pesticiden.
- de "Library File" (=LF) een bibliotheek voor de identificatie van onbekende componenten aan de hand van gedetecteerde pieken in het reconstructed ion chromatogram (RIC).

3.1 Quantitation Calibration File

Om een screening op pesticiden (gecombineerd met confirmatie) efficiënt te laten verlopen is het zinvol om gebruik te maken van de aanwezige kennis van de fysische eigenschappen van deze componenten door deze gegevens in te bouwen in de te gebruiken opsporingsmethode e.g.:

- Indien van component x bekend is dat deze (bij het gebruikte GC-programma) een retentietijd heeft van 550 s is het voldoende om slechts die massaspectra te analyseren die zijn geregistreerd in de periode van 530 s tot 570 s . Alle andere massaspectra die tijdens de gehele analyse zijn geregistreerd (98 % van de opgenomen massa-spectra) kunnen voor deze component buiten beschouwing worden gelaten.

- Indien het massaspectrum van een component weinig specifiek is (e.g. doordat het grote overeenkomst vertoont met het massaspectrum van de altijd aanwezige achtergrond of doordat het massaspectrum een (te) klein aantal intensieve karakteristieke ionen vertoont) moeten er andere criteria worden gesteld aan een positieve identificatie dan wanneer het massaspectrum van de component zeer specifiek is (b.v. doordat het massaspectrum een aantal zeer karakteristieke ionen vertoont).

In de database van de ITS40 zijn dergelijke gegevens, voor elke component, gecombineerd in de zgn. "Quantitation Calibration File" (= QCF).

Op dit moment zijn voor 150 componenten afzonderlijk de volgende, voor de opsporingsprocedure relevante, gegevens vastgelegd

- een gereduceerd massaspectrum: de m/z -waarden van de 16 belangrijkste ionen in het massaspectrum met de bijbehorende relatieve intensiteiten (dit zijn niet noodzakelijk de 16 intensiefste pieken).
- de retentietijd van de component (voor het gebruikte GC-programma).
- de grootte van het tijdsbereik waarbinnen de retentietijd van de bewuste component in ieder geval zou moeten vallen (indien deze in het geïnjecteerde monster aanwezig zou zijn).
- de mate waarin het in de QCF vastgelegde massaspectrum (16 m/z -waarden) moet overeenstemmen met het geregistreerde massaspectrum alvorens een positieve identificatie zal plaatsvinden.
- een ondergrens voor de signaal/ruis verhouding voor een positieve identificatie.

In dezelfde QCF zijn ook gegevens vastgelegd die gebruikt worden nadat een component aan de voor deze component vastgelegde eisen heeft voldaan en als "gevonden" is geregistreerd. Deze gegevens bestaan per component uit o.a.:

- de selectie van m/z -waarde(n) uit het massaspectrum die wordt/worden gebruikt om de absolute respons van deze component te meten (uitgedrukt in piekhoogte of piekoppervlakte in het RIC (=reconstructed ion chromatogram)).
- selectie van de component die wordt gebruikt als interne standaard om de relatieve respons van de gevonden component te berekenen.
- een calibratiecurve met de relatieve respons vs het gehalte (b.v. $\text{pg}/\mu\text{l}$) (de manier van gehalte berekening wordt per component ingesteld: lineaire/kwadratische curve).
- een aantal parameters m.b.t. de wijze waarop de integratie berekeningen moeten worden uitgevoerd.

Voorbeeld:

In figuur 3 zijn een aantal van de gegevens voor triazophos zoals ze zijn opgeslagen in de QCF samengevat: bij screening op triazophos worden de massaspectra die zijn opgenomen tussen 23:12 en 24:12 vergeleken met het massaspectrum zoals weergegeven in figuur 3. Indien dit spectrum zodanig in het opgenomen massaspectrum past dat de berekende "fit" (algoritme waarmee wordt berekend in welke mate de in de QCF vastgelegde "m/z-waarden/intensiteiten-lijst" (mass/int) voorkomt in het geregistreerde spectrum) groter is dan 850 (maximaal 1000), dan wordt triazophos als gevonden geregistreerd. Vervolgens wordt het chromatogram voor m/z161 herschreven en de piekhoogte en het piekoppervlakte worden bepaald.

Indien gewenst, wordt de respons relatief t.o.v. "component 1" (std. reference : 1), een interne standaard, berekend en aan de hand van de vastgelegde calibratiecurve wordt het gehalte (pg/ μ l) aan triazophos bepaald.

De operatie zoals weergegeven in het bovenstaande voorbeeld wordt uitgevoerd voor alle geselecteerde componenten. Dit resulteert uiteindelijk in een "quantitation report" zoals bijvoorbeeld is weergegeven in figuur 4.

3.2 Library File

De "Library File" (LF) is een compilatie van massaspectra van vnl. pesticiden. Deze massaspectra bestaan uit maximaal 50 m/z-waarden met de bijbehorende relatieve intensiteiten verdeeld over het massabereik m/z 60 tot m/z 500. Voor elke component zijn naast het massaspectrum de brutoformule en het molgewicht weergegeven (zie e.g. figuur 5).

De LF wordt in feite alleen gebruikt voor het identificeren van gevonden pieken in het reconstructed ion chromatogram (RIC) en bevat geen restricties die worden opgelegd door te verwachten retentietijden e.d. zoals bij de QCF. Deze bibliotheek is in feite bedoeld als een naslagwerk dat kan worden geraadpleegd indien er twijfel bestaat over de identiteit van een gevonden component. De LF bevat derhalve ook spectra van componenten waarop niet gescreend wordt maar die eventueel wel als piek in het RIC zouden kunnen voorkomen.

3.3 Opzoekprocedures

Naast de in 2.1 en 2.2 aangegeven verschillen tussen de inhoud van de twee "bibliotheken" zitten er met name verschillen in de met deze bestanden toegepaste opzoekprocedures.

In het geval van screening, waarbij de QCF wordt gebruikt wordt voor elke geselecteerde component voor een (klein) deel van het RIC berekend in welke mate het massaspectrum uit de QCF (16 pieken) past in de geregistreerde spectra (maximaal 440 pieken per spectrum) ("reverse Fit"= RFIT).

Het voordeel van deze RFITT is dat wanneer b.v. 2 componenten op hetzelfde moment elueren, hetgeen resulteert in een gemengd massaspectrum, de zuivere massaspectra van beide componenten in dit ene mengspectrum zijn terug te vinden (zie figuur 6); beide spectra "passen" in het mengspectrum. Wanneer van het geregistreerde (gemengde) massaspectrum was uitgegaan zou dit door het datasysteem (en ook door een ongevoelend oog) niet herkend worden als een spectrum dat de som is van de desbetreffende componenten; dergelijke referentiespectra bestaan immers niet. In deze opzoekmethode schuilt uiteraard ook het nadeel dat in geregistreerde complexe massaspectra veel gereduceerde massaspectra zijn terug te vinden. (Het is dus belangrijk dat de reductie van het aantal pieken in de massaspectra voor de QCF weloverwogen plaats vindt waarbij zowel een hoge relatieve intensiteit als ook een hoge selectiviteit van belang kunnen zijn (e.g. m/z 207 is bijvoorbeeld weinig karakteristiek). Dit laatste betekent dat wanneer de gebruikte screeningsprocedure "positieven" oplevert, de positieven met een verhoogde kans op vals positief (e.g. wanneer de signaal/ruis verhouding laag is) "handmatig" gecontroleerd moeten worden. In deze gevallen worden de geregistreerde spectra gecontroleerd met b.v. de meer gedetailleerde massaspectra uit de LF en door het toepassen van meer selectieve "background subtraction".

De kracht van de opzoekprocedure met de QCF ligt in het feit dat per component het spectrum uit de QCF met slechts ongeveer 2 % van de opgenomen spectra wordt vergeleken; er wordt steeds één gereduceerd massaspectrum vergeleken met een klein aantal van de totaal geregistreerde massaspectra (dit in tegenstelling tot ouderwetse procedures waarbij alle geregistreerde massaspectra werden vergeleken met alle massaspectra van de componenten waarop gescreend werd). De totale analysetijd neemt uiteraard wel toe met het aantal componenten waarop gescreend wordt en het aantal componenten dat wordt aangetroffen (e.g. 10 minuten voor screening op 150 componenten waarbij er 10 worden aangetroffen; inclusief peaksmoothing, piekoppervlakteberekening voor geselecteerde ionen e.d.).

De LF kan in principe ook voor screening worden gebruikt maar het uitgangspunt is hierbij geheel anders. In dit geval wordt eerst het RIC geïnspecteerd op de aanwezigheid van pieken en daar waar zich een piek bevindt, wordt getracht het geregistreerde massaspectrum (met of zonder selectieve "background subtraction") te identificeren m.b.v. de opgeslagen massaspectra in de LF. Hierbij kan gekozen worden om het spectrum uit de LF te laten passen in het geregistreerde massaspectrum (RFITT) of om het geregistreerde massaspectrum te laten passen in het spectrum uit de LF (FITT) of de mate van overeenkomst tussen het geregistreerde spectrum en het spectrum in de LF te meten als een gemiddelde van RFITT en FITT (= purity). Voor alle de drie mogelijkheden zijn zowel voor- als nadelen aan te voeren afhankelijk van de te onderzoeken piek/component.

Bij een dergelijke opzoekmethode worden alle pieken boven een bepaalde (in te stellen) grenswaarde in het RIC geïnspecteerd en alle "pieken" onder deze grenswaarde niet.

Indien deze grenswaarde laag wordt ingesteld, in de hoop geen enkele aanwezige component te missen, is het aantal als piek herkende plaatsen in het RIC erg groot en kost de screening veel tijd. Indien de grenswaarde hoger wordt ingesteld zullen er onherroepelijk componenten gemist worden; het risico op vals negatieven wordt groter (dit zal b.v. het geval zijn wanneer de achtergrond door de matrix hoog is en de pesticiden in relatief lage gehalten aanwezig zijn). Bovendien zullen de uitkomsten die niet automatisch uitgesorteerd worden nog geïnterpreteerd moeten worden. Screening met een dergelijke opzoekprocedure vereist relatief veel tijd en mankracht.

Het voordeel van het gebruik van de LF binnen een dergelijke methode is dat naar believen verschillende selectieve datamanipulaties op GC-pieken/massaspectra kunnen worden toegepast.

4 REPRODUCEERBAARHEID

Een belangrijk criterium voor de kwaliteit van een analysesysteem is de mate waarin de door het systeem gegenereerde resultaten reproduceerbaar zijn (hoe betrouwbaar is een verkregen uitkomst). Voor screeningsdoeleinden is het in de eerste plaats van belang dat de identificatie van de stoffen betrouwbaar is: geen vals negatieven, geen vals positieven. In de tweede plaats is het van belang een redelijke schatting te kunnen maken van het gehalte aan geïdentificeerde component.

4.1 Identificatie

Globaal vindt de identificatie van onbekende componenten plaats op grond van de gemeten retentietijden en massaspectra. De reproduceerbaarheid van deze parameters is derhalve van wezenlijk belang voor een eenduidige identificatiemethode.

4.1.1 Retentietijden

De reproduceerbaarheid van de retentietijden (gemeten op de top van de chromatografische piek) is voor alle gemeten componenten ruimschoots voldoende uitgaande van een "search window" van 30 s, waarbinnen de retentietijd moet vallen om een positieve identificatie van het massaspectrum mogelijk te maken (zie 2.1). Ter illustratie is in tabel 1 voor een aantal pesticiden de variatie in de retentietijd weergegeven voor 10 analyses gespreid over een periode van 3 maanden.

4.1.2 Massaspectra

Een maat voor de reproduceerbaarheid van het massaspectrum van een verbinding is de variatie in de relatieve intensiteiten van de ionen in het massaspectrum van die verbinding bij herhaalde analyses.

Deze variaties in het massaspectrum kunnen op verschillende manieren worden uitgedrukt: b.v.

- a0) de intensiteiten van de afzonderlijke ionen worden relatief t.o.v. de totale ionenstroom (van het massaspectrum) gemeten en de variatiecoëfficiënt (voor massaspectra) per ion wordt berekend.
- a1) de gemiddelde variatiecoëfficiënt wordt als maat voor de reproduceerbaarheid genomen.
- a2) afhankelijk van de m/z-waarde krijgen de verschillende berekende variatiecoëfficiënten een verschillend gewicht toegekend waarna de gemiddelde waarde als maat voor de reproduceerbaarheid wordt genomen.
- a3) methode a1 wordt alleen toegepast op een selectie van ionen (e.g. de 16 m/z-waarden van de gereduceerde massaspectra in de QCF, de 4 intensiefste ionen)
- a4) methode a2 wordt alleen toegepast op een selectie van ionen (e.g. de 16 m/z-waarden van de gereduceerde massaspectra in de QCF, de 4 intensiefste ionen)
- a5) het aantal maal dat de variatiecoëfficiënt boven of onder een bepaalde grens ligt is een maat voor de reproduceerbaarheid (e.g. 5 % van ionen in het massaspectrum heeft een variatiecoëfficiënt > 10 %)
of:
- b0) de intensiteiten van de afzonderlijke ionen worden genormeerd op de "base peak" in het massaspectrum en de variatiecoëfficiënt (voor n massaspectra) wordt per ion berekend.
- b1) - b5) analoog aan a1 t/m a5

De meest ideale maat voor een betekenishebbende reproduceerbaarheid wordt in feite gegeven door methode a2 waarbij het gewicht aan de verschillende variatiecoëfficiënten wordt toegekend op grond van de significantie van de verschillende m/z-waarden. Dit laatste impliceert dat per verbinding het volledige fragmentatiepatroon bekend zou moeten zijn. Een dergelijke methode is helaas praktisch niet uitvoerbaar.

Om toch een uitspraak te kunnen doen over de gemiddelde "performance" van de ITS40 is de meest praktische benadering om steekproefsgewijs voor een aantal verbindingen een aantal significante ionen te selecteren en hiervoor de variatiecoëfficiënt te berekenen. In de onderstaande gevallen is het massaspectrum in berekening genomen op de manier zoals het standaard in de automatische screeningsprocedure met het spectrum uit de QCF wordt vergeleken (en zoals het dus ter identificatie wordt aangeboden): vijf geregistreerde spectra uit de GC-piek worden gemiddeld minus het gemiddelde van vijf achtergrond spectra (met de huidige software is deze standaardprocedure niet aan te passen om b.v. meer "achtergrond" te verwijderen of om de spectra in de GC-piek te selecteren). Om de berekening van de variatiecoëfficiënten te vereenvoudigen is de totale ionenstroom gebaseerd op ionen met een relatieve intensiteit (t.o.v. de base peak) > 10%.

In figuur 7 zijn de massaspectra (uit de LF) weergegeven van phorate, vinchlozolin en coumaphos en in tabel 2 zijn de berekende variatiecoëfficiënten weergegeven voor een selectie van ionen uit de verschillende massaspectra; voor phorate zijn de variaties in de intensiteiten voor een vijftal ionen weergegeven in figuur 8. Phorate is als 100 pg/ μ l oplossing 12 geïnjecteerd, vinchlozolin is als 500 pg/ μ l oplossing 10 maal geïnjecteerd en coumaphos is als 400 pg/ μ l oplossing 10 maal geïnjecteerd. Om een idee te geven van de respons van deze componenten, op de vermelde concentratieniveau, zijn de respectievelijk delen uit het RIC weergegeven in figuur 9,10,11.

Een andere meer praktische benadering om na te gaan in hoeverre de reproduceerbaarheid van de massaspectra (on)voldoende is door:

- na te gaan of de referentiespectra, opgeslagen in de QCF/LF, na b.v. 1 jaar nog steeds in dezelfde mate overeenkomen met de spectra van recent geregistreerde standaardoplossingen als met een jaar geleden opgenomen spectra.
- na te gaan of de referentiespectra nog steeds geschikt zijn voor een eenduidige identificatie van de desbetreffende component. Deze vorm van reproduceerbaarheid is b.v. uit te drukken in een variatiecoëfficiënt voor de purity in de tijd.

4.1.3 Discussie m.b.t reproduceerbaarheid

Bij de bovenstaande variatiecoëfficiënten (4.1.2) moeten een aantal kantekeningen worden geplaatst alvorens te kunnen concluderen of deze resultaten "goed of slecht" zijn:

- De ionen die vermeld staan zijn een selectie uit een "full spec" geregistreerd massaspectrum. In het geval van de automatische screening met de QCF worden een 16-tal ionen vergeleken en het totale patroon (16 m/z-waarden met 16 intensiteiten) is een criterium voor identificatie (bij gebruik van spectra uit de LF is dit patroon vaak nog complexer).

Dit uitgangspunt is een geheel andere dan wanneer b.v. de intensiteiten van slechts 2 ionen wordt gemeten. Het is dan ook niet terecht om criteria die zijn aangelegd voor "single/multiple ion detection" te gebruiken als maatstaf voor deze identificatiemethode (hoewel veel verbindingen ook op lage niveaus aan dergelijke criteria zouden kunnen voldoen).

- Bij patroonherkenning is de betekenis van dezelfde variatiecoëfficiënt bij ionen met een hoge relatieve intensiteit duidelijk groter dan bij ionen met een lage relatieve intensiteit: wanneer een intensiteit fluctueert tussen 9-11 is dit in het totale patroon van een massaspectrum van minder invloed dan wanneer de intensiteit fluctueert tussen 90-110. Bij de interpretatie van de variatiecoëfficiënten moet derhalve ook de intensiteit van het ion in aanmerking worden genomen.

- De vermelde variatiecoëfficiënten hebben m.n. wat betreft coumaphos betrekking op zgn. "worst cases". Dit betekent in het geval van coumaphos: een component met een "slechte chromatografie" en een signaal/ruis verhouding in het RIC die zeer laag is (zie figuur 8). Gebruikmakend van de automatische opzoekprocedure met de QCF werd in alle gevallen (10 injecties) coumaphos wel als zodanig geïdentificeerd.
- Het bovenstaande impliceert dat, wanneer een (gereduceerd) massaspectrum en de gemeten retentietijd worden gebruikt als criteria voor de identificatie van een pesticide, de voorwaarden die aan de gemeten variatiecoëfficiënten worden gesteld geheel andere kunnen zijn dan de voorgestelde (te) algemene EG-regelgeving (10% regel voor EI).
- Aangezien de variaties in de relatieve intensiteiten van de ionen in de massaspectra van phorate en vinchlozolin representatiever zijn voor de voor screening vastgelegde pesticiden dan coumaphos kan gesteld worden dat de reproduceerbaarheid van de massaspectra van deze pesticiden (ook op lage niveaus) goed is.
- Getallen voor variaties van de purity in de tijd (zie 4.1.2) zijn uiteraard op dit moment nog niet echt te melden. De spectra die als eerste zijn opgeslagen in de database zijn echter indientiek aan onlangs geregistreerde spectra van deze componenten op gelijke concentratieniveaus (tijdspanne van 3/4 jaar, purity is maximaal), hetgeen van een goede massaspectrometer verwacht mag worden.
- De grootte van de variatiecoëfficiënten is echter van groter belang voor de relatieve intensiteiten van de ionen die geselecteerd zijn voor de kwantificering (zie 3.2).

4.2 Kwantificering

De gehaltebepaling van de verschillende componenten is gebaseerd op de bepaling van het piekoppervlakte van geselecteerde ionen in het RIC.

Nadat een verbinding als zodanig is geïdentificeerd wordt de respons gemeten door de intensiteit van slechts een aantal (voor deze verbinding) geselecteerde ionen in de tijd te meten: het RIC wordt weergegeven voor een beperkt aantal ionen en het oppervlakte van de piek in dit RIC wordt bepaald.

Deze bepaling wordt eerst uitgevoerd voor de interne standaard en vervolgens voor "positieven". Met de relatieve respons (piekoppervlakte component gedeeld door piekoppervlakte interne standaard) wordt op grond van een (op overeenkomstige wijze bepaalde) ijklijn het gehalte berekend. Zoals al eerder aangegeven worden de selectie van ionen en bijbehorende ijklijn per component vastgelegd in de QCF waardoor het mogelijk wordt de gehaltebepaling volledig automatisch te laten verlopen. (Het is uiteraard ook mogelijk om de beschreven kwantificering stapsgewijs uit te voeren).

4.2.1 Discussie m.b.t kwantificering

Het grote voordeel van de kwantificering op grond van één of enkele ionen is bij juiste keuze van deze ionen de aanzienlijke verbetering van de signaal/ruisverhouding (zie b.v. figuur 9). De juiste keuze bestaat derhalve hierin dat ionen gekozen worden met een hoge signaal/ruisverhouding: ionen met een hoge relatieve intensiteit in het massaspectrum van de te meten component en met een lage relatieve intensiteit in het massaspectrum van de achtergrond. Onder achtergrond moet hier worden verstaan:

- de permanente achtergrond afkomstig van e.g. kolom materiaal, vervuiling in de bron etc.
- coëluerende componenten: e.g. pirimiphos-methyl en fenitrothion hebben dicht bij elkaar liggende retentietijden.

Indien beide componenten in een monster aanwezig zijn levert dit in het total ion current chromatogram slechts één piek op (TOT in figuur x) waarmee de afzonderlijke componenten niet zijn te kwantificeren. Door nu het RIC weer te geven voor die ionen die exclusief zijn voor de twee afzonderlijke componenten ontstaan er twee component-specifiek responsen die geschikt zijn om deze componenten te kwantificeren (m/z 305 en m/z 260 in figuur 12).

Teneinde ervoor te zorgen dat niet alleen het ruisniveau laag is maar ook het signaal zo hoog mogelijk is kan voor de kwantificering gebruik gemaakt worden van de som van de intensiteiten van een aantal specifieke ionen (1,2,3 of een range van ionen uit het massaspectrum).

De optimale balans tussen signaal en ruis wordt uiteraard medebepaald door de matrix waarin de componenten gemeten worden. Het is derhalve raadzaam om wanneer in een nieuwe matrix gemeten wordt de optimale keuze van kwantificeringsionen te controleren.

Een andere belangrijke keuze parameter is de reproduceerbaarheid van de relatieve intensiteit van de geselecteerde ionen. Zoals uit tabel 1 (4.1.2) blijkt is deze niet voor alle ionen in het massaspectrum hetzelfde. Het is dus ook belangrijk om ionen in de QCF te selecteren die een lage variatiecoëfficiënt hebben voor hun relatieve intensiteit: een ion voor de kwantificering met een grote variatiecoëfficiënt voor de relatieve intensiteit kan immers geen nauwkeurige kwantificering opleveren. Het moge duidelijk zijn dat, wanneer bovenstaande punten in de keuze van de ionen voor de kwantificering worden betrokken, dit niet altijd automatisch leidt tot selectie voor de QCF van het intensiefste ion of de drie intensiefste ionen uit het referentie-massaspectrum.

4.2.2 Kwantificeringsexperimenten

Om de mate van reproduceerbaarheid van de kwantificering te demonstreren is een testmengsel met 10 pesticiden 13 maal geïnjecteerd en zijn voor de afzonderlijke injecties de gehalten voor de pesticiden bepaald.

Zoals uit de resultaten uit tabel 3 blijkt kan een gehaltenbepaling voor een verbinding als phorate op een relatief laag niveau zeer nauwkeurig plaats vinden. Voor componenten die onder de gebruikte GC-omstandigheden een slechte chromatografie hebben (e.g. coumaphos) is het toch mogelijk een redelijke indicatie van het gehalte te geven op een niveau dat onder de gevestigde normen ligt.

5 GEVOELIGHEID

De gevoeligheid van een "totale multiresidue pesticide screeningsmethode" wordt enerzijds bepaald door de opwerkingsprocedure en anderzijds door de detectiemethode.

Aangezien het rendement van de opwerkingsprocedure sterk afhankelijk is van de matrix van waaruit de pesticiden geëxtraheerd moeten worden, wordt in dit rapport volstaan met aan te geven wat de ondergrenzen zijn voor identificatie van absoluut (in de GCMS) geïnjecteerde hoeveelheden pesticiden (zie bijlage 1).

De gehalten die zijn aangegeven als NVI (Niveau Voor Identificatie) zijn gebaseerd op metingen van standaardoplossingen en identificatie is tenminste op het vermelde niveau mogelijk. Indien voor phorate het NVI is gesteld op 100 pg/ μ l betekent dit dat het laagste niveau van de standaardoplossingen 100 pg/ μ l was waarop nog identificatie heeft plaatsgevonden.

Aangezien kwantificering plaats vindt na identificatie is het niveau voor de identificatie automatisch ook het niveau vanwaar af kwantificering kan plaatsvinden.

6 PRAKTIJK

De grote waarde van de "multiresidue screenings methode" moet uiteraard in de toekomst nog blijken. Toch zijn er een aantal resultaten te melden waaruit blijkt dat de methode in de praktijk kan werken.

6.1 Groente- en fruitmonsters waaraan pesticiden zijn toegevoegd

Om na te kunnen gaan of de screeningsprocedure ook functioneert indien in wordt uitgegaan van groente- en fruitextracten zijn extracten van o.a. paprika's, waspeen, tomaten, komkommer en appels gespiked met een mengsel van pesticiden en vervolgens geanalyseerd. Zoals in voorgaande

paragrafen is vermeld hoeft een toename van de achtergrond in het RIC als gevolg van matrixcomponenten, met de relatief eenvoudige, snelle opwerking die gebruikt is, geen bezwaar te zijn om de aanwezige pesticiden te detecteren en te identificeren.

6.2 Screening van sla- en spinaziemonsters

In opdracht van Konsumenten Kontakt is onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in kasgroenten.

Het onderzoek is specifiek gericht op de in kasteelt van sla en spinazie toegepaste middelen.

In tabel 4 zijn deze stoffen genoemd alsmede de tolerantie en de bepaalbaarheidsgrens. De resultaten van het uitgevoerde onderzoek zijn voor sla vermeld in tabel 5. In de 19 geanalyseerde monsters spinazie kon slechts in twee monsters Permethrin aangetoond worden en wel 0,24 en 0,13 mg/kg.

7 CHEMISCHE IONISATIE

De eerste resultaten van de metingen met de ITS40 onder CI- condities zijn of worden elders beschreven. In z'n algemeenheid kan echter wel worden geconstateerd dat de gevoeligheid onder CI-condities veel geringer is dan onder EI condities en dat de zgn. CI spectra hoogst zelden vrij zijn van belangrijke EI-bijdragen.

Het werken met de ITS40 onder CI-condities heeft , de fabrikant, inmiddels tot een aantal technische verbeteringen geroept die geresulteerd hebben in het op de markt brengen van een "nieuwe Finnigan MAT machine" de "MAGNUM". De op het RIKILT aanwezige ITS40 heeft inmiddels een "upgrading" tot een "MAGNUM" ondergaan.

De resultaten onder chemische ionisatie-omstandigheden worden ter zijner tijd in een rapport vastgelegd.

8 CONCLUSIE

De ITS40 is zeer geschikt voor de simultane detectie, conformatie en kwantificering van een groot aantal vluchtige pesticiden, in een aantal matrices, op een laag concentratie-niveau (50-300 pg/ μ l).

De suggestie, door de fabrikant, dat de pesticiden in zijn algemeenheid op een niveau van 10-100 pg/ μ l kunnen worden geïdentificeerd en gekwantificeerd is een onjuiste.

Voor een aantal pesticiden is de huidige combinatie van GC-kolom en GC-temperatuurprogramma niet geschikt waardoor een volledige screeningsmethode moeilijk te verwezenlijken is.

De volledige automatisering van injectie tot en met betrouwbare rapportage vereist nog de nodige aanpassingen in de software (met een grondige kennis van de proceduretaal). Na aanschaf van de zgn "TRACKER" software is dit mogelijk zelf uit te voeren).

9 AANBEVELINGEN

Naar aanleiding van de eerste ervaringen met de ITS40 zijn er een aantal aanbevelingen te doen m.b.t. het gebruik en aan te brengen veranderingen:

- Installatie van opgewaarde software ("TRAKER"). De nieuwste versie biedt een aantal mogelijkheden die van groot praktisch nut zijn, e.g. de "update" van retentietijden van de pesticiden is aanzienlijk eenvoudiger en bovendien worden deze tijden "ge-update" onafhankelijk van de ingevoerde spectra (met de huidige software wordt automatisch ook het spectrum in de QCF vervangen door het spectrum dat is geregistreerd bij de nieuw ingevoerde retentietijd). Het gewicht dat aan verschillende ionen in het spectrum in de QCF kan met de nieuwe software eigenhandig worden toegekend.
- Gebruik van een tweede vluchtiger interne standaard (vluchtiger dan PCB198), voor een optimale kwantificering van de "vroeg" eluerende componenten.
- Het toepassen van een gaschromatografische kolom met een hoge selectiviteit en scheidend vermogen verdient aanbeveling.
- Het is te verwachten dat de methode aanpassing behoeft om, naast meerdere gewassen, een aantal andere matrices namelijk melk en melkprodukten, veevoeders, dranken en dierlijke vetten te kunnen analyseren.
- De methode die voor gewassen is opgezet, dient thans ontwikkeld te worden tot een volwaardig, volledig automatisch werkend meetsysteem (expert-systeem), waarbij de voorbewerking geminiaturiseerd is (J.A. van Rhijn (1991), zodat koppeling via een LC-GC interface mogelijk is. Ook dienen dataverwerking, de identificatie- en kwantificeringsprocedures, verder te worden ontwikkeld cq verbeterd te worden zodat automatisering mogelijk is.

REFERENTIES

G.C. Mattern, G.M. Singer, J. Louis, M. Robson, J.D. Rose (1990), J. of Agricultural and Food Chemistry, Vol 38(2), 402-407

M. Monsour, D. Borcello, J. Albouiges (1992); The Science of Total Environment., 123/124, 45-56.

J.A. van Rhijn (1991); J. Chromatography, 552: 517-526

L.G.M.Th Tuinstra, A.H. Roos, A.M. Matser, W.A. Traag, J.A. van Rhijn (1991); Fresenius J. Anal Chem., 339:384-386

Tabel 1 Variatie in de retentietijden van enkele pesticiden

Component:	Retentietijd (s):
phorate	631 $\pm$ 1
methidathion	1818 $\pm$ 3
triazophos	1620 $\pm$ 3
coumaphos	2280 $\pm$ 2

Tabel 2 Variatiecoëfficiënten (VC) voor geselecteerde ionen van phorate (100 pg/ μ l), vinchlozolin (500 pg/ μ l), coumaphos (400 pg/ μ l)

Phorate:		Vinchlozolin:		Coumaphos:	
ion	VC	ion	VC	ion	VC
m/z 75	4,5%	m/z 173	3,1%	m/z 97	27,0%
m/z 97	9,3%	m/z 267	10,9%	m/z 210	18,2%
m/z 121	7,1%	m/z 269	11,6%	m/z 226	13,7%
m/z 231	6,7%	m/z 323	9,9%	m/z 334	7,3%
m/z 260	7,7%	m/z 325	6,1%	m/z 362	10,2%
				m/z 364	19,2%
gemiddeld	7,0%	gemiddeld	8,3%	gemiddeld	15,9%

Tabel 3 Variatiecoëfficiënt in de bepaalde gehalten van 10 pesticiden in een testmengsel met PCB198 als interne standaard (700 pg/ μ l).

Pesticide	Gehalte (pg/ μ l)	Variatiecoëfficiënt
phorate	100	5%
pirimiphos(-methyl)	150	6%
malathion	200	7%
chloorpyrifos(ethyl)	150	5%
chlorfenvinphos	500	8%
methidathion	250	9%
triazophos	400	11%
azinphos(-ethyl)	400	17%
azinphos(-methyl)	500	17%
coumaphos	400	25%

Tabel 4 Tolerantie en bepaalbaarheidsgrens (mg/kg)

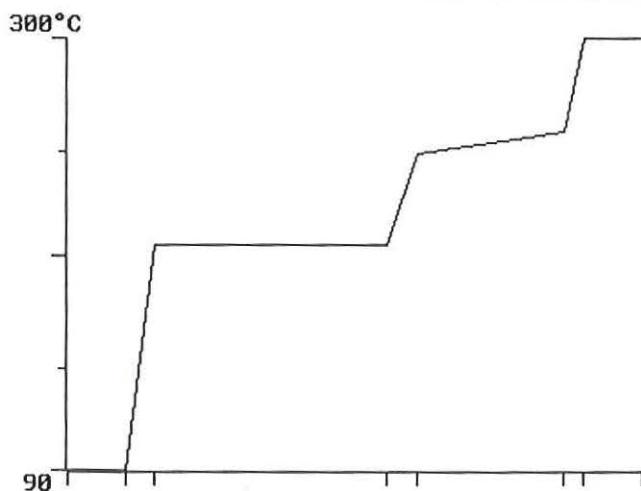
Bestrijdings middel	Tolerantie		Bepaalbaar- heidsgrens
	sla	spinazie	
Diazinon	0,5	0,5	0,02
Dichlofluanide	10,0	5,0	0,10
Dichoorvos	0,1	0,1	0,02
Heptenofos	0,1	0,1	0,02
Iprodion	5,0	5,0	0,05
Malathion	3,0	3,0	0,02
Mevinfos	0,5	0,5	0,05
Pirimicarb	1,0	1,0	0,05
Propoxur	3,0	3,0	0,05
Vinchlozolin	5,0	1,0	0,02

Tabel 5 Het gehalte aan bestrijdingsmiddelen in sla

RIKILT nummer	Bestrijdingsmiddel (mg/kg op produkt)	
55255	-	
55256	-	
55257	-	
55259	-	
55261	Iprodion	0,58
55262	-	
55265	Permethrin	0,08
55266	-	
55268	-	
55269	Vinchlozolin	0,35
	Iprodion	0,37
55270	Vinchlozolin	0,06
	Iprodion	0,09
55271	Iprodion	0,14
55274	-	
55275	Vinchlozolin	0,11
	Iprodion	3,3
55277	Iprodion	0,47
55279	Iprodion	0,35
55280	Iprodion	0,41
	Permethrin	0,05
55292	-	
55294	-	
55297	Vinchlozolin	0,16
	Iprodion	0,64

- = Geen bestrijdingsmiddel aantoonaar met een gehalte groter dan de bepaalbaarheidsgrens (zie tabel 4)

File Control Segment Parameters Configuration Exit
GC Method: C:\ITS40\METHODS\PEST-48



Seg	Temp	Rate	Time	Total
1	90	0.0	5.00	5.00
2	200	44.0	2.50	7.50
3	200	0.0	20.00	27.50
4	245	16.6	2.71	30.21
5	255	0.8	12.50	42.71
6	300	25.0	1.80	44.51
7	300	0.0	5.00	49.51

Start °C
End °C
Rate °C/min
Time min

Column Injector Xfer Line Detector
Set 90 °C °C °C °C
Actual 249 °C 260 °C 260 °C 260 °C

Valve 1
Valve 2

Figuur 1. Temperatuurprogramma van de gaschromatograaf voor de pesticideanalyse.

File Segment Exit

Acquisition Method: C:\ITS40\METHODS\PEST-45

Current Segment: 1 of 1

Mass range to amu Ioniz. mode CI
Seconds/scan (4 uScans) Auto ion control OFF
Acquire time minutes Cal gas OFF
Fil/Mul delay seconds
Peak threshold count(s)
Mass defect mmu/100amu
Background mass amu

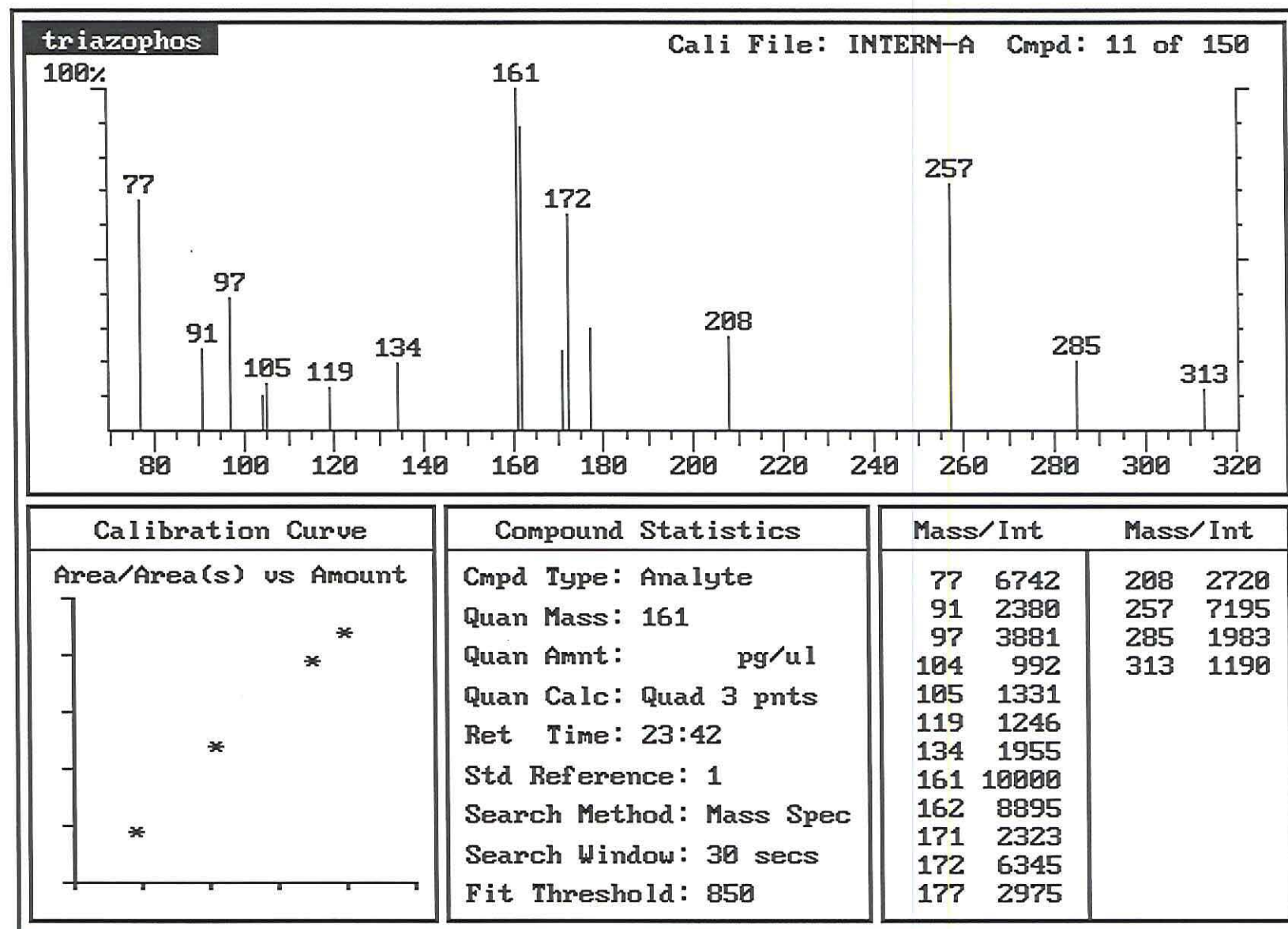
<Ctrl-S> - Select ioniz. mode
<Ctrl-T> - Toggle ion control
<Ctrl-C> - Cal gas toggle

PREVIOUS
SEGMENT

NEXT
SEGMENT

?

Figuur 2. Acquisitie-methode voor de pesticideanalyse.



Figuur 3. Samenvatting van de quantitation calibration file voor triazophos.

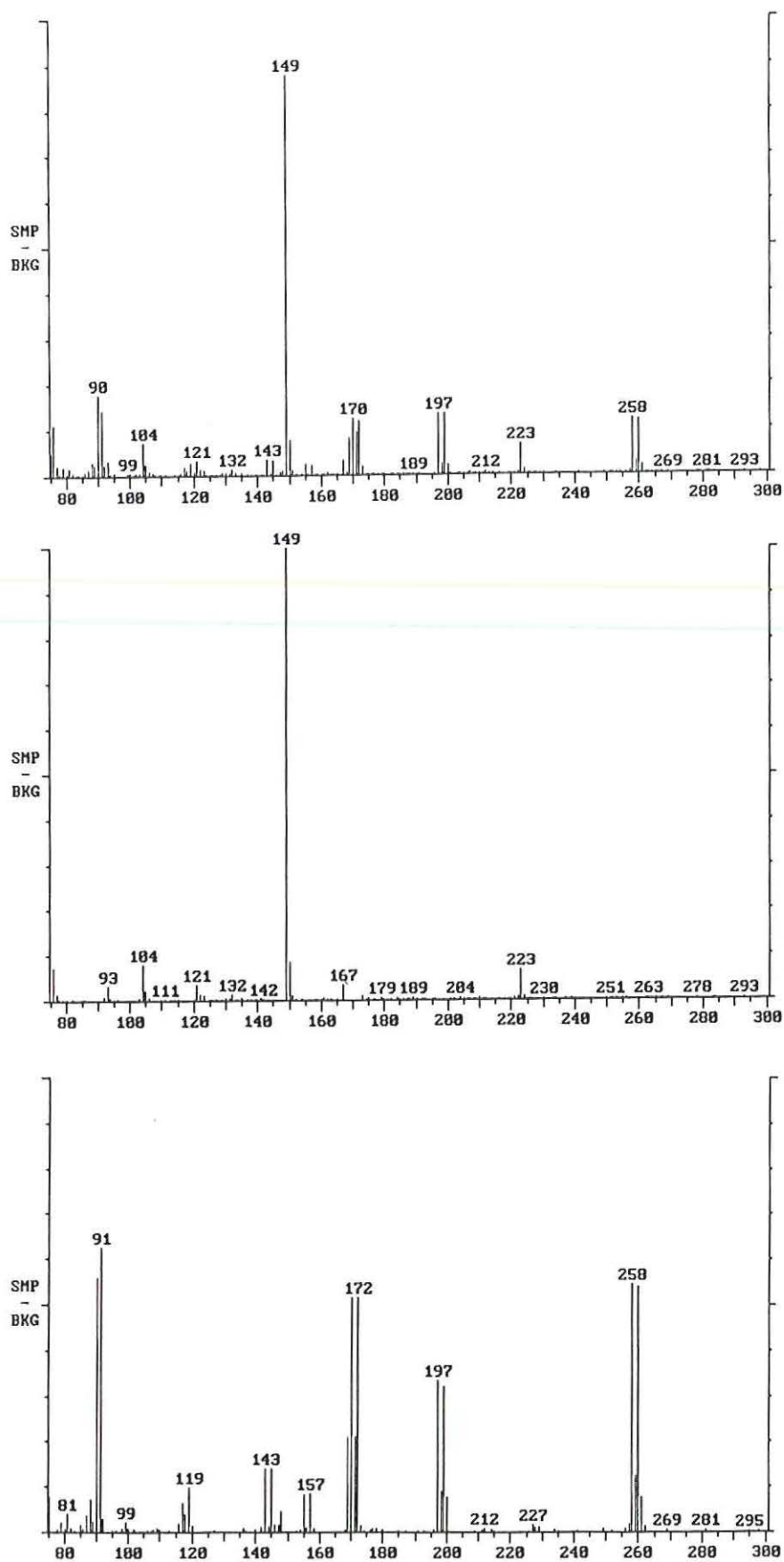
Quantitation Report Quanfile: CTEST-04
 Comment: OPLOSSING VOOR GPC
 Sorted via: Scan# of Peak ↑

Quan Entries: 13

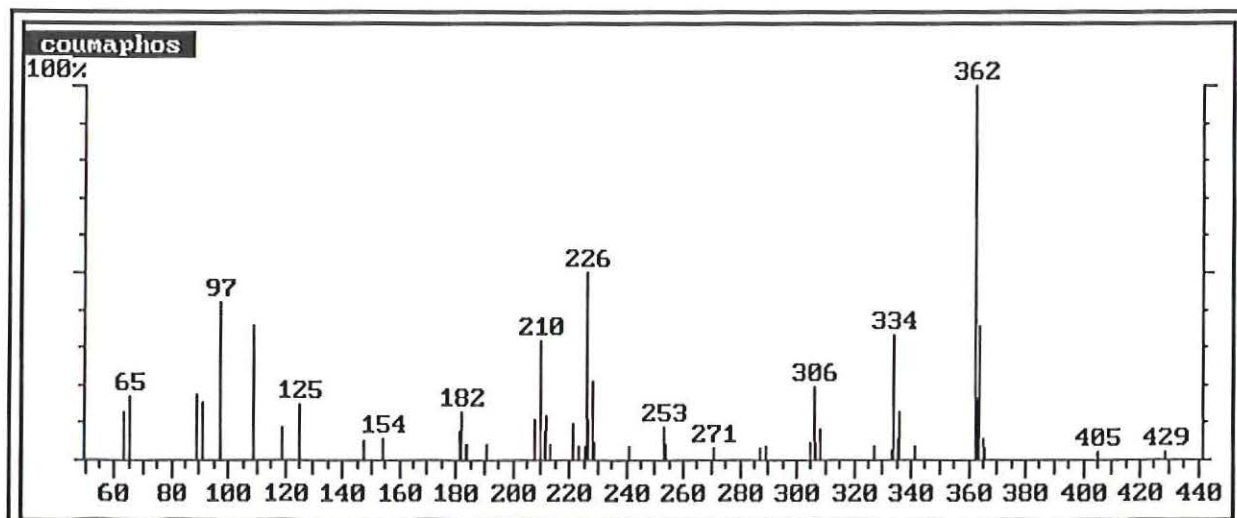
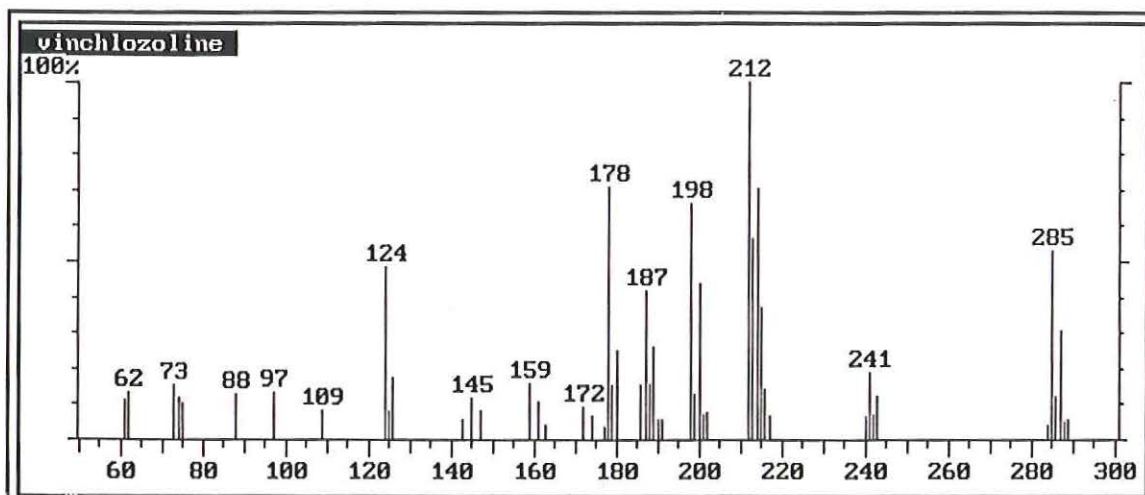
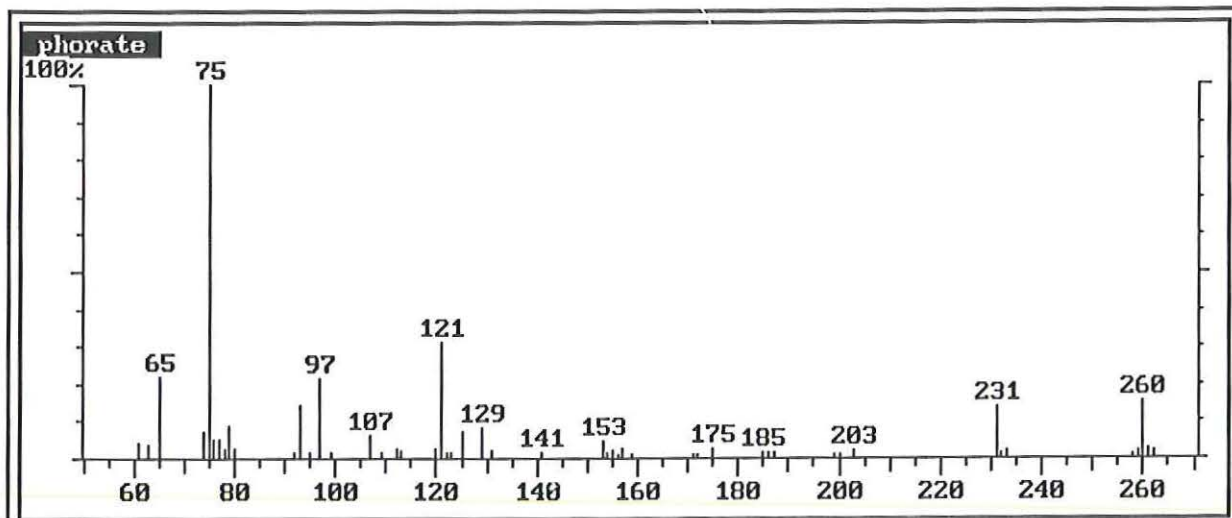
(S) = Standard

No	Name of Compound	S/N Ratio	Peak Area	Calc Amt(A)	Units
1	dichloorvos	71.3	2,040	32.917	pg/ul
2	mevinfos	132.8	8,186	224.486	pg/ul
3	heptenofos	22.0	612	47.499	pg/ul
4	propoxur	443.3	19,229	207.246	pg/ul
5	dimpylate=diazinon	159.2	7,584	192.102	pg/ul
6	pirimicarb	388.8	9,505	223.431	pg/ul
7	vinchlozolin	568.6	15,278	458.611	pg/ul
8	malathion	162.0	5,661	257.457	pg/ul
9	dichlofluanide	369.3	7,789	251.366	pg/ul
10	iprodition	16.2	2,184	375.777	pg/ul
11	PCB198	766.2	115,754	639.630	pg/ul
12	permethrin I	9.8	728	409.320	pg/ul
13	permethrin II	3.3	297	0.000	pg/ul

Figuur 4. Voorbeeld van een quantitation report.

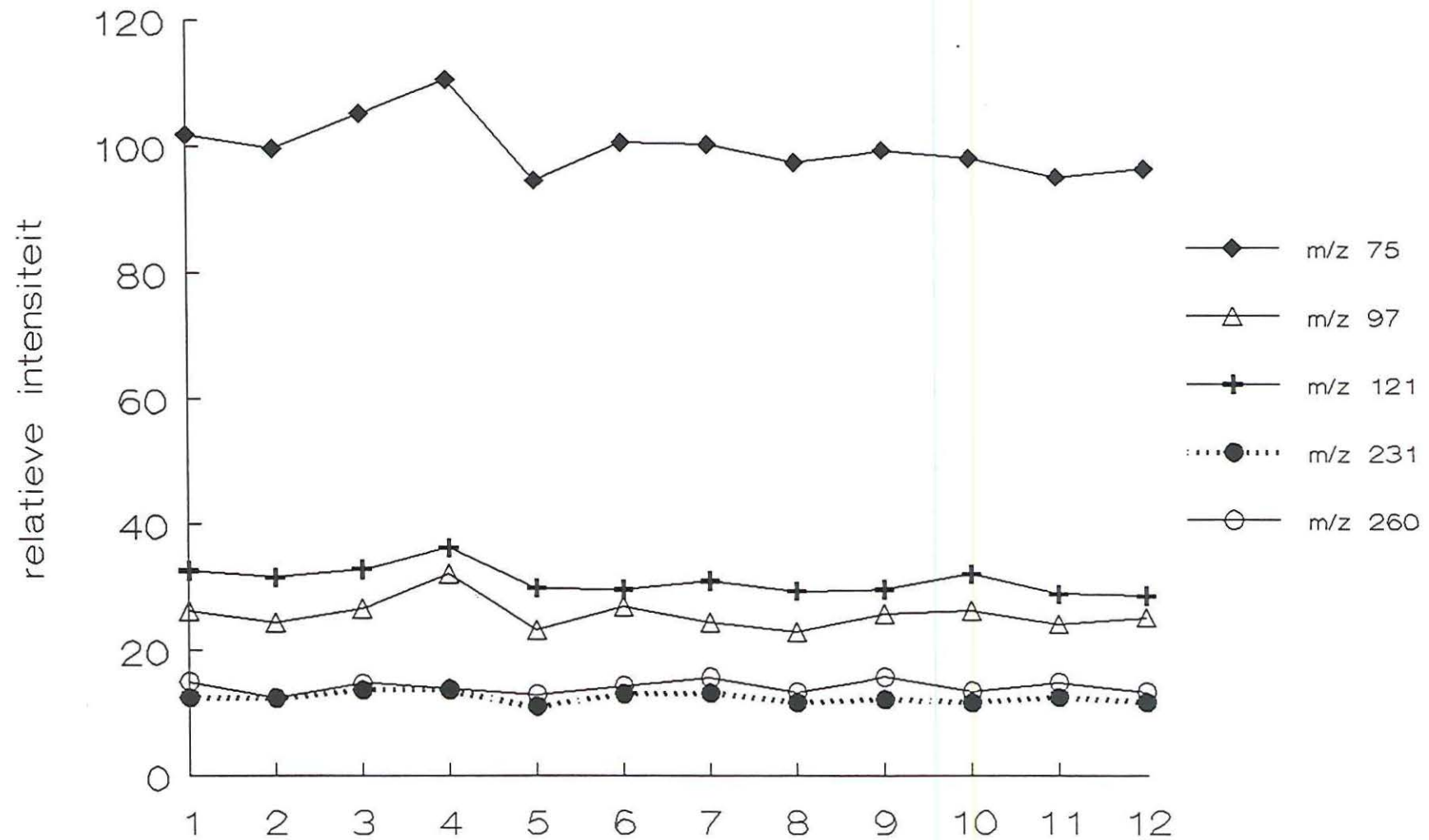


Figuur 6. Het registreerde "mengspectrum" (A) van de "zuivere" massaspectra van phtahlaat (B) en metobromuron (C) a.g.v. het coëluieren van deze twee componenten (D).

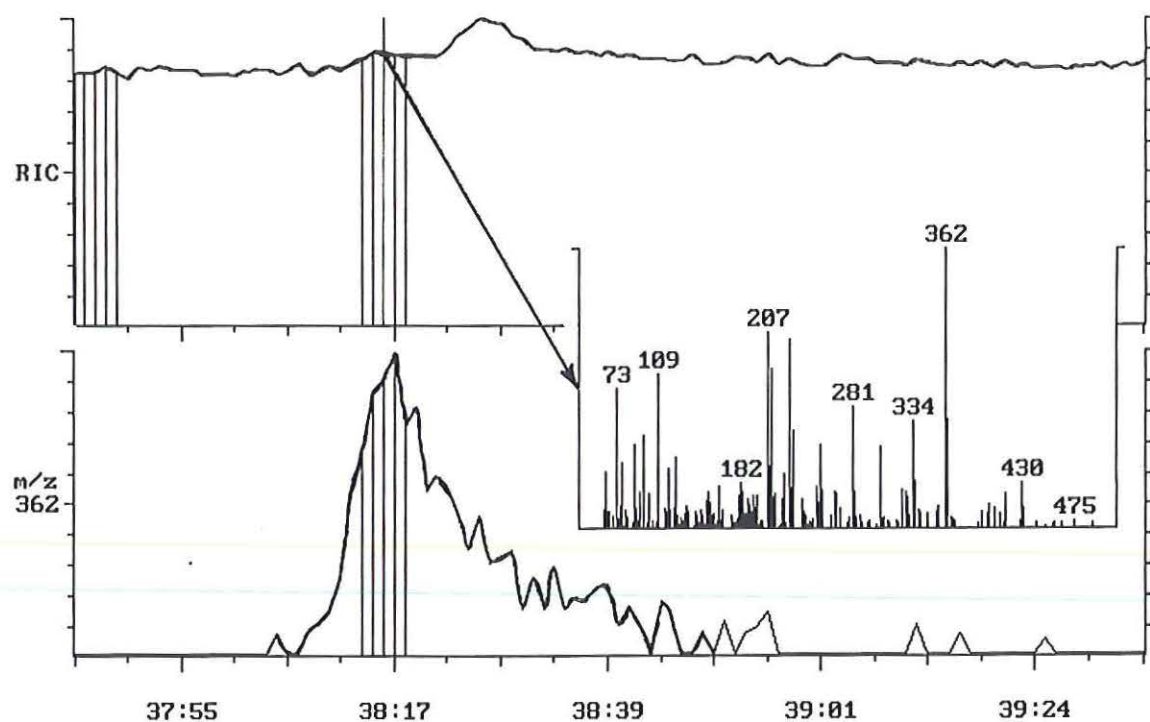


Figuur 7. Massaspectra van phorate, vinchlozolin en coumaphos zoals vastgelegd in de "library file".

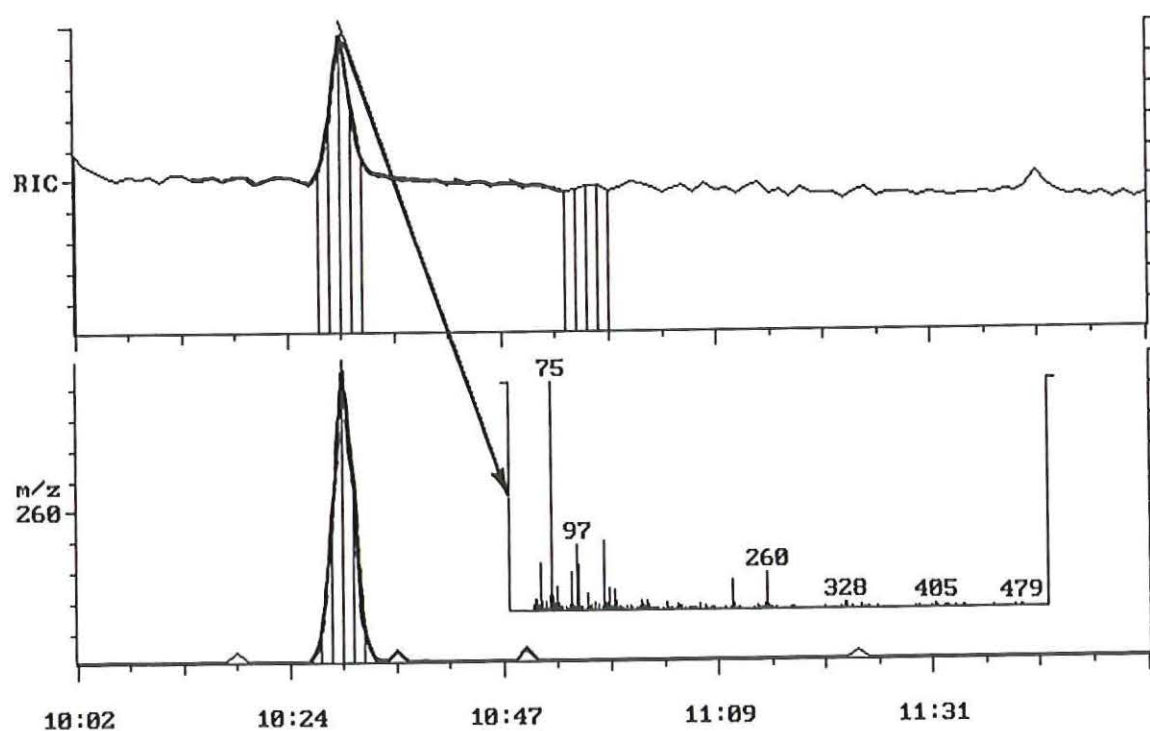
Phorate (100 pg/ul)



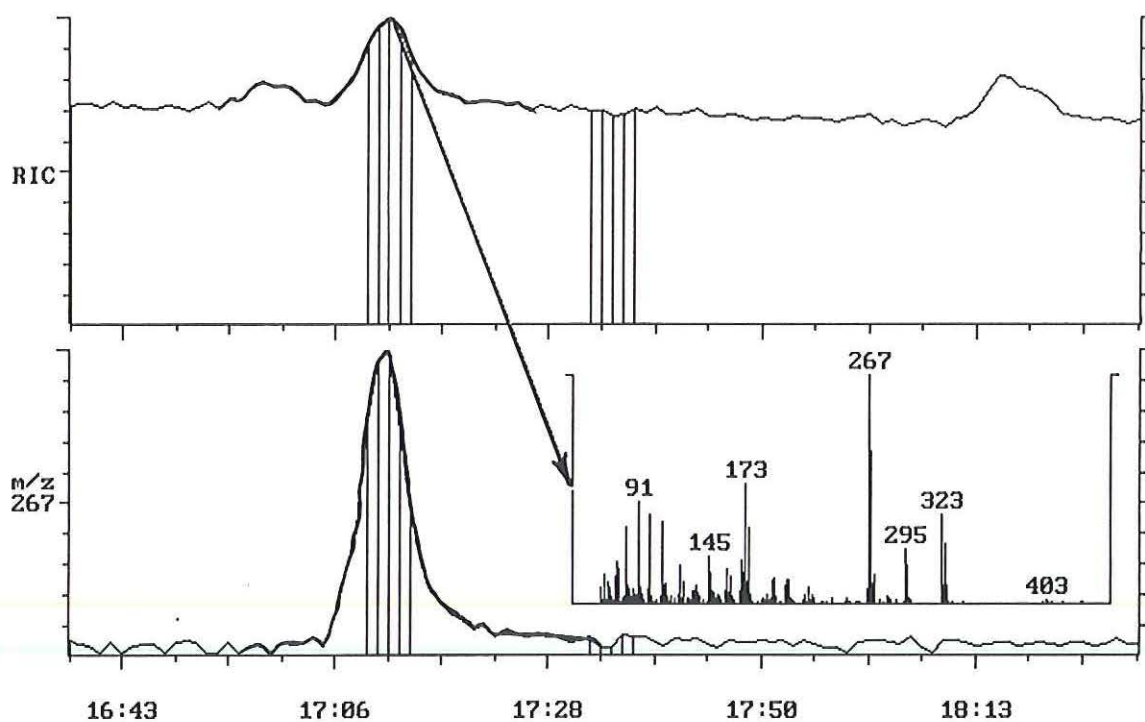
Figuur 8. Variatie in de intensiteiten van een vijftal ionen in de geregistreerde massaspectra van phorate (100 pg/ μ l) gedurende 12 analyses.



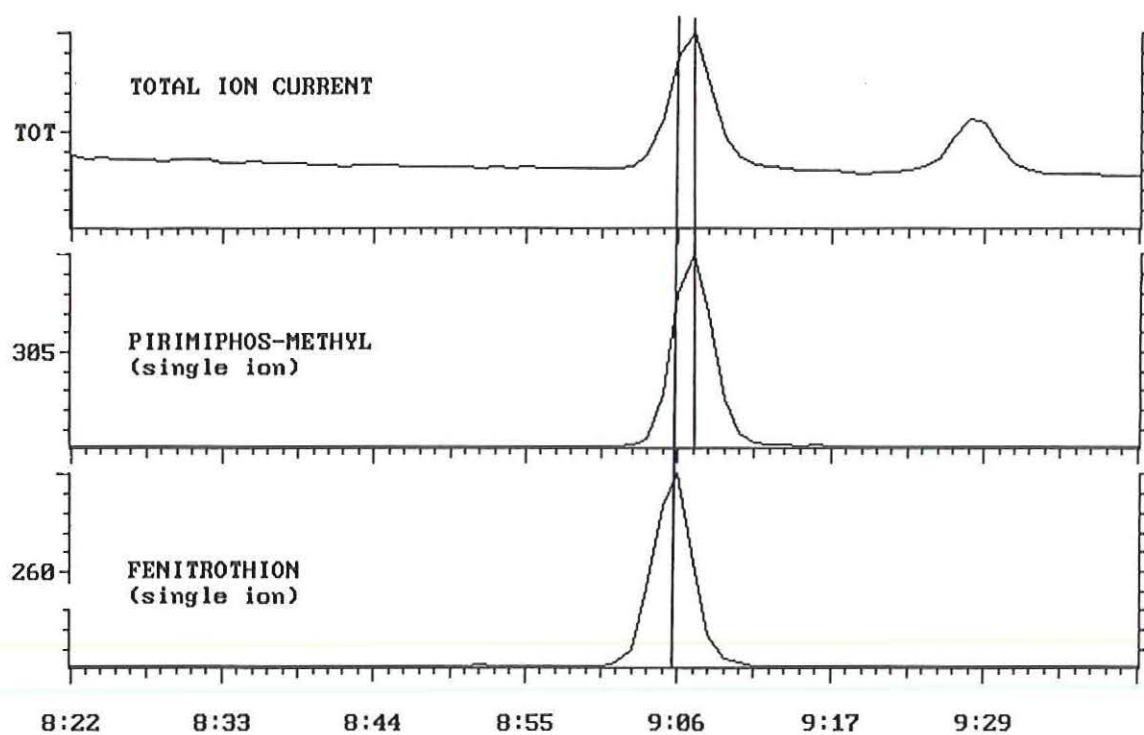
Figuur 9. Het RIC, het single ion chromatogram (m/z 362) en geregistreerde massaspectrum van coumaphos (400 pg/ μ l).



Figuur 10. Het RIC, het single ion chromatogram (m/z 260) en geregistreerde massaspectrum van phorate (100 pg/ μ l).



Figuur 11. Het RIC, het single ion chromatogram (m/z 267) en geregistreerde massaspectrum van vinchlozolin (500 $\text{pg}/\mu\text{l}$).



Figuur 12. Total ion current chromatogram en single ion current chromatogrammen voor de coëluerende componenten pirimiphos-methyl en fenitrothin.

Bijlage 2. Overzicht van de pesticiden waarvoor de relatieve retentietijd (RRT) (t.o.v. PCB 198) en de niveaus (pg/ μ l), waarop identificatie mogelijk is gebleken, zijn weergegeven (NVI= niveau voor identificatie).

Component	RRT	NVI (pg/ μ l)
alachlor	0,384	100
aldrin	0,425	*
anilazin	0,473	*
anthraquinone	0,424	100
atrazin	0,325	*
azinphos-ethyl	1,068	*
azinphos-methyl	1,008	<500
bendiocarb	0,304	100
bromacil	0,411	*
bromophos	0,451	100
bromophos-ethyl	0,510	100
captafol	0,884	*
captan	0,483	100
carbaryl	0,382	100
carbofuran	0,322	100
carbophenothion	0,774	*
chinomethionate	0,508	*
chlorbenseide	0,501	*
chlorbupham	0,197	*
chlordane (γ)	0,510	100
chlordecone	0,855	*
chlordimeform	0,303	*
chlorfenprop-methyl	0,288	*
chlorfenson	0,549	*
chlorfenvinphos	0,466	100
chlormephos	0,260	100
chlorobenzilate	0,648	100
chlorpropham	0,301	100
chlorpyriphos	0,427	100
chlorthal-dimethyl	0,434	*
chlorthalonil	0,352	100
chlorthiophos	0,722	200
coumaphos	1,139	250
crufomate	0,440	100
cyanazin	0,424	*
cycloate	0,297	*
cyprofuram	0,792	*
DDE-o,p	0,519	100
DDE-p,p	0,582	100
DDT-o,p	0,698	100
DDT-p,p	0,816	100
demeton-S	0,319	*
demeton-S-methylsulphone	0,393	250
desmetryn	0,366	*
dialifos	1,080	*
diallate	0,322	*
diazinon	0,339	50
dichlobenil	0,242	100
dichlofenthion	0,369	*

Component	RRT	NVI (pg/ μ l)
dichlofluanid	0,412	50
dichlorbenzophenon(p,p)	0,432	100
dichlorvos	0,225	50
dicloran	0,321	100
dicofol	0,443	*
dimethachlor	0,371	100
dimethoate	0,322	250
dioxathion	0,333	100
diphenylamine	0,295	100
disulfoton	0,344	<100
ditalimfos	0,541	100
endosulfan (α + β)	0,532	100
endrin	0,632	100
ethion	0,709	100
ethofumesate	0,406	*
ethoprophos	0,296	100
etrimfos	0,350	100
fenamiphos	0,553	250
fenchlorphos	0,391	100
fenitrothion	0,403	100
fenpropiomorph	0,424	100
fenthion	0,424	100
fluorochloridone	0,439	*
folpet	0,493	<100
fonofos	0,337	100
HCH (α)	0,295	40
HCH (β)	0,330	40
HCH (Δ)	0,350	40
heptachlor	0,389	100
heptachlorepoxyde (β)	0,475	100
heptenophos	0,286	50
hexachlorobenzene	0,321	100
iodofenphos	0,562	100
iprodione	0,957	50
lindane	0,334	40
malathion	0,412	100
mecarbam	0,484	*
metalaxyl	0,388	*
methamidophos	0,258	*
methidathion	0,510	100
methiocarb	0,402	100
methoxychlor	0,967	100
metobromuron	0,362	interf.
metolachlor	0,423	100
metribuzin	0,371	*
mevinphos (c+t)	0,308	50
mirex	1,012	100
monocrotophos	0,307	500
monolinuron	0,326	100
naled	0,303	100
neburon	0,234	100
parathion	0,428	250
parathion-methyl	0,378	100
PCB 198	1,000	100
pendimethalin	0,470	100

Component	RRT	NVI (pg/ μ l)
pentachloranisool	0,323	100
pentachloronitrobenzene (PCNB)	0,337	*
pentachlorophenol	0,344	*
permethrin I	1,135	500
permethrin II	1,150	500
phorate	0,311	100
phosphamidon	0,347	*
pirimicarb	0,357	50
pirimiphos-ethyl	0,453	*
pirimiphos-methyl	0,403	100
procymidone	0,497	*
prometryn	0,386	100
propachlor	0,292	100
propazin	0,326	100
propoxur	0,291	50
propyzamide	0,335	*
prothiophos	0,567	100
quinalfos	0,488	100
quintozone	0,337	100
simazin	0,322	*
sulfotep	0,306	100
TDE-p,p	0,689	100
tecnazene	0,306	100
terbufos	0,339	*
terbutryn	0,399	100
terbutylazin	0,334	*
tetrachloroanizole	0,278	100
tetrachlorophenol-2,3,4,5	0,285	*
tetrachlorophenol-2,3,5,6	0,283	*
tetrachlorophenol-2,3,4,6	0,286	*
tetrachlorvinphos	0,530	100
tetradifon	1,049	*
tetramethrin	0,960	*
thiometon	0,324	*
tolclophos-methyl	0,383	100
tolyfluanid	0,478	100
trichlorophenol-2,4,5	0,247	*
triadimefon	0,436	*
triamenol ($\alpha + \beta$)	0,501	*
triallate	0,351	100
triazophos	0,752	100
trichloranate	0,444	100
trichlorophenol-2,4,5	0,247	*
trifluralin	0,303	100
vinchlozolin	0,386	50

* voor deze component is het preciese NVI nog niet vastgesteld.