

Projectnr.: 71.643.01
Methodenontwikkeling polaire bestrijdingsmiddelen

Projectleider: W.A. Traag

Rapport 2001. 013

Juni 2001

LITERATUURSTUDIE TEN BEHOEVE VAN DE METHODEONTWIKKELING VOOR DE
ANALYSE VAN RESIDUEN VAN POLAIRE EN/OF THERMISCH INSTABIELE
BESTRIJDINGSMIDDELEN IN VEGETATIE, VOEDINGSMIDDELEN EN DAARAAN
GERELATEERDE MATRICES OP LAAG NIVEAU.

L. Blok-Tip

Afdeling: Natuurlijke Inhoudstoffen, Residuen en Contaminanten (NRC)

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon 0317-475400
Telefax 0317-417717

Copyright 2001, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwproducten (RIKILT).
Overname van de inhoud is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur

auteur(s)

programmaleiders (4x)

in- en externe communicatie (2x)

bibliotheek (3x)

A.H. Roos

EXTERN:

AID Eindhoven: T. Driessen, J. Ooijman, S. Tuytel, H. Vromen

Ministerie LNV: Directie DWK: J.A. Cornelese

Directie Landbouw: G.H.M. Wellen

Directie Visserij: C.J. Ooms

ABSTRACT

Analysis of polar and thermally instable pesticides at low levels in a variety of matrices is failing, because nowadays the analyses have to comply with more severe demands than in the past, especially with regard to the detection limits. These demands cannot be fulfilled when applying the commonly used HPLC-UV methods. In addition, confirmation of the identity of a pesticide in a sample is impossible using HPLC-UV, while this is demanded due to the need of judicial evidence. Consequently, the methods used have to be improved and new methods have to be developed. Therefore, this literature study was carried out.

A multiresidue method which can be applied to several groups of polar pesticides appeared to be impossible. Analysis methods applicable within RIKILT are selected for each group of compounds and improvements are suggested.

MS is a more sensitive detection method compared to UV and based on the mass spectrum a compound can be identified unambiguously. Therefore, when developing methods for analysis LC-MS and LC-MS-MS are the methods of choice. New criteria should be formulated regarding the instrumentation and analysis results.

ABSTRACT	blz. 1
INHOUD	3
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
1.1 Probleemstelling	7
1.2 Doelstelling	7
1.3 Uitvoering	8
2 ANALYSEMETHODEN - ALGEMEEN	8
2.1 Monstervoorbewerking en extractie	9
2.2 Opzuivering	9
2.3 Scheidings- en detectiemethoden	11
2.4 Identificatiemethoden	14
2.5 Gekoppelde opzuivering, scheiding en detectie c.q. identificatie	16
3 ANALYSEMETHODEN - SPECIFIEK	17
3.1 Ureum pesticiden	17
3.2 Fenoxycarbonzuren	18
3.3 Carbamaten, inclusief propamocarb	18
3.4 Quaternaire ammonium zouten/Quats	19
3.5 Glyfosaat	21
3.6 Sulcotrion	21
4 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	22
4.1 Algemeen	22
4.2 Specifiek	23
4.2.1 Ureum pesticiden	23
4.2.2 Fenoxycarbonzuren	24
4.2.3 Carbamaten, inclusief propamocarb	24
4.2.4 Quaternaire ammonium zouten/Quats	25
4.2.5 Glyfosaat	25
4.2.6 Sulcotrion	25
REFERENTIES	25
BIJLAGEN	
A Structuurformules polaire bestrijdingsmiddelen	
B Tabellen 1 t/m 8	
C Voorgestelde analysemethoden	

SAMENVATTING

De analyse van polaire en/of thermisch instabiele bestrijdingsmiddelen op laag niveau en in diverse matrices schiet tekort, omdat tegenwoordig hogere eisen aan de analyse worden gesteld, waarbij lagere detectiegrenzen vereist zijn dan in het verleden. Deze eisen zijn niet meer haalbaar met de gebruikelijke HPLC-UV methoden. Tevens is in verband met de juridische bewijslast confirmatie van positieve monsters gewenst. Het is derhalve noodzakelijk om de huidige methoden te verbeteren en nieuwe methoden te ontwikkelen. Hiertoe werd een literatuurstudie uitgevoerd.

Een multiresidumethode, waarmee diverse groepen van polaire bestrijdingsmiddelen geanalyseerd kunnen worden, blijkt niet mogelijk te zijn. Per groep polaire bestrijdingsmiddelen zijn analysemethoden geselecteerd, die gebruikt kunnen worden binnen het RIKILT. Suggesties voor het verbeteren van deze methoden worden gedaan.

Daar MS een meer gevoelige detectiemethode is dan UV en met MS éénduidige identificatie van de analyt mogelijk is, verdient MS de voorkeur als detectiemethode. De nadruk zal hierbij liggen op het toepassen van LC-MS en LC-MS-MS. Hiervoor zullen criteria opgesteld moeten worden, waaraan de apparatuur en de analyseresultaten moeten voldoen.

1 INLEIDING

1.1. Probleemstelling

De analyse van polaire en/of thermisch instabiele bestrijdingsmiddelen in verschillende matrices op een niveau van 10 ppb en lager schiet tekort. Dit komt onder andere doordat voor de analyse van deze middelen vaak gebruik gemaakt wordt van hoge-prestatie vloeistofchromatografie met detectie, gebaseerd op de absorptie van ultraviolet licht (HPLC-UV)¹⁻²². Veel bestrijdingsmiddelen vertonen geen specifiek absorptiespectrum en hebben tevens geen hoge molaire extinctiecoëfficiënt. Om te kunnen voldoen aan de hoge eisen, die tegenwoordig aan de analyse worden gesteld, waarbij lage detectiegrenzen vereist zijn, moeten de monsterextracten sterk geconcentreerd worden. Hierdoor wordt niet alleen de analyt geconcentreerd, maar ook de andere componenten. Hoewel scheiding van analyt en andere componenten met behulp van HPLC theoretisch mogelijk is, is het niet mogelijk om één combinatie van eluens en kolom te gebruiken, waarmee diverse pesticiden voldoende gescheiden worden van alle storende componenten in de veelheid van matrices, die binnen het RIKILT geanalyseerd worden. De absorptiespectra van de pesticiden worden hierdoor verstoord, welk effect sterker is, naar mate het extract meer geconcentreerd wordt. Herkenning van het spectrum van het desbetreffende bestrijdingsmiddel in het ontstane mengspectrum is derhalve vaak moeilijk of onmogelijk. De huidige opwerkingsmethoden voldoen dus niet voor de analyse met behulp van HPLC-UV. Dit probleem zou opgelost kunnen worden door de methoden zodanig aan te passen dat er minder of geen storende componenten in het monsterextract aanwezig zijn.

Wanneer een monster positief bevonden is, moet in verband met de juridische bewijslast confirmatie van de desbetreffende analyt plaats vinden. Met UV-detectie is dit niet mogelijk, daar de mogelijkheid tot absorptie van licht veroorzaakt wordt door een geconjugeerd systeem in het molecuul en componenten met een vergelijkbaar geconjugeerd systeem derhalve een vergelijkbaar spectrum vertonen. Bevestiging is alleen mogelijk met een componentspecifieke methode, zoals massaspectrometrie (MS). Analyse met behulp van gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS) is voor polaire en/of thermisch instabiele verbindingen niet mogelijk, omdat ionisatie plaats vindt in de gasfase, en deze componenten niet voldoende vluchtig zijn of bij hoge temperatuur ontleden. Door derivatisering tot meer vluchtige componenten, kan GC-MS wel toegepast worden^{6,9,21,23-28}. Ontwikkelingen in de massaspectrometrie hebben het echter mogelijk gemaakt om verbindingen, die zich niet in de gasfase bevinden, te ioniseren. Daarnaast zijn er "interfaces" ontwikkeld voor monsterintroductie bij atmosferische druk, waardoor de combinatie vloeistofchromatografie-massaspectrometrie (LC-MS) mogelijk geworden is. Met deze techniek kunnen polaire componenten, na opzuivering, direct geanalyseerd en éénduidig geïdentificeerd worden. Over de analyse van bestrijdingsmiddelen op ppb-niveau met deze techniek en de daarvoor benodigde opwerkingsmethoden is binnen het RIKILT echter nog te weinig bekend.

1.2. Doelstelling

Op basis van het literatuuronderzoek wordt bepaald welke analysemethoden toepasbaar zijn, welke methoden niet voldoen en welke methoden, na nader onderzoek, eventueel toepasbaar gemaakt kunnen worden. Hierbij zijn bepalend: de recovery, de detectielimiet, de toepasbaarheid voor meerdere componenten in matrices, vergelijkbaar met matrices, die ter analyse aangeboden

worden aan het RIKILT, en de uitvoerbaarheid van de methode met binnen het RIKILT aanwezige apparatuur en expertise.

1.3. Uitvoering

Voor het literatuuronderzoek zijn diverse zoekopdrachten uitgevoerd:

- 1 algemeen; zoektermen pesticide* and (LC or HPLC) in de databases Chemical Abstracts (08-98 t/m 07-00), Agricola (01-98 t/m 06-00), Agris (01-98 t/m 05-00) en FSTA (01-90 t/m 09-00)
- 2 paraquat en diquat; zoektermen (paraquat or diquat) and analy* in de databases Chemical Abstracts (01-72 t/m 07-00), Agricola (01-70 t/m 06-00), Agris (-1-75 t/m 05-00), FSTA (01-96 t/m 09-00), Biological Abstracts (01-89 t/m 06-00) en Current Contents (01-96 t/m 09-00)
- 3 sulcotrion, propamocarb en glyfosaat; zoektermen (sulcotrion* or propamocarb* or glyphosa*) and analy* in de databases Chemical Abstracts (01-84 t/m 10-00), Agricola (01-92 t/m 06-00), Agris (01-89 t/m 05-00), FSTA (01-90 t/m 09-00), Biological Abstracts (01-89 t/m 09-00) en Current Contents (01-96 t/m 09-00)

De hiermee gevonden, relevante literatuur en de daarin vermelde verwijzingen, onder andere in een aantal review-artikelen^{17,29-33}, zijn bestudeerd.

2. ANALYSEMETHODEN – ALGEMEEN

Over de analyse van residuen van bestrijdingsmiddelen is veel gepubliceerd. Er zijn verscheidene methoden ontwikkeld, sommige zeer specifiek voor één component in één bepaalde matrix, andere juist voor zoveel mogelijk componenten in diverse matrices, de zogenaamde 'multiresidu-methoden'.

Voordat een bestrijdingsmiddel geïdentificeerd en gekwantificeerd kan worden, moet het monster een voorbewerking ondergaan. Deze is sterk afhankelijk van het soort monster. Voor de meeste analysetechnieken moet de analyt in oplossing zijn. Watermonsters moeten vaak geconcentreerd worden, omdat het gehalte aan bestrijdingsmiddelen anders te laag is om gedetecteerd te kunnen worden. Andere vloeistoffen, zoals vruchtensappen, moeten vaak ontdaan worden van storende componenten. Van monsters in vaste vorm wordt een extract gemaakt, dat de analyt bevat. Vervolgens wordt dit extract gezuiverd om niet teveel storende componenten te bevatten. Hierna vindt scheiding en detectie van de diverse componenten plaats, gevolgd door kwantificering. De analysegang bestaat dus uit: 1. monstervoorbewerking en extractie; 2. opzuivering; 3. scheiding, detectie en identificatie; 4. dataverwerking en kwantificering. Met name voor de analyse van bestrijdingsmiddelen in voedingsmiddelen en vegetatie zijn uitgebreide en tijdrovende handelingen noodzakelijk. Hoewel er vele opwerkingsmethoden beschreven zijn voor de analyse van apolaire bestrijdingsmiddelen, heeft de analyse van polaire pesticiden helaas vaak alleen betrekking op watermonsters.

2.1. Monstervoorbereiding en extractie

Voor de analyse van bestrijdingsmiddelen in vegetatie, voedingsmiddelen en daaraan gerelateerde matrices wordt het monster eerst gehomogeniseerd. Vervolgens wordt er een extract gemaakt door het monster met een oplosmiddel te mengen^{1,3,9,21,26,34-38} op een schudmachine, in een ultrasoonbad of "head-over-head", onder hoge snelheid te mixen en te snijden (ultraturax^{2,4,6,9,11,13,23,24,27,39-45}), te verhitten^{1,2,4-6,46}, te koken⁶, te refluxen^{6,22,47} of een Soxhlet-extractie uit te voeren³⁰, of er wordt een extract gemaakt met behulp van microwave assisted extraction (MAE)³⁰. Bij deze laatste techniek wordt microgolvenenergie gebruikt voor het verhitten van het monster of het extractiemiddel, waardoor de extractie sneller verloopt. Na extractie wordt het mengsel gecentrifugeerd en gefiltreerd. Het filtraat wordt ingedampt tot een bepaald volume.

2.2. Opzuivering

Een zeer eenvoudige, maar arbeidsintensieve methode om het filtraat te zuiveren is het wassen met een oplosmiddel, waarin de te bepalen analyt niet oplost en andere componenten wel^{3,6,36,40,43}. Als enige techniek voor opzuivering is deze methode vaak niet voldoende effectief, waardoor ze gecombineerd wordt met meer geavanceerde, chromatografische technieken^{1,9,14,23,26,35,42,48}.

Bij *kolomchromatografie* wordt een glazen of kunststof kolom van 10 tot 25 cm lengte en ca. 1 cm inwendige diameter gevuld met ca. 10 g korrelvormig materiaal, zoals silica^{5,6,17,41,44,46}, Florisil⁴⁸, actieve kool²³ of een ionenwisselaar^{2,17,23,28,35,47,49,50}. Door verschil in interactie van de diverse componenten met het kolommateriaal en de mobiele fase treedt verschil in retentie op. Sommige componenten vertonen geen interactie, sommige hechten op grond van fysische of chemische processen, maar 'onthechten' bij gebruik van ander eluens, sommige hechten permanent aan de stationaire fase. Elutie vindt plaats onder invloed van de zwaartekracht. Afhankelijk van het type kolommateriaal, de analyt en de storende componenten wordt de kolom eerst gewassen om storende componenten te verwijderen of wordt er direct geëluëerd om de analyt van de kolom te verwijderen, terwijl storende componenten op de kolom achterblijven. De keuze van het kolommateriaal is afhankelijk van zowel de matrix als de analyt. Wanneer preconcentratie noodzakelijk is, zoals bij watermonsters, wordt gekozen voor materiaal, waarop de analyt retentie vertoont. Wanneer dit niet noodzakelijk is, kan ook gekozen worden voor retentie van de storende componenten. Het kolommateriaal kan verdeeld worden in drie groepen: "normal phase" (onder andere silica en Florisil), "reversed phase" en ionenwisselaars. Daar in publicaties vrijwel nooit beschreven wordt welke methoden niet voldoen, is het niet mogelijk om een algemeen overzicht te geven van te gebruiken materialen per matrix en per analyt. Hiervoor is een uitgebreid onderzoek noodzakelijk, waarin de recovery van een analyt wordt bepaald, waarbij van de drie variabelen analyt, matrix en kolommateriaal er steeds één gevarieerd wordt. Tevens moet hierbij de invloed van de vloeistoffen, gebruikt voor wassen en elueren, onderzocht worden. Als voordelen van deze techniek zijn te noemen: regenereren en hergebruiken van kolommateriaal is meestal mogelijk; in één kolom kan opzuivering over twee verschillende materialen plaats vinden¹⁴; geen extra apparatuur nodig voor automatisering; geen extra apparatuur nodig voor elutie onder verlaagde of verhoogde druk. Als nadelen kunnen genoemd worden: grote volumina, nodig voor wassen en elueren; tijdrovend; niet geautomatiseerd; arbeidsintensief. Om deze

redenen wordt kolomchromatografie vaak vervangen door SPE (zie hieronder); echter niet elke soort kolommateriaal is ook verkrijgbaar als SPE-materiaal.

Gelpermeatiechromatografie (GPC) is een specifieke vorm van kolomchromatografie. Het kolommateriaal is poreus. Hierbij vindt scheiding van componenten plaats op basis van hun grootte en molecuulgewicht: grote moleculen bewegen zich langs de korrels, kleine moleculen bewegen zich door de kanalen in de korrels en leggen daardoor een langere weg af. Deze methode wordt vaak gebruikt voor de verwijdering van vet^{25,38,39,51-53} en chlorofyl^{6,27,53}.

Solid-phase extraction (SPE) wordt veelvuldig gebruikt voor preconcentratie en opzuivering van extracten. De commercieel verkrijgbare kolommetjes met een volume van 1 tot 10 ml zijn gevuld met 50 tot > 500 mg zeer fijn materiaal. Elutie vindt meestal plaats door middel van onderdruk. Het gebruik van diverse soorten SPE-materiaal voor de opzuivering van extracten bij de analyse van polaire bestrijdingsmiddelen is beschreven: koolstof (graphitized carbon black, porous graphitized carbon)^{11,13,15,18,20,45}, diatomé aarde³⁰, Florisil¹⁵, anionenwisselaar (SAX)⁵⁴, aluminiumoxide⁵⁴, silica^{4,6,8,12,18,22,55} en gebonden silicagel. Dit laatste materiaal bestaat uit silicagel, het dragermateriaal of "solid support", waarvan een deel van de silanolgroepen gederiviseerd is met octyl^{11,56}, octadecyl^{1,6,11,15,16,21,24,25,57,58}, cyanopropyl¹⁷, amino^{6,9,38} of aminopropyl^{6,39}, de vaste fase of "bonded phase". Voor de keuze van het SPE-materiaal geldt hetzelfde als hierboven beschreven bij kolomchromatografie; er is echter een grotere variatie SPE-materiaal leverbaar. Dit is een voordeel, omdat hierdoor de optimale combinatie van analyt, matrix, SPE-materiaal en eluens uitgezocht kan worden; voor routinematige analyses van diverse analyten in verschillende matrices zal echter een compromis gevonden moeten worden. Andere voordelen zijn: beperkte volumina van vloeistoffen; kortere elutietijd; commercieel verkrijgbare, gepakte kolommetjes; mogelijkheid tot automatisering; mogelijkheid om kolommetjes te koppelen. Nadelen zijn: regenereren van kolommateriaal is meestal niet mogelijk; monsterextract moet vrij zijn van vaste deeltjes; apparatuur nodig voor elutie met behulp van onderdruk; apparatuur nodig voor automatisering.

Hoewel methoden, waarbij extractie en opzuivering in één stap plaats vinden, tijds- en oplosmiddelbesparend zijn, worden ze minder frequent gebruikt. Dit komt doordat er nog weinig onderzoek naar verricht is, of er speciale apparatuur of aanpassing van apparatuur voor nodig is. Bij *matrix solid-phase dispersion* (MSPD)^{15,30,59} wordt gebruik gemaakt van SPE-materiaal, dat tezamen met het monster vermalen wordt. Van dit mengsel wordt een kolom gestort. De analyt wordt van de kolom geëluëerd, eventueel voorafgegaan door wassen van de kolom om storende componenten te verwijderen. Omdat het gehele monster in de kolom aanwezig is, kunnen diverse componenten met verschillende eluentia geïsoleerd worden. MSPD is onder meer gebruikt voor de analyse van benfuracarb en een aantal ureum insecticiden in sinaasappels¹⁵.

Solid-phase microextraction (SPME)^{7,10,32,33} wordt gebruikt in combinatie met GC of HPLC. Bij deze techniek wordt een fiber van ca. 5 cm lengte, gecoat met een stationaire fase, door een injectienaald in het monster of monsterextract geplaatst, waardoor de analyt absorbeert aan de stationaire fase. Vervolgens vindt desorptie plaats door de naald met fiber in de injectiekamer van de GC te verhitten of door de naald met fiber in een desorptiekamer in contact te brengen met een oplosmiddel, waarin de geabsorbeerde analyt goed oplost. De desorptiekamer is een aanpassing aan het HPLC-systeem, waardoor na desorptie het analyt in oplossing direct op de

HPLC-kolom gebracht wordt. Deze extractie- en opzuiveringsmethode is gebruikt voor de analyse van fenylureum herbiciden¹⁰ en voor de analyse van fenobucarb in watermonsters⁷. Een voordeel van SPME is dat er weinig oplosmiddelen nodig zijn. Wanneer het een vloeibaar monster betreft, is er alleen een kleine hoeveelheid oplosmiddel nodig om de analyt te desorberen van de fiber en de fiber na gebruik te regenereren. Ook het monstervolume is klein: ca. 15 ml is voldoende. De fibers kunnen 10 tot 50 maal gebruikt worden. Kwantitatieve analyse is mogelijk, bij relatief schone monsters door middel van externe calibratie, in andere gevallen door middel van standaardadditie. Nadeel van SPME in combinatie met HPLC is het speciale "interface" dat nodig is, waarin de naald met fiber handmatig geplaatst moet worden. Eén van de voordelen van SPME gecombineerd met GC ten opzichte van andere extractie- en opzuiveringsmethode, namelijk de korte tijd nodig voor absorptie en desorptie, blijkt voor SPME gecombineerd met HPLC niet te gelden: hoewel afhankelijk van de analyt en de fibercoating wordt een extractietijd van 180 min., gevolgd door een desorptietijd van 30 min. beschreven. Deze vier uur vervangt echter de tijd, die anders nodig is voor filtreren van het extract, indampen, opzuiveren en nogmaals indampen, waarbij door de twee indampstappen ook verontreinigingen worden geconcentreerd. SPME is helaas voornamelijk gebruikt in combinatie met GC voor de analyse van apolaire verbindingen in water- en grondmonsters. In het review van Beltran *et al.*³² wordt verwezen naar de analyse van apolaire verbindingen in fruit en vruchtensappen. Hierbij wordt vermeld dat de matrix een negatieve invloed heeft op de recovery.

Bij *accelerated solvent extraction* (ASE)^{8,51,60,61} of enhanced solvent extraction (ESE)⁵⁷ wordt onder verhoogde druk en temperatuur een oplosmiddel in contact met het monster gebracht, waardoor de analyt geëxtraheerd wordt. Door de verhoogde temperatuur worden de oplosbaarheid en de diffusie verhoogd en worden viscositeit, oppervlaktespanning en interacties, zoals waterstofbruggen en van der Waalskrachten, verlaagd. Door de verhoogde druk kan het oplosmiddel tot boven het kookpunt worden verhit en kan het beter in de poriën van de matrix dringen. Hierdoor is de extractie sneller en efficiënter dan bij conventionele extractiemethoden. Aangezien verhoogde druk wordt gebruikt, wordt ASE ook wel *pressurised liquid extraction* (PLE)^{62,63} of *pressurised fluid extraction* (PFE)⁶³ genoemd. Om het contactoppervlak van het monster met het oplosmiddel te vergroten wordt het monster vermengd met diatomé aarde^{8,51,61,63}, zand^{51,63}, of glaswol⁶³. Wanneer het monster veel water bevat wordt het gemengd met natriumsulfaat^{51,63}. Om tegelijkertijd een opzuivering uit te voeren kan onder in de extractiehuls aluminiumoxide^{51,61}, Florisil⁶¹, silica⁶¹ of koolstof⁶¹ aangebracht worden. Hoewel ASE door de United States Environmental Protection Agency toegelaten is als opwerkingsmethode voor de analyse van hydrofobe, semivluchtige organische verbindingen in onder andere grond⁶⁴, is er nog weinig bekend over het gebruik van ASE bij de analyse van polaire verbindingen. Het gebruik is beschreven voor de analyse van het herbicide diflufenican in grond⁸. Hoe efficiënt de extractie van andere polaire bestrijdingsmiddelen uit andere matrices is, moet nader onderzoek uitwijzen.

2.3. Scheidings- en detectiemethoden

Voor de analyse van polaire of thermisch instabiele bestrijdingsmiddelen wordt veelvuldig gebruik gemaakt van *HPLC-UV-22*, waarbij de componenten na scheiding op een HPLC-kolom gedetecteerd worden met behulp van een UV-detector. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een UV-detector met een vaste golflengte-instelling of van een diodearraydetector, waarmee in zeer korte

tijd een golflengtegebied gescand kan worden. Identificatie van de diverse componenten vindt plaats op basis van retentietijd en UV-spectrum. Wanneer een methode gebruikt wordt, die toepasbaar is voor verschillende pesticiden in diverse matrices, is het niet mogelijk om de bestrijdingsmiddelen voldoende te scheiden van alle storende componenten. Hierdoor zal de detector op een bepaald tijdstip meerdere componenten registreren, waardoor een mengspectrum ontstaat; dit bemoeilijkt het identificeren van een bepaalde analyt, omdat veel verbindingen geen specifiek UV-spectrum hebben. Ook verbindingen met een karakteristiek spectrum zijn in lage concentraties vaak moeilijk te identificeren, zeker wanneer het spectrum verstoord is door de matrix. Een karakteristiek spectrum heeft een (lokaal) maximum bij een golflengte van tenminste 220 nm, omdat het eluens meestal bestaat uit acetonitril, water en/of methanol. Bij het gebruik van methanol is 215 nm de ondergrens voor extinctiemetingen. Een tiental pesticiden is geanalyseerd op het HPLC-systeem onder de condities, zoals die momenteel gangbaar zijn binnen het cluster Bestrijdingsmiddelen, om de detectielimiet te bepalen. Uitgangspunt hierbij is een extinctie van tenminste 0.0002. Voor deze tien pesticiden varieert de LOD van 5 - 50 ng/ml. Wanneer 10 ppb in het monster aangetoond moet kunnen worden en het eindvolume 1 ml is, moet er 0.5 tot 5 g monster in bewerking genomen worden, uitgaande van een recovery van 100%. Om een lager gehalte te kunnen aantonen, moet het monsterextract meer geconcentreerd worden of moet er meer monster in bewerking genomen worden. De LOD is echter bepaald voor standaarden en geldt alleen voor monsters als er geen storende componenten in het monsterextract aanwezig zijn. Dit is vrijwel nooit het geval. Omdat de te analyseren monsters zeer divers zijn, is het niet mogelijk een uitspraak te doen over de mogelijkheid of onmogelijkheid om een bepaald pesticide met behulp van HPLC-UV te analyseren.

Wanneer een analyt geen of onvoldoende absorptie vertoont in het UV-gebied, is het noodzakelijk een andere detectiemethode te gebruiken. Enkele verbindingen kunnen na derivatisering gedetecteerd worden op basis van hun fluorescerend vermogen. Hiertoe wordt na de HPLC-kolom een "*postcolumn derivatisation*" uitgevoerd door met behulp van een "flow-injection"-systeem derivatiseringsreagentia toe te voegen aan het eluaat om de gescheiden componenten om te zetten in een fluorescerende verbinding, gevolgd door detectie met een *fluorescentie-detector*^{6,30,35,39,49}. Met deze methode kunnen de componenten gevoeliger en met een lagere detectiegrens bepaald worden dan met behulp van HPLC-UV. Omdat niet alle componenten kunnen reageren tot een fluorescerende verbinding, is deze methode tevens specifiekier dan HPLC-UV. Dit is echter ook een nadeel, omdat niet veel componenten op deze manier gedetecteerd kunnen worden. Fluorescentiedetectie na derivatisering is beschreven voor carbonzuur herbiciden⁶⁵, fenylureum herbiciden⁶, methylcarbamaten^{6,39}, glyfosaat^{35,37,49} en de metaboliet aminomethylfosfonzuur (AMPA)^{35,49} en paraquat⁴⁶.

Andere componenten kunnen omgezet worden tot een verbinding, die zichtbaar licht absorbeert. Voor de detectie wordt een *spectrofotometer* gebruikt. Deze *spectrofotometrische bepaling* wordt met name gebruikt voor de analyse van paraquat, waarbij door reductie een blauw radicaal ion wordt gevormd^{17,41,44,47,66,67}. Hoewel diverse auteurs vermelden dat diquat de analyse stoort door de vorming van een groen radicaal ion^{44,47,66} wordt de methode niet toegepast voor de analyse van diquat. De spectrofotometrische bepaling op zich is niet specifiek voor paraquat of diquat, maar zou voorafgegaan door scheiding op een HPLC-kolom bruikbaar kunnen zijn. Deze spectrofotometrische detectie is namelijk gevoeliger dan UV-detectie.

Een scheidingsmethode, die al veel eerder gebruikt werd dan HPLC, is *dunne-laag chromatografie* of thin-layer chromatography (TLC). Dit was een relatief eenvoudige techniek, waarbij de gehele procedure handmatig werd uitgevoerd. Er hebben echter diverse ontwikkelingen plaats gevonden. Er zijn hoge-prestatie TLC-platen ontwikkeld, evenals nieuwe, stationaire fasen, zoals apolaire gebonden fase, polaire gebonden fase en zirconiumfosfaat. Door gebruik te maken van computer-gestuurde "automated multiple development" kan de plaat stapsgewijs ontwikkeld worden met verschillende loopvloeistoffen, waardoor er van een gradiënt sprake is. Voor de kleuring wordt gebruik gemaakt van verbindingen, die reageren op specifieke eigenschappen van de analyten, zoals enzymatische remming met cholinesterase en enzymatische hydrolyse, gevolgd door kleuring, voor de analyse van aldicarb en carbaryl. Voor de detectie kan gebruik gemaakt worden van densitometrie, waardoor kwantificering mogelijk geworden is^{30,31}. Diverse van deze nieuwe ontwikkelingen zijn toegepast bij de analyse van carbamaten, fenylureum herbiciden en benzoyl-ureum herbiciden³¹.

Een relatief nieuwe scheidingsmethode in de analyse van bestrijdingsmiddelen is *capillaire elektroforese* (CE) of capillaire zone elektroforese (CZE)^{30,65}. Over een silica capillair gevuld met elektrolyt wordt een elektrisch veld aangebracht. In het capillair ontstaat een electro-osmotische flow, waardoor alle ionen naar de kathode migreren. De meest bekende vorm van CE is "micellar electrokinetic chromatography". Hierbij wordt aan de elektrolyt een surfactant toegevoegd in een concentratie hoger dan de kritische micelconcentratie. Componenten vertonen meer of minder interactie met de micellen, waardoor scheiding optreedt. Voor pesticiden met een ionogene structuur, zoals paraquat en diquat, blijkt CE een goede scheidingsmethode te zijn^{17,18,65,68-70}. Om de componenten te kunnen detecteren wordt CE meestal gekoppeld aan een UV-detector^{17,18,21,30,54,65,68,71}, hoewel ook CE met fluorescentiedetectie⁷¹ en CE-MS beschreven is^{65,68-72}. Voor CE is slechts een kleine hoeveelheid monster nodig, het gebruik van organische oplosmiddelen is beperkt en de analysetijd is kort. Tevens zijn de capillairen aanzienlijk goedkoper dan HPLC-kolommen. Hoewel in theorie de scheidingsefficiëntie van CE beter is dan van HPLC, blijkt in de praktijk dat de scheidingsparameters bij CE moeilijker te optimaliseren zijn dan bij andere chromatografische technieken³⁰. In een onderzoek, waarin CE-UV en HPLC-UV vergeleken worden, blijkt de detectielimiet bij het gebruik van CE-UV tien maal hoger te zijn dan bij het gebruik van HPLC-UV¹⁸. Over de robuustheid van de methode lopen de meningen uiteen: enerzijds wordt de retentietijd beschreven als goed reproduceerbaar⁶⁸, anderzijds als niet consistent³⁰. Om toegepast te kunnen worden als routinematige analysetechniek moet CE nog verder ontwikkeld worden. CE is gebruikt voor de analyse van diverse pesticiden in water^{18,54,70}, maar ook de analyse in enkele andere matrices, zoals grond, graan en aardappel, is beschreven^{21,65}.

De genoemde scheidingsmethoden zijn gebaseerd op verschil in interactie tussen mobiele en vaste fase, waardoor de diverse componenten met verschillende snelheid een bepaalde afstand afleggen. Bij *immunochemische technieken*^{14,30,73-75} is er alleen interactie tussen de analyt en het antilichaam. In bepaalde gevallen kunnen verbindingen met een vergelijkbare chemische structuur een kruisreactie veroorzaken met het antilichaam. Het gebruik van immunoassays voor carben-dazim in geconcentreerde vruchtensappen⁷⁴, voor paraquat^{73,75} en voor carbaryl in fruit- en vruchtenextract¹⁴ is beschreven.

Bij de hierboven beschreven methoden is de detectie gebaseerd op een bepaalde eigenschap van een functionele groep in het molecuul van de analyt. In combinatie met de retentietijd en het fysisch-chemisch gedrag tijdens de opzuivering, extractie en voorbereiding levert dit een indicatie voor de aanwezigheid van het desbetreffende analyt. Een éénduidige identificatie is het echter niet. Andere moleculen met dezelfde of een vergelijkbare functionele groep zullen ook gedetecteerd worden en kunnen ook tijdens de opzuivering, extractie en voorbereiding vergelijkbaar fysisch-chemisch gedrag vertonen. Dit kan leiden tot vals-positieven. Voor een éénduidige identificatie is een componentenspecifieke detectiemethode, zoals massaspectrometrie (MS) of "nuclear magnetic resonance spectroscopy" (NMR), noodzakelijk.

2.4. Identificatiemethoden

In een *massaspectrometer* worden componenten geïoniseerd en de gevormde ionen kunnen vervolgens fragmenteren. De detectie vindt plaats op basis van de massa/ladingsverhouding (m/z -waarde) van de ionen en kan op drie manieren grafisch weergegeven worden: 1. TIC ("total ion current"): intensiteit van alle ionen uitgezet tegen de retentietijd; 2. massachromatogram: intensiteit van alle ionen met een bepaalde m/z -waarde uitgezet tegen de retentietijd; 3. Massaspectrum: intensiteit van de ionen op een bepaald tijdstip uitgezet tegen de m/z -waarde. Er zijn twee typen ionisatiemethoden ontwikkeld: harde en zachte methoden. Bij de harde ionisatie-technieken, zoals elektron ionisatie (EI), wordt veel inwendige energie overgedragen aan de componenten, waardoor veel fragmenten ontstaan en het moleculair ion niet of nauwelijks aanwezig is. Bij de zachte technieken, zoals chemische ionisatie (CI), atmospheric pressure chemical ionisation (APCI) en electrospray (ES; ook wel ESI), wordt veel minder energie overgedragen, waardoor er weinig of geen fragmenten ontstaan, maar er vaak wel een intensief pseudo-moleculair ion aanwezig is. Veel verbindingen fragmenteren op een zeer specifieke wijze, waardoor identificatie mogelijk is. Wanneer er echter op hetzelfde moment diverse componenten in de bron van de massaspectrometer aanwezig zijn, ontstaat er een mengspectrum. Hierin is het spectrum van de analyt echter beter te herkennen dan in het UV-mengspectrum. Tevens is het bij de meeste massaspectrometers mogelijk om een bepaald ion te selecteren en te laten fragmenteren en alleen deze fragmenten te detecteren. Dit wordt *MS-MS* genoemd. Door een analyt-specifiek ion te selecteren worden storende componenten uitgesloten en kan de analyt geïdentificeerd worden. Wanneer dit ion niet voldoende fragmenteert om geïdentificeerd te kunnen worden, kan na selectie van het ion de fragmentatie geforceerd worden door gebruik te maken van een botsingsgas; dit wordt collision-induced dissociation (CID) genoemd.

Bij de eerste generatie massaspectrometers vond ionisatie bij zeer lage druk in de gasfase plaats. In 1956 werden gaschromatografie en massaspectrometrie voor het eerst gekoppeld^{76,77}; hierna hebben er vele instrumentele ontwikkelingen plaats gehad, waardoor GC-MS nu zeer geschikt is voor routinematige analyse en identificatie. Ionisatie vindt plaats in de gasfase door botsing met elektronen (EI) of door ion-molecuul-reacties (CI), waarbij kleine ionen, gevormd door ionisatie van een gas, zoals methaan of ammoniak, reageren met analytmoleculen. GC-MS is alleen geschikt voor verbindingen, die voldoende vluchtig zijn.

Voor polaire en thermisch instabiele verbindingen zijn andere ionisatiemethoden nodig. Hoewel er diverse technieken zijn ontwikkeld, waarbij vluchtigheid geen voorwaarde is, zoals matrix-assisted laser desorption ionisation (MALDI), vindt ionisatie hierbij wel plaats bij lage druk. Hierdoor is de

koppeling met HPLC problematisch. Sinds de introductie van ES en APCI, waarbij ionisatie van componenten in oplossing bij atmosferische druk plaats vindt, is de koppeling met HPLC en CE toepasbaar geworden.

Bij *electrospray* (ES) wordt een nevel van geladen druppels gevormd. Dit principe is voor het eerst gepubliceerd in 1968 door Dole en medewerkers⁷⁸. Fenn en medewerkers koppelden deze techniek als eersten aan een massaspectrometer⁷⁹ en hun publicatie over de analyse van biopolymeren met *ES-MS*⁸⁰ betekende de doorbraak van ES als ionisatietechniek binnen de massaspectrometrie. Het analyt, vaak al als ion in oplossing aanwezig, komt door een capillair in de bron van de massaspectrometer, waar atmosferische druk heerst. Op het uiteinde van het capillair staat een hoge, meestal positieve, potentiaal. Hierdoor ontstaat een nevel van positief geladen druppels. Als de druppels het capillair verlaten en richting de analysator van de massaspectrometer bewegen, ondervinden ze een potentiaal- en drukgradiënt, omdat de analysator geaard is en er vacuüm heerst. Hierdoor verdampt het oplosmiddel en worden de druppels kleiner, waardoor er een hoge ladingsdichtheid ontstaat in de druppels. Wanneer de afstotende krachten tussen de positieve ladingen in de druppel groter worden dan de oppervlaktespanning, 'explodeert' de druppel, waarbij ionen uitgestoten worden; dit wordt ook wel "Coulomb explosion" genoemd. Hoewel dit in grote lijnen de vorming van de ionen beschrijft, zijn de experts het niet eens over alle details van het mechanisme⁸¹⁻⁸⁵. Omdat ES uitgaat van componenten in oplossing en de eerste stadia van het ionisatieproces onder atmosferische druk plaats vinden, kan deze ionisatietechniek goed gekoppeld worden met HPLC. De koppeling van CE en ES-MS is door de groep van Smith⁷¹ als eerste gepubliceerd.

De groep van Horning publiceerde als één van de eersten een artikel over chemische ionisatie bij atmosferische druk⁸⁶. Het analyt in oplossing wordt via een capillair tezamen met een dragergas (N₂) verneveld in de bron van de massaspectrometer. Hierin bevindt zich een ⁶³Ni-folie, dat elektronen emitteert. De elektronen ioniseren in eerste instantie N₂, dat vervolgens via ion-molecuulreacties het analyt ioniseert. Ionisatie door ion-molecuulreacties is het principe van chemische ionisatie. Omdat dit plaats vindt bij atmosferische druk, wordt deze methode *atmospheric pressure chemical ionisation* (APCI) genoemd. Door het dragergas of het capillair te verhitten, verdampt het oplosmiddel en bevindt het analyt zich al in de gasfase, nog voor ionisatie plaats vindt. Om de ionisatie-efficiëntie te verbeteren werd het nikkelfolie vervangen door een "corona discharge needle", een elektrode, verbonden met een zeer fijne platina naald, waarover een potentiaal wordt aangebracht^{85,87}. Hierdoor krijgen de druppels een lading. Het proces tot vorming van ionen is vergelijkbaar met het proces bij ES. Omdat APCI componenten vanuit oplossing ioniseert, werd deze techniek al snel gebruikt als "interface" voor LC en MS⁸⁸.

De belangrijkste verschillen tussen ES en APCI zijn het moment en de manier van ionisatie: bij ES vindt ionisatie plaats, voordat het monster verneveld wordt; er ontstaat dus een nevel van geladen druppels. Bij APCI wordt het monster eerst verneveld, zodat er een nevel van neutrale druppels ontstaat; ionisatie vindt plaats doordat de druppels bij het passeren van de "corona discharge needle" geladen worden. In beide gevallen kan de ionisatie-efficiëntie verhoogd worden door verhoging van de potentiaal op het capillair of op de naald, of door toevoeging van zuur of buffers in lage concentraties. Bij ES vindt direct ionisatie van de componenten plaats, bij APCI gebeurt dit indirect door ion-molecuulreacties. Hoewel in het begin van de ontwikkeling van LC-MS bij toepassing van ES een lager debiet noodzakelijk was dan bij toepassing van APCI, is dit niet meer

het geval; ook ES kan nu toegepast worden bij een debiet van 1 ml/min. Het toepassingsgebied is nog enigszins verschillend: APCI wordt toegepast voor matig polaire tot polaire componenten, ES voor de meer polaire tot ionogene componenten. Tevens wordt ES gebruikt voor de analyse van biomoleculen, omdat onder ES-condities moleculen meervoudig geladen kunnen worden.

LC-MS is niet alleen een scheidings- en detectietechniek, maar levert tevens een éénduidige identificatie van het analyt; hierdoor treedt er een verschuiving op naar het gebruik van deze methode^{14,17,30,42,54-56,89}, mede doordat de huidige instrumenten ook zeer goed bruikbaar zijn voor routinematige analyses. Hoewel *LC-MS* veel voordelen heeft, zijn er ook nadelen: de optimale condities voor HPLC zijn niet altijd zonder aanpassing te combineren met MS; bufferconcentraties, gangbaar voor HPLC-UV zijn vaak te hoog voor LC-MS; wanneer er een gradiënt gebruikt wordt, kan na de HPLC-kolom een 'tegen-gradiënt' gebruikt worden om de samenstelling van het eluaat richting massaspectrometer constant te houden; kleine hoeveelheden verontreinigingen kunnen de ionisatie van de analyt bevorderen of onderdrukken, zelfs als deze verontreinigingen zelf niet ioniseerbaar en dus niet detecteerbaar zijn⁹⁰.

Hoewel ook *NMR* een componentenspecifieke analysemethode is, wordt deze techniek slechts sporadisch gebruikt voor de identificatie van bestrijdingsmiddelen^{48,91}. *LC-NMR* is een relatief nieuwe methode, vereist kostbare apparatuur en is momenteel zeker niet bestemd voor routinematige analyses.

2.5. Gekoppelde opzuivering, scheiding en detectie c.q. identificatie

Om de monsteranalyse zoveel mogelijk te automatiseren kan een deel van de voorbereiding online plaats vinden. Door de ontwikkeling van een nieuwe SPME-methode is *SPME-HPLC-UV* mogelijk¹⁰; deze methode kan door een kleine aanpassing van de autosampler geautomatiseerd worden. De fiber in de naald is vervangen door een stukje capillaire GC-kolom; dit wordt in-tube SPME genoemd. Het monsterextract wordt in de autosampler geplaatst en een kleine hoeveelheid extract wordt diverse malen in het capillair opgezogen en teruggespoten in de monstervial. Uit een tweede vial wordt desorptievloeistof opgezogen en dit wordt met de analyt geïnjecteerd op de HPLC-kolom. Hoewel de extractie- en desorptietijd afhankelijk zijn van de analyt en de coating van het capillair zijn ze veel korter dan bij handmatige fiber SPME: de extractie duurt ca. 10 min., de desorptie nog geen minuut. Andere voordelen van in-tube SPME ten opzichte van fiber SPME: absorptie van de analyt vindt in het capillair plaats, terwijl dit bij fiber SPME aan de buitenkant van de fiber plaats vindt; bij terugtrekken van de fiber in de naald, kan de coating beschadigen; dit wordt voorkomen bij in-tube SPME. Nadeel is echter dat vaste deeltjes het capillair kunnen verstoppen. Omdat bij in-tube SPME gebruik gemaakt wordt van een stukje capillaire GC-kolom is er een grote verscheidenheid aan coatings beschikbaar. Deze methode lijkt veelbelovend, maar is alleen nog maar getest voor diverse fenylureum herbiciden standaarden en niet voor complexe matrices.

Ook de online opzuivering met behulp van SPE is gepubliceerd: *SPE-HPLC-UV* voor pesticiden in water³⁰ en voor de analyse van paraquat en diquat¹⁷; *SPE-LC-MS* voor de analyse van quats in water^{17,56,89}; *SPE-LC-ES-MS-MS* na derivatisering van glyfosaat en AMPA in water³⁰; *SPE-MALDI-MS* voor analyse van paraquat en diquat in drinkwater⁵⁸.

3. ANALYSEMETHODEN – SPECIFIEK

De polaire bestrijdingsmiddelen zijn onder te verdelen in een aantal groepen: 1. ureum pesticiden; 2. fenoxycarbonzuren; 3. carbamaten, inclusief propamocarb; 4. quaternaire ammonium zouten (quats); 5. glyfosaat; 6. sulcotrion. In bijlage A zijn structuurformules weergegeven. Daar iedere groep specifieke eigenschappen heeft, is het niet mogelijk om één algemene analysemethode te ontwikkelen voor alle verbindingen. Wel zijn er diverse 'multiresidumethoden' ontwikkeld voor meerdere componenten binnen één bepaalde groep^{6,11,53}.

3.1 Ureum pesticiden (Bijlage B, tabel 1)

Ureum pesticiden kunnen onderverdeeld worden in fenylureum en sulfonylureum verbindingen. Fenylureum pesticiden kunnen uit vegetatie geëxtraheerd worden door ultraturax met een oplosmiddel^{6,42}. Door gebruik te maken van MSPD wordt er minder monster en oplosmiddel gebruikt en tevens is de bewerking minder tijdrovend. Dit is beschreven voor een aantal insecticiden in sinaasappels, aangezien deze middelen essentieel zijn voor de bestrijding van plagen bij de teelt van citrusfruit¹⁵.

Na opzuivering vindt scheiding van de diverse componenten plaats met behulp van HPLC, gevolgd door detectie met UV^{10,15}, detectie met een massaspectrometer⁴², of "postcolumn" derivatisering tot fluorescerende componenten en detectie met een fluorescentiedetector⁶. Hoewel de detectielimiet (LOD) mede bepaald wordt door de opwerking, voorafgaand aan de detectie, is de LOD voor HPLC-fluorescentie en LC-MS duidelijk lager dan voor HPLC-UV. De MSPD-methode heeft echter als voordeel dat extractie en opzuivering in één stap plaats vinden. De LC-MS-methode is slechts getest voor één component en hierbij is een tijdrovende, handmatige vloeistof-vloeistof-extractie gebruikt, gevolgd door opzuivering over een GPC-kolom. Deze methode is echter wel een confirmatiemethode. SPME-HPLC-UV is alleen getest voor standaarden; de toepasbaarheid en de LOD van deze methode voor de analyse in vegetatie vereist verder onderzoek. Voor alle vier de methoden geldt dat alleen de fenylureum pesticiden bepaald worden en niet de corresponderende aromatische amines, die door hydrolyse in het monster gevormd kunnen zijn. Wanneer beide typen verbindingen bepaald moeten worden, moeten de fenylureum verbindingen eerst door hydrolyse omgezet worden in de corresponderende aromatische amines. Deze amines kunnen via een bewerkelijke methode gebromeerd worden, waarna analyse met behulp van GC plaats vindt⁶. Verschillende fenylureum pesticiden, die omgezet worden tot dezelfde broomverbindingen kunnen niet van elkaar onderscheiden worden. Een aantal verbindingen, onder andere chloroxuron en difenoxuron, kunnen met deze methode niet bepaald worden. Deze componenten worden na hydrolyse gemethyleerd, eveneens gevolgd door analyse met behulp van GC⁶.

Publicaties over de analyse van sulfonylureum verbindingen beschrijven meestal de analyse in water of grond. Hoewel deze matrices niet van wezenlijk belang zijn voor deze studie, kan de informatie over opzuivering, scheiding en detectie wel relevant zijn. Extractie uit grond vindt meestal plaats in enigszins basisch milieu^{16,21}. Vervolgens wordt het extract, evenals watermonsters, voor opzuivering aangezuurd tot pH 2 à 3^{16,21,54}. Voor de opzuivering wordt gebruik gemaakt van SPE C₁₈, of een combinatie van meerdere ionenwisselaarkolommen. Scheiding en detectie vindt plaats met HPLC-UV, CE-UV of LC-MS. Krynitsky heeft een vergelijkend onderzoek uitgevoerd voor de analyse van diverse sulfonylureum herbiciden in moeraswater met CE-UV en

met LC-MS en CID. Voor beide methoden zijn de recovery en de LOD vergelijkbaar⁵⁴.

3.2 Fenoxycarbonzuren (Bijlage B, tabel 2)

Fenoxycarbonzuren kunnen uit vegetatie geëxtraheerd worden door koken in basisch milieu, waarna de pH op 2 gebracht wordt en opzuivering met behulp van SPE C₁₈ en silica plaats vindt, gevolgd door HPLC-UV analyse⁶. Voor de analyse in vlees wordt een vergelijkbare methode gebruikt, maar voor de verwijdering van eiwitten is opzuivering met SPE amino noodzakelijk⁶. De detectiegrenzen zijn in beide gevallen vergelijkbaar, maar de recovery is voor de analyse in vlees lager dan voor de analyse in vegetatie. Wanneer meer gevoeligheid vereist is, kunnen de carbonzuren na extractie omgezet worden in pentafluorbenzylesters; deze esters zijn thermostabiel en kunnen met behulp van GC geanalyseerd worden^{6,25}. De detectiegrens is een factor 2 tot 10 lager dan voor de HPLC-methode⁶. De minst bewerkelijke methode voor de analyse van fenoxycarbonzuren is de methode die binnen het cluster Bestrijdingsmiddelen gebruikt wordt: extractie met aceton/methanol, geen opzuivering, methylering tot methylesters en analyse met behulp van GC-MS²⁷. Zonder opzuivering is de kans op storende componenten in het monsterextract echter groot; tevens blijkt de recovery voor de analyse in diverse matrices sterk te variëren. Voor de analyse in grond en water wordt de zure waterlaag geëxtraheerd met ethylacetaat³. Detectiegrenzen worden hierbij niet vermeld. Handmatige extractie is mogelijkermits minder tijdrovend dan opzuivering over twee SPE-kolommetjes, maar het is onzeker of bij de analyse in vegetatie de storende componenten in de zure waterlaag achterblijven. Eash en Bushway verwijzen in hun review naar een methode om carbonzuren te derivatiseren tot fluorescerende verbindingen en vervolgens te analyseren met CE⁶⁵. Dit impliceert tevens dat de analyse van carbonzuren met HPLC, "postcolumn" derivatisering en fluorescentiedetectie mogelijk zou moeten zijn.

3.3 Carbamaten, inclusief propamocarb (Bijlage B, tabel 3)

Carbamaten, zoals aldicarb, ethiofencarb en methiocarb, kunnen metaboliseren tot het corresponderende sulfoxide en sulfon^{20,39,48}, en carbofuran kan omgezet worden tot 3-hydroxycarbofuran^{20,39}. De snelheid van deze omzetting is onder andere afhankelijk van de temperatuur en de beschikbaarheid van zuurstof en is tevens verschillend per carbamaat. Om zowel het carbamaat als de metaboliet te analyseren worden de componenten uit de matrix geëxtraheerd met een oplosmiddel onder ultraturrax^{6,24,39,45} of door schudden³⁸, gevolgd door opzuivering over een kolom en scheiding op een GC- of HPLC-kolom.

GC-analyses met een NPD⁴⁸ en een massaspectrometer^{24,45} als detector zijn beschreven. Daar de detectielimieten op zeer verschillende wijze omschreven zijn, is een vergelijking tussen deze methoden niet goed mogelijk. Omzetting van de carbamaten tot heptafluorbutyrylderivaten voor GC-analyse²⁴ levert geen lagere detectielimiet dan zonder derivatisering, maar is misschien noodzakelijk in verband met de matrix.

HPLC is gecombineerd met UV-detectie^{7,11,14,15,20} en met fluorescentiedetectie^{6,38,39,74}. De laatste verlaagt de detectielimiet aanzienlijk, maar de recovery is sterk afhankelijk van het carbamaat en kan zelfs erg laag zijn (17 - 33%) voor sommige metabolieten⁶. De analyse-methode, waarin extractie en opzuivering met behulp van MSPD C₈ plaats vindt, gevolgd door

HPLC-UV¹⁵, heeft een hogere detectielimiet, maar dit zou verbeterd kunnen worden door detectie met behulp van fluorescentie. SPME is alleen toegepast voor de analyse van één carbamaat in water; over de toepasbaarheid in andere matrices is niets vermeld.

Bushway *et al.* en Nunes *et al.* hebben een immunochemische methode gepubliceerd^{14,74}. De ELISA van Nunes *et al.* heeft een te hoge detectielimiet, de andere methode lijkt veelbelovend, maar is niet beter dan de HPLC-fluorescentiedetectie, die ook beschreven is. Voor de HPLC-UV en LC-MS methode hebben Nunes *et al.*¹⁴ geen recovery en detectielimieten vermeld, zodat deze methoden niet vergeleken kunnen worden met andere methoden; tevens is de extractiemethode zeer bewerkelijk en is de spike toegevoegd na extractie.

Qua recovery en detectielimiet zijn de methoden van Van Zoonen⁶, Obana⁴⁵, Ali³⁹ en Bushway *et al.*⁷⁴ en de RIKILT-methode³⁸, vergelijkbaar, maar de matrix is divers. De methode van Obana *et al.* is speciaal doordat het monster eerst gemengd wordt met een sterk waterabsorberend polymeer, waarna extractie met ethylacetaat plaats vindt. Voor de opzuivering wordt gebruik gemaakt van SPE koolstof, en scheiding en detectie vindt plaats met GC-MS, of GC gekoppeld aan een andere detector. In geen enkel stadium van de opwerking wordt het extract of eluaat ingedampt. Deze methode heeft een aantal voordelen ten opzichte van de andere methoden: 1. er wordt niet ingedampt; dit bespaart tijd en voorkomt het concentreren van verontreinigingen; 2. door als detector een massaspectrometer te gebruiken is de identificatie eenduidig; 3. zondig kan het eluaat ingedampt worden, mocht een lagere detectiegrens gewenst zijn. De analyse vindt echter plaats met GC en Keum *et al.*⁴⁸ vermelden dat methiocarb gedeeltelijk hydrolyseert in de gaschromatograaf.

Propamocarb is een carbamaat, maar kan met bovenstaande methoden niet geanalyseerd worden. Propamocarb lost op in neutraal tot zuur water. Op basis hiervan zijn er in principe drie extractie- en opzuiveringsmethoden mogelijk: 1. extractie met zuur water en wassen met een organisch oplosmiddel⁴⁰; 2. extractie met water, waterlaag basisch maken en extraheren met organisch oplosmiddel^{6,36}; 3. een combinatie van beide: extractie met (zuur) water, wassen met organisch oplosmiddel, de waterlaag basisch maken en extraheren met organische oplosmiddel⁴³. De laatste methode is getest voor diverse soorten matrix met een lage detectiegrens, maar is wel meer arbeidsintensief dan de andere methoden.

3.4 Quaternaire ammonium zouten/Quats (Bijlage B, tabel 4)

De belangrijkste, in Nederland toegestane, middelen in de groep quats zijn paraquat, diquat en chloormequat. De verbindingen zijn stabiel in zuur milieu, maar diquat hydrolyseert bij pH > 9 en paraquat bij pH > 12^{4,12,17}. Quaternaire ammonium herbiciden hebben een sterke affiniteit met kleiachtige materialen en allerlei componenten in planten, waardoor ze moeilijk te extraheren zijn^{17,75}.

In de literatuur is de analyse van paraquat, diquat en verwante verbindingen in zeer uiteenlopende matrices beschreven: marihuana¹, granen^{2,4,5,41,44}, aardappels^{2,4,41,46,47}, perzik², kool², rapen⁴, asperge⁴, appels⁴⁴, witte bonen⁵, suikerrietblad⁴⁴, perenextract⁸⁹, gras⁴¹, biologische monsters^{19,44,73}, grond^{46,92} en watermonsters^{12,18,41,44,47,50,55,56,58,70}. Ook zijn diverse scheidings- en detectiemethoden gebruikt voor de analyse van standaarden of watermonsters

zonder een opwerkingsmethode: spectrofotometrie^{66,67}, voltammetrie⁵⁰, CE-inverse UV⁶⁸, ES-MS⁷², CE-MS⁶⁸⁻⁷⁰ en LC-MS⁸⁹. De LOD voor chloormequat in perenextract met LC-ES-MS is zeer laag, ca. 0.05 µg/l, de LOD voor paraquat en diquat met voltammetrie is ca. 5 µg/l; de overige LODs zijn een factor 10 tot 1000 hoger. De LODs hebben echter betrekking op de concentratie in de te meten oplossing.

Bij de analyse van biologische monsters wordt eerst het eiwit verwijderd^{19,44}, gevolgd door extractie met zuur. Extractie uit vaste matrix vindt meestal plaats door verhitten in zuur milieu. Het extract wordt basisch gemaakt en gezuiverd op een silicakolom. Watermonsters worden op een silicakolom geconcentreerd. De analyse vindt plaats met behulp van HPLC-UV^{1,2,4,5,12,18,19,22}, LC-MS^{55,56} of CE-UV¹⁸. Paraquat kan na reductie tot een blauw radicaal ion met behulp van ascorbinezuur^{41,67}, ascorbinezuur en kaliumjodaat⁶⁶, glucose⁴⁴, natriumdithioniet^{17,47}, natriumhydrosulfiet¹⁷ of natriumboorhydride¹⁷ spectrofotometrisch bepaald worden bij 600 nm. Hoewel vermeld wordt dat diquat de analyse van paraquat stoort door de vorming van een groen radicaal ion^{44,47,66}, wordt de spectrofotometrische bepaling van diquat niet als analysemethode beschreven.

Er is een aantal afwijkende methoden gepubliceerd: opzuivering over een kationenwisselaar^{2,47,50} of over koolstof¹⁸; reductie van paraquat en extractie met ether¹⁹; derivatisering met benzaldehyde, gevolgd door fluorescentiedetectie⁴⁶; voltammetrische bepaling⁵⁰; scheiding en detectie met CE en inverse UV⁶⁸; online opzuivering met behulp van SPE-HPLC-UV¹⁷; opzuivering met een SPE disk direct gekoppeld aan LC-MS⁵⁶ of MALDI-MS⁵⁸. Ook zijn er publicaties over analyse van paraquat met immunochemische technieken^{73,75}.

Bij de hier genoemde methoden zijn niet altijd detectielimieten vermeld. Ook is het begrip 'detectielimiet' niet eenduidig gebruikt. De detectielimiet is die concentratie of dat gehalte, resulterend in een signaal ter grootte van drie maal de ruis. Wanneer hiervoor de concentratie van een standaardoplossing wordt gehanteerd en deze concentratie wordt voor de desbetreffende methode omgerekend naar het gehalte in het monster, zal de LOD lager zijn, dan wanneer uitgegaan wordt van het gehalte in het monster dat nog een signaal ter grootte van drie maal de ruis geeft. De ruis in een monsterextract is meestal hoger dan in een standaardoplossing en tevens is de recovery door verlies tijdens de opwerking vrijwel nooit 100%. De recovery is ook niet altijd vermeld en soms is het spikenniveau veel hoger dan de detectielimiet. Vergelijken van de diverse methoden is hierdoor moeilijk. Wel kan gesteld worden dat de recovery voor diquat bij dezelfde methode lager is dan voor paraquat. Ook blijkt uit het onderzoek van Carneiro *et al.*¹⁸ dat de LOD bij gebruik van CE-UV hoger is dan bij HPLC-UV; voor de opzuivering van kraan- en rivierwatermonsters kan zowel SPE koolstof als SPE silica gebruikt worden, alhoewel in CE de basislijn hoger was na opzuivering met silica dan na opzuivering met koolstof. De spectrofotometrische bepaling van paraquat heeft een hoge detectiegrens, maar dit zou verbeterd kunnen worden door de bepaling vooraf te laten gaan door scheiding met behulp van HPLC en "postcolumn" reductie. Dit zou tevens de spectrofotometrische bepaling van diquat mogelijk maken.

3.5 Glyphosaat (Bijlage B, tabel 5)

Glyphosaat kan metaboliseren tot aminomethylfosfonzuur, ook wel AMPA genoemd. In veel publicaties is de analyse van beide componenten in water beschreven^{28,30,49}, maar ook over andere matrices zijn artikelen verschenen^{23,28,35}. Extractie vanuit vegetatie vindt plaats met water of verdund zuur tezamen met een organisch oplosmiddel, gevolgd door opzuivering over één of twee ionenwisselaars. De beide componenten worden gederivatiseerd, óf om scheiding met behulp van GC mogelijk te maken, óf om ze na scheiding op een HPLC-kolom met behulp van fluorescentie te kunnen detecteren. Wanneer met behulp van HPLC en fluorescentiedetectie glyphosaat of AMPA is aangetoond, kan dit bevestigd worden door heranalyse, waarbij het oxidatie-reagens niet wordt toegevoegd. Bij de retentietijd, waarbij in de vorige analyse glyphosaat of AMPA werd aangetoond, zal nu niets gevonden worden.

Detectie met behulp van chemieluminescentie van glyphosaatstandaarden is beschreven door Ridlen *et al.*⁹³. Derivatisering vindt plaats met tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II). Tijdens de elektrolyse wordt $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ door oxidatie omgezet tot $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$; dit reageert met reducerende verbindingen tot het aangeslagen ion $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$; door relaxatie vindt emissie van licht plaats. De hoeveelheid licht is afhankelijk van de reducerende verbinding en de zuurgraad. De diverse amines worden gescheiden op een anionen- of kationenwisselaar HPLC-kolom. $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ wordt aan de mobiele fase toegevoegd, maar kan bij gebruik van een kationenwisselaar ook na de kolom aan het eluaat worden toegevoegd. De detectielimiet is hoog.

De genoemde methoden, uitgezonderd de methode van Ridlen, lijken qua recovery en LOD vergelijkbaar. De RIKILT-methode³⁷ is minder bewerkelijk, omdat daarbij geen opzuivering plaats vindt, maar hiermee wordt geen AMPA bepaald.

3.6 Sulcotrion (Bijlage B, tabel 6)

Sulcotrion is een relatief nieuw herbicide, dat in 1994 door Zeneca op de markt werd gebracht. Er zijn nog weinig publicaties over dit pesticide verschenen: een zoekopdracht leverde slechts vier artikelen^{9,26,94,95}. Baer en Calvet⁹⁴ beschrijven een simulering van het gedrag van sulcotrion in grond met behulp van verschillende numerieke methoden. Hierin wordt verwezen naar een analysemethode, waarbij extractie plaats vindt met methanol, gevolgd door scheiding met behulp van HPLC, beschreven in het proefschrift van Baer. Fischer en Siebers⁹ beschrijven in grote lijnen de analyse van meerdere pesticiden in planten, vruchten, grond, water en lucht. Voor sulcotrion wordt verwezen naar validatiemethoden van Zeneca, die niet openbaar zijn. Rouchaud *et al.*²⁶ beschrijven een zeer bewerkelijke methode voor de analyse van sulcotrion en metabolieten. Scheiding vindt plaats op een TLC-plaat door twee maal elueren, methyleren, nogmaals scheiden op een TLC-plaat en twee maal elueren, gevolgd door bepaling met GC-ECD of GC-MS. De metabolieten worden op vergelijkbare wijze met andere loopvloeistoffen afzonderlijk geïsoleerd en bepaald. In het artikel van Kim Jin *et al.*⁹⁵ wordt onderzoek naar het werkingsmechanisme van sulcotrion beschreven.

Binnen het RIKILT is een methode ontwikkeld, die getest is op sla, schorseneren en grond. Hierbij bleek sulcotrion gemakkelijk aan glas te hechten, wat verminderd kan worden door het glaswerk voor gebruik te silaniseren¹³.

4. CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

4.1 Algemeen

Om een goede analyse te kunnen uitvoeren moet de monstername op adequate wijze geschieden; dit is echter niet de verantwoordelijkheid van het RIKLT. De monsters, die aangeboden worden, worden geanalyseerd. Omdat slechts een deel van het ingezonden monster gebruikt wordt voor analyse moet het monster als geheel goed gehomogeniseerd worden. Dit kan door malen of pureren, maar ook vriesdrogen en vervolgens verpulveren kan een goede methode zijn. Hiervoor is echter geschikte apparatuur noodzakelijk.

De extractiemethode is sterk afhankelijk van de matrix en de te analyseren component of componenten. Extractie met aceton/dichloormethaan/petroleum ether (1:1:1) blijkt een goede methode te zijn voor een breed scala aan bestrijdingsmiddelen. Wanneer er slechts een beperkt aantal verbindingen geanalyseerd moet worden, moet bepaald worden of deze extractiemix ook in dit geval de beste keuze is.

Ook de opzuivering is sterk matrix- en componentafhankelijk. Het onderzoek naar het juiste SPE-materiaal en het juiste eluens is arbeidsintensief en tijdrovend. Separations levert een systeem voor online opzuivering en scheiding van SPE en HPLC. Hierbij kan het eluens over drie verschillende SPE-kolommetjes, cartridges A, B en C, geleid worden, alvorens het de HPLC-kolom bereikt. Per injectie kan bepaald worden welke cartridge of combinatie van cartridges gebruikt wordt. Dit systeem zou ideaal zijn om het effect van diverse SPE-materialen op de zuiverheid van het extract te testen. MSPD en ASE kunnen zeer tijds- en oplosmiddelbesparend zijn, maar voor deze twee methoden is onderzoek naar de extractie-efficiëntie van de diverse materialen noodzakelijk.

Voor de scheiding van polaire bestrijdingsmiddelen is HPLC de meest gangbare methode. Voor het verlagen van de detectiegrenzen moet een meer gevoelige detectiemethode toegepast worden dan UV-detectie. Dit kan bereikt worden door derivatisering en analyse met behulp van GC-MS, maar dit vergt meer tijd. Wel kan door het gebruik van een massaspectrometer als detector direct de identiteit van het analyt bevestigd worden. Het gebruik van LC-MS zorgt voor een lagere detectiegrens, gecombineerd met confirmatie van het analyt, en voorkomt een langere voorbewerking door derivatisering. Wanneer LC-MS-MS toegepast kan worden, is de aanwezigheid van componenten in het monsterextract met dezelfde retentietijd als het analyt minder storend.

Aangezien LC-MS-MS voor de analyse van bestrijdingsmiddelen relatief nieuw is, zal de methode getest moeten worden met standaarden en standaarden in diverse matrices. De massaspectra van standaarden van bestrijdingsmiddelen zullen afzonderlijk opgenomen en opgeslagen in een database moeten worden, zodat bij een analyse vergelijking mogelijk is. Hoewel in principe voor HPLC-UV en LC-MS hetzelfde type HPLC-kolom gebruikt kan worden, moet getest worden of het eluens, gebruikt voor HPLC-UV wel bruikbaar is voor HPLC-MS. Voor de ionisatie is vaak een geringe hoeveelheid kationen noodzakelijk, maar de bufferconcentraties, die gangbaar zijn voor HPLC-UV zijn vaak veel te hoog voor de LC-MS apparatuur. Tevens wordt bij LC-MS zelden gebruik gemaakt van een gradiënt, wat bij HPLC-UV wel gebruikelijk is. Door na de LC-kolom een 'tegen-gradiënt' te gebruiken, kan de samenstelling van het eluaat richting massaspectrometer constant gehouden worden. Dit vereenvoudigt het optimaliseren van de massaspectrometer, maar is niet

altijd noodzakelijk. Omdat LC-MS niet alleen specifiek, maar ook gevoeliger is dan HPLC-UV, kunnen kleine hoeveelheden verontreinigingen uit oplosmiddel of glaswerk de analyse beïnvloeden⁹⁰. Hoewel deze componenten soms niet ioniseerbaar zijn en dus niet zichtbaar in het massaspectrum, kunnen ze de ionisatie van de te bepalen analyt bevorderen of onderdrukken. Hiervoor zou gecorrigeerd kunnen worden door gebruik te maken van een gelabeld pesticiden als interne standaard. Gelabelde verbindingen met OD-groepen in plaats van OH-groepen voldoen niet door de snelle uitwisseling van waterstof en deuterium in polair milieu. Van slechts weinig pesticiden zijn andere labels beschikbaar en deze zijn erg duur. Er zullen dus voor deze nieuwe methode criteria geformuleerd moeten worden, waaraan de chemicaliën, het glaswerk, de apparatuur en de spectra moeten voldoen: de kwaliteit van chemicaliën moet vastgelegd worden; mogelijk moet het glaswerk gesilaniseerd, of op een andere wijze behandeld worden; onderzocht moet worden of er tijdens de opwerking gebruik gemaakt kan worden van laboratoriumbenodigdheden van kunststof; de instrumentele parameters zullen nauwkeurig beschreven moeten worden; per analyt zullen specifieke m/z waarden, de intensiteitverhoudingen en de spreiding hierin bepaald moeten worden, op basis waarvan een analyt geïdentificeerd wordt.

Om de overgang van HPLC-UV naar LC-MS voor te bereiden zullen de LC-condities op het HPLC-systeem met standaarden uitgezocht worden. Hierbij zal worden uitgegaan van een LC-kolom en eluens, zoals die toegepast gaan worden bij de uiteindelijke LC-MS analyses. In Bijlage B, tabel 7 is een overzicht gegeven van de condities voor LC-MS voor de analyse van polaire bestrijdingsmiddelen. Ook zijn daarin vermeld de condities, zoals die gebruikt worden binnen de afdeling NRC⁹⁶; hiermee is inmiddels veel ervaring opgedaan bij de analyse van hormonen en diergeneesmiddelen. Deze condities zullen als uitgangspunt dienen voor de optimalisering van de HPLC-condities. Zo nodig zal onderzocht worden of de condities gebruikt door anderen voor bestrijdingsmiddelen beter resultaat leveren.

4.2 Specifiek

Een multiresidumethode, waarmee diverse groepen van polaire bestrijdingsmiddelen geanalyseerd kunnen worden, is niet mogelijk. Per groep verbindingen zijn in tabel 8 analysemethoden verkort weergegeven, zoals die in eerste instantie toegepast kunnen worden binnen het RIKILT. In bijlage C is een uitgebreide beschrijving opgenomen, waarbij in eerste instantie de voorkeursmethode is beschreven, zo nodig gevolgd door aanpassingen om de methode toepasbaar te maken voor de huidige opstellingen. In tabel 8 is ook aangegeven welke wijzigingen onderzocht moeten worden om de methode te optimaliseren. Voor de bevestiging van een analyt zal de nadruk liggen op het toepassen van LC-MS en LC-MS-MS.

4.2.1 Ureum pesticiden

Voor de analyse van fenylureum herbiciden gaat de voorkeur uit naar de HPLC-methode met fluorescentiedetectie: extractie met een mengsel van aceton/dichloormethaan/petroleum ether, opzuivering over SPE aminopropyl, gevolgd door HPLC, "postcolumn" derivatisering en fluorescentiedetectie⁶. De HPLC-methode van Valenzuela¹⁵ heeft een te hoge detectiegrens, de LC-MS-methode van Barnes *et al.*⁴² is slechts voor één component getest en de GC-methoden zijn erg bewerkelijk. De HPLC-methode met fluorescentiedetectie is getest voor 15 componenten in diverse matrices. Nadeel is dat de "postcolumn" hydrolyse plaats vindt door middel van fotolyse;

hiervoor is een aangepaste opstelling nodig. Tevens worden met deze methode de metabolieten niet bepaald. Getest moet worden of "postcolumn" hydrolyse ook uitgevoerd kan worden met behulp van natronloog. Zolang dit onderzoek niet uitgevoerd is, zal een alternatieve methode gebruikt moeten worden. Combinatie van diverse stappen van bovengenoemde methoden leidt tot de multiresidumethode, zoals die bij het RIKILT gebruikt wordt: extractie met een mengsel van aceton/dichloormethaan/petroleum ether, opzuivering over GPC, en scheiding en detectie met behulp van HPLC-UV⁵³. Hoewel deze methode niet vaak gebruikt is voor de analyse van fenylureum herbiciden, lijkt dit een goed alternatief, hoewel er geen lage detectiegrenzen behaald zullen worden (zie bijlage C).

De analyse van sulfonylureum herbiciden in vegetatie en voedingsmiddelen zal gebaseerd zijn op de analyse van deze componenten in grond: extractie in zwak basisch milieu, opzuivering op SPE C₁₈ en scheiding en detectie met HPLC-UV (zie bijlage C).

4.2.2 Fenoxycarbonsuren

De minst bewerkelijke methode voor de analyse van fenoxycarbonsuren is de methode die binnen het cluster Bestrijdingsmiddelen gebruikt wordt²⁷; de recovery varieert echter sterk. Daarom heeft de methode volgens Van Zoonen⁶ de voorkeur. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een kolomschakelsysteem (zie bijlage C). De online voorzuivering op de eerste kolom zou ook "offline" kunnen plaats vinden met behulp van SPE met hetzelfde kolommateriaal. Het is echter onduidelijk welk materiaal gebruikt is. Daarom zal alleen de extractie en opzuivering volgens deze methode uitgevoerd worden; scheiding en detectie dienen uitgevoerd te worden op het huidige HPLC-PDA-systeem, zo nodig met aanpassing van het eluens (zie bijlage C). De methode kan mogelijk verbeterd worden door "postcolumn" derivatisering en fluorescentiedetectie⁶⁵.

4.2.3 Carbamaten, inclusief propamocarb

Om het gehalte aan carbamaten op de juiste wijze te kunnen bepalen, moeten ook de metabolieten bepaald worden. Carbamaten metaboliseren niet alleen in het monster, maar soms ook tijdens de opwerking. Hoewel de methode van Ali³⁹ en de RIKILT-methode³⁸ beschreven zijn voor monsters van dierlijke oorsprong, zal de opwerking ook toepasbaar zijn voor vegetatie (zie bijlage C). Het extract, verkregen door extractie met alleen DCM gevolgd door opzuivering over een GPC-kolom, is vermoedelijk schoner, dan het extract verkregen door extractie met aceton/DCM/PE, zoals beschreven door Van Zoonen⁶.

De beste opwerkingsmethode voor de analyse van propamocarb is extractie in licht zuur milieu, wassen met organisch oplosmiddel, waterlaag basisch maken en extraheren met organisch oplosmiddel⁴³. Analyse vindt plaats met GC-MS³⁶ (zie bijlage C).

4.2.4 Quaternaire ammoniumzouten/Quats

De methode, zoals die momenteel bij het cluster Bestrijdingsmiddelen gebruikt wordt²², voor de analyse van paraquat en diquat in grond is arbeidsintensief, mede doordat de extracten moeilijk te filtreren zijn over een spuitfilter, maar is toch goed bruikbaar, zolang er geen betere methode ontwikkeld is. Bij de methodeontwikkeling moet uitgegaan worden van refluxen met zwavelzuur, gevolgd door opzuivering op SPE silica en analyse met HPLC-UV. Er moeten meerdere matrices getest worden en ook andere quats. Als detectiemethode kunnen getest worden: fluorescentie-detectie na "postcolumn" derivatisering met benzaldehyde; spectrofotometrische detectie na "postcolumn" reductie met glucose.

4.2.5 Glyphosaat

De RIKILT-methode³⁷ is uitgangspunt voor eventuele verbeteringen (zie bijlage C). Onderzocht moet worden of op deze wijze ook AMPA geanalyseerd kan worden en in hoeverre deze methode bruikbaar is voor andere matrices. Voor confirmatie dient heranalyse plaats te vinden, waarbij geen oxidatiereagens wordt toegevoegd.

4.2.6 Sulcotrion

Omdat er over sulcotrion nog maar weinig gepubliceerd is, zal in principe de RIKILT-methode¹³ gebruikt worden (zie bijlage C). Literatuuronderzoek naar analysemethoden voor deze component zal noodzakelijk blijven.

REFERENTIES:

1. L. Needham, D. Paschal, Z.J. Rollen, J. Liddle, and D. Bayse: Determination of paraquat in marijuana by reversed-phase paired-ion high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* **1979**, *17*, 87-90.
2. T. Nagayama, T. Maki, K. Kan, M. Iida, and T. Nishima: Reverse-phase liquid chromatographic determination of paraquat and diquat in agricultural products. *J. AOAC Int.* **1987**, *70*, 1008-1011.
3. I.S. Kim, F.I. Sasinis, R.D. Stephens, J. Wang, and M.A. Brown: Determination of chlorinated phenoxy acid and ester herbicides in soil and water by liquid chromatography particle beam mass spectrometry and ultraviolet absorption spectrophotometry. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 819-823.
4. T.M. Chichila and S.M. Walters: Pesticide and industrial chemical residues. Liquid chromatographic determination of paraquat and diquat in crops using silica column with aqueous ionic mobile phase. *J. AOAC Int.* **1991**, *74*, 961-967.
5. T.M.P. Chichila and D.M. Gilvydis: Determination of paraquat and diquat in low-moisture food crops using silica column cleanup and liquid chromatography with UV detection. *J. AOAC Int.* **1993**, *76*, 1323-1328.
6. Analytical methods for pesticide residues in foodstuffs. Ed.: P. van Zoonen, Bilthoven. General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sport, The Netherlands. 6th ed., **1996**.
7. K. Jinno, T. Muramatsu, Y. Saito, Y. Kiso, S. Magdic, and J. Pawliszyn: Analysis of pesticides in environmental water samples by solid-phase micro-extraction-high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **1996**, *754*, 137-144.
8. E. Conte, R. Milani, G. Morali, and F. Abballe: Comparison between accelerated solvent

- extraction and traditional extraction methods for the analysis of the herbicide diflufenican in soil. *J. Chromatogr.* **1997**, *765*, 121-125.
9. R. Fischer and J. Siebers: Residue analysis of new pesticides. 1st communication: aclonifen, azoxystrobin, buprofezin, metosulam, pyrimethanil, sulcotrione. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **1997**, *49*, 246-254.
 10. R. Eisert and J. Pawliszyn: Automated in-tube solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography. *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 3140-3147.
 11. Solid phase extraction of pesticides from fruits and vegetables, for analysis by GC or HPLC: in *Supelco Bulletin 900B*, **1997**, pp. 1-6.
 12. M. Ibáñez, Y. Picó, and J. Mañes: Improving the solid-phase extraction of "quat" pesticides from water samples - Removal of interferences. *J. Chromatogr.* **1998**, *823*, 137-146.
 13. Analysemethode voor sulcotrion, zoals gebruikt bij het RIKILT, Wageningen. **1998**.
 14. G.S. Nunes, M.P. Marco, M.L. Ribeiro, and D. Barceló: Validation of an immunoassay method for the determination of traces of carbaryl in vegetable and fruit extracts by liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometric detection. *J. Chromatogr.* **1998**, *823*, 109-120.
 15. A.I. Valenzuela, R. Lorenzini, M.J. Redondo, and G. Font: Matrix solid-phase dispersion microextraction and determination by high-performance liquid chromatography with UV detection of pesticide residues in citrus fruit. *J. Chromatogr.* **1999**, *839*, 101-107.
 16. M. Ventriglia, P. Restani, P. Morrica, P. David, L.D. Angelis, and C.L. Galli: Liquid chromatographic determination of imazosulfuron in drinking water and in soil using ultraviolet detection. *J. Chromatogr.* **1999**, *857*, 327-330.
 17. Y. Picó, G. Font, J.C. Moltó, and J. Mañes: Solid-phase extraction of quaternary ammonium herbicides. *J. Chromatogr.* **2000**, *885*, 251-271 en referenties.
 18. M.C. Carneiro, L. Puignou, and M.T. Galceran: Comparison of silica and porous graphitic carbon as solid-phase extraction materials for the analysis of cationic herbicides in water by liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *408*, 263-269.
 19. K. Arys, J. Van Bocxlaer, K. Clauwaert, W. Lambert, M. Piette, C. Van Peteghem, and A. De Leenheer: Quantitative determination of paraquat in a fatal intoxication by HPLC-DAD following chemical reduction with sodium borohydride. *J. Anal. Toxicol.* **2000**, *24*, 116-121.
 20. P.P. Vázquez, J.L.M. Vidal, and J.M. Fernández: Reversed-phase liquid chromatographic column switching for the determination of *N*-methylcarbamates and some of their main metabolites in urine. *J. Chromatogr.* **2000**, *738*, 387-394.
 21. Z.L. Chen, R.S. Kookana, and R. Naidu: Determination of sulfonylurea herbicides in soil extracts by solid-phase extraction and capillary zone electrophoresis. *Chromatographia* **2000**, *52*, 142-146.
 22. Analysemethode voor paraquat en diquat in grond, zoals gebruikt bij het RIKILT, Wageningen. **2001**.
 23. S.K. Konar and D.N. Roy: Method for the determination of residues of the herbicide glyphosate and its principal metabolite, aminomethylphosphonic acid, in plant materials by nitrogen-selective gas chromatography. *Anal. Chim. Acta* **1990**, *229*, 277-280.
 24. R.S. Bakowski, M.S. Ali, J.D. White, and E.T. Philippo: Gas chromatographic/mass spectrometric confirmation of ten *N*-methylcarbamate insecticides in liver. *J. AOAC Int.* **1994**, *77*, 1569-1574.
 25. T. Heberer, S. Butz, and H.-J. Stan: Detection of 30 acidic herbicides and related compounds as their pentafluorobenzoylic derivatives using gas chromatography/mass spectrometry. *J.*

AOAC Int. **1994**, *77*, 1587-1604.

26. J. Rouchaud, O. Neus, R. Bulcke, K. Cools, and H. Eelen: Sulcotrione soil metabolism in summer corn crops. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1998**, *61*, 669-676.
27. Analysemethode voor MCPA, MCPP en andere fenoxycarbozuren, zoals gebruikt bij het RIKILT, Wageningen. **2000**.
28. A. Royer, S. Beguin, J.C. Tabet, S. Hulot, M.A. Reding, and P.Y. Communal: Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid residues in water by gas chromatography with tandem mass spectrometry after exchange ion resin purification and derivatization. Application on vegetable matrixes. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3826-3832.
29. C. Torres, Y. Picó, and J. Mañes: Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *J. Chromatogr.* **1996**, *754*, 301-331 en referenties.
30. J. Sherma: Pesticide residue analysis: 1997 - 1998. *J. AOAC Int.* **1999**, *82*, 561-574 en referenties.
31. J. Sherma: Recent advances in thin-layer chromatography of pesticides. *J. AOAC Int.* **1999**, *82*, 48-53 en referenties.
32. J. Beltran, F.J. López, and F. Hernández: Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *J. Chromatogr.* **2000**, *885*, 389-404 en referenties.
33. H. Kataoka, H.L. Lord, and J. Pawliszyn: Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatogr.* **2000**, *880*, 35-62 en referenties.
34. W. Dedek, K.-D. Wenzel, H. Oberländer, B. Mothes, and J. Männig: Preconcentration of hydrophilic and hydrophobic pesticides from aqueous solutions and extraction of residues using the polymeric sorbent Wofatit Y 77. II. Extension of the studies to hydrophobic pesticides; aqueous extraction of pesticides from plant material and soil. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1991**, *339*, 201-206.
35. Y.Y. Wigfield, F. Deneault, and J. Fillion: Residues of glyphosate and its principle metabolite in certain cereals, oilseeds, and pulses grown in Canada, 1990-1992. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1994**, *53*, 543-547.
36. Analysemethode voor propamocarb, zoals gebruikt bij het RIKILT, Wageningen. **1999**.
37. Analysemethode voor glyfosaat, zoals gebruikt bij het RIKILT, Wageningen. **2001**.
38. L. Blok-Tip, N. Elghouch, and W.A. Traag: Concept RSV A0888. Kwantitatieve analyse van methylcarbamaten in vlees met behulp van HPLC, post-column derivatisering en fluorescentie-detectie. RIKILT, Wageningen. **2001**.
39. M.S. Ali: Determination of *N*-methylcarbamate pesticides in liver by liquid chromatography. *J. AOAC Int.* **1989**, *72*, 586-592.
40. U. Banasiak and D. Schenke: Rückstandstoxikologische Absicherung des Einsatzes der Fungicide Aliette 80 WP und Previcur N in NFT-Tomaten. *Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR* **1990**, *44*, 102-105.
41. P. Shivhare and V.K. Gupta: Spectrophotometric method for the determination of paraquat in water, grain and plant materials. *Analyst* **1991**, *116*, 391-393.
42. K.A. Barnes, J.R. Startin, S.A. Thorpe, S.L. Reynolds, and R.J. Fussell: Determination of the pesticide diflufenuron in mushrooms by high-performance liquid-chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **1995**, *712*, 85-93.
43. T. Nagayama, M. Kobayashi, H. Shioda, and T. Tomomatsu: Gas chromatographic determination of propamocarb in agricultural commodities. *J. AOAC Int.* **1996**, *79*, 769-772.
44. R. Kesari, M. Rai, and V.K. Gupta: Spectrophotometric method for determination of paraquat

- in food and biological samples. *J. AOAC Int.* **1997**, *80*, 388-391.
45. H. Obana, K. Akutsu, M. Okihashi, S. Kakimoto, and S. Hori: Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits using a high capacity absorbent polymer for water. *Analyst* **1999**, *124*, 1159-1165.
 46. T. Pérez-Ruiz, C. Martínez-Lozano, V. Tomás, and J. Fenoll: Spectrofluorimetric determination of paraquat by manual and flow injection methods. *Analyst* **1998**, *123*, 1577-1581.
 47. E. Chico Guijarro, P. Yáñez-Sedeño, and L.M. Polo Diéz: Determination of paraquat by flow-injection spectrophotometry. *Anal. Chim. Acta* **1987**, *199*, 203-208.
 48. Y.S. Keum, K.H. Liu, J.S. Lee, B.J. Chung, and J.H. Kim: Gas chromatographic analysis of methiocarb and its metabolites in soil and rice. *Chromatographia* **2000**, *52*, 237-241.
 49. C. Skark, N. Zullei-Seibert, U. Schöttler, and C. Schlett: The occurrence of glyphosate in surface water. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1998**, *70*, 93-104.
 50. M. Luque, A. Ríos, and M. Valcárcel: Sensitive determination of paraquat and diquat at the sub-ng/ml level by continuous amperometric flow methods. *Analyst* **1998**, *123*, 2383-2387.
 51. Selective extraction of PCBs from fish tissue using accelerated solvent extraction (ASE™): in *Dionex Application Note 322*, **1996**, *322*, pp. 1-4.
 52. A. Di Muccio, P. Pelosi, A.B. Barbini, T. Generali, A. Ausili, and F. Vergori: Selective extraction of pyrethroid pesticide residues from milk by solid-matrix dispersion. *J. Chromatogr.* **1997**, *765*, 51-60.
 53. Multiresiduumethode, zoals gebruikt bij het RIKILT, Wageningen. **2000**.
 54. A.J. Krynitsky: Determination of sulfonylurea herbicides in water by capillary electrophoresis and by liquid chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Int.* **1997**, *80*, 392-400.
 55. R. Castro, E. Moyano, and M.T. Galceran: Ion-pair liquid chromatography-atmospheric pressure ionization mass spectrometry for the determination of quaternary ammonium herbicides. *J. Chromatogr.* **1999**, *830*, 145-154.
 56. R. Castro, E. Moyano, and M.T. Galceran: On-line ion-pair solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry for the analysis of quaternary ammonium herbicides. *J. Chromatogr.* **2000**, *869*, 441-449.
 57. A. Rübél and R. Bierl: Routine analysis of vinicultural relevant fungicides, insecticides and herbicides in soil samples using enhanced solvent extraction (ESE). *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, *364*, 648-650.
 58. R.L. Vermillion-Salsbury and D.M. Hercules: Analysis of diquat and paraquat by solid phase extraction directly coupled with matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1999**, *73*, 297-308.
 59. S.A. Barker: Matrix solid-phase dispersion. *J. Chromatogr.* **2000**, *885*, 115-127 en referenties.
 60. J.E. Richter, B.A. Jones, J.L. Ezzell, N.L. Porter, M. Avdalovic, and C. Pohl: Accelerated solvent extraction; a technique for sample preparation. *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 1033-1039.
 61. P. Zomer: Bepaling van bestrijdingsmiddelen in spaghetti na extractie met accelerated solvent extraction. *Afstudeerrapport Rikilt, Wageningen.* **1999**, pp. 1-35.
 62. B. Benthin, H. Danz, and M. Hamburger: Pressurized liquid extraction of medicinal plants. *J. Chromatogr.* **1999**, *837*, 211-219.
 63. E. Björklund, T. Nilsson, and S. Bøwadt: Pressurised liquid extraction of persistent organic pollutants in environmental analysis. *Trends Anal. Chem.* **2000**, *19*, 434-445.
 64. EPA method 3545 - Pressurized fluid extraction. *Test methods for evaluating solid waste SW-846, 3rd edition* United States Environmental Protection Agency, New England. **1996**.

65. D.T. Eash and R.J. Bushway: Herbicide and plant growth regulator analysis by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.* **2000**, *880*, 281-294 en referenties.
66. A. Jain, K.K. Verma, and A. Townshend: Determination of paraquat by flow-injection spectrophotometry. *Anal. Chim. Acta* **1993**, *284*, 275-279.
67. J.R. Luna, J.F. Ovalles, A. León, and M. Buchheister: A factorial design for optimizing a flow injection analysis system. *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, *367*, 201-203.
68. D. Wycherley, M.E. Rose, K. Giles, T.M. Hutton, and D.A. Rimmer: Capillary electrophoresis with detection by inverse UV spectroscopy and electrospray mass spectrometry for the examination of quaternary ammonium herbicides. *J. Chromatogr.* **1996**, *734*, 339-349.
69. X. Song and W.L. Budde: Capillary electrophoresis-electrospray mass spectra of the herbicides paraquat and diquat. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1996**, *7*, 981-986.
70. E. Moyano, D.E. Games, and M.T. Galceran: Determination of quaternary ammonium herbicides by capillary electrophoresis/mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1996**, *10*, 1379-1385.
71. J.A. Olivares, N.T. Nguyen, C.R. Yonker, and R.D. Smith: On-line mass spectrometric detection for capillary zone electrophoresis. *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 1230-1232.
72. I.M. Lazar, E.D. Lee, A.L. Rockwood, and M.L. Lee: General considerations for optimizing a capillary electrophoresis-electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry system. *J. Chromatogr.* **1998**, *829*, 279-288.
73. J. Van Emon, B. Hammock, and J.N. Seiber: Enzyme-linked immunosorbent assay for paraquat and its application to exposure analysis. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1866-1873.
74. R.J. Bushway, B.E.S. Young, L.R. Parads, L.B. Perkins, S.K. Martin, and M.P. Brown: Determination of methyl 2-benzimidazolecarbamate in bulk fruit juice concentrates by competitive-inhibition enzyme immunoassay. *J. AOAC Int.* **1994**, *77*, 1237-1243.
75. C.A. Spinks, B. Wang, E.N.C. Mills, and M.R.A. Morgan: Development of an ELISA for paraquat; improvement of antibody characteristics by reversed affinity chromatography. *Analyst* **1999**, *124*, 847-850.
76. Presented at *Symposium on Vapor Phase Chromatography, 129th ACS Meeting. 1956.* Dallas, Texas.
77. Oscillographic mass spectrometric monitoring of gas chromatography: Presented at *Fourth Annual Meeting of Committee E-14 on Mass Spectrometry. 1956.* Cincinnati, Ohio.
78. M. Dole, L.L. Mack, R.L. Hines, R.C. Mobley, L.D. Ferguson, and M.B. Alice: *J. Chem. Phys.* **1968**, *49*, 2240.
79. C.M. Whitehouse, R.N. Dreyer, M. Yamashita, and J.B. Fenn: Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 675-679.
80. M. Mann, C.K. Meng, and J.B. Fenn: Interpreting mass spectra of multiply charged ions. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1702-1708.
81. J.B. Fenn, M. Mann, C.K. Meng, S.F. Wong, and C.M. Whitehouse: Electrospray ionization - principles and practice. *Mass Spectrom. Rev.* **1990**, *9*, 37-70.
82. P. Kebarle and L. Tang: From ions in solution to ions in the gas phase. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 972A - 986A.
83. S.J. Gaskell: Electrospray: principles and practice. *J. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 677-688.
84. A.P. Bruins: Mechanistic aspects of electrospray ionization. *J. Chromatogr.* **1998**, *794*, 345-357.
85. E. Brewer and J. Henion: Atmospheric pressure ionization LC/MS/MS techniques for drug disposition studies. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 395-402.

86. E.C. Horning, M.G. Horning, D.I. Carroll, I. Dzidic, and R.N. Stillwell: New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure. *Anal. Chem.* **1973**, *45*, 936-943.
87. D.I. Carroll, I. Dzidic, R.N. Stillwell, K.D. Haegele, and E.C. Horning: Atmospheric pressure ionization mass spectrometry: corona discharge ion source for use in liquid chromatography-mass spectrometer-computer analytical system. *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 2369-2373.
88. E.C. Horning, D.I. Carroll, I. Dzidic, K.D. Haegele, M.G. Horning, and R.N. Stillwell: Liquid chromatograph-mass spectrometer-computer analytical systems. A continuous-flow system based on atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **1974**, *99*, 13-21.
89. C.S. Evans, J.R. Startin, D.M. Goodall, and B.J. Keely: Improved sensitivity in detection of chlormequat by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **2000**, *897*, 399-404.
90. F.M. Lagerwerf, W.D. van Dongen, R.J.J.M. Steenvoorden, M. Honing, and J.H.G. Jonkman: Exploring the boundaries of bioanalytical quantitative LC-MS-MS. *Trends Anal. Chem.* **2000**, *19*, 418-427.
91. J.K. Gard, P.C.C. Feng, and W.C. Hutton: Nuclear magnetic resonance timecourse studies of glyphosate metabolism by microbial soil isolates. *Xenobiotica* **1997**, *27*, 633-644.
92. A.C. Lazar, P.T.A. Reilly, W.B. Whitten, and J.M. Ramsey: Laser desorption/ionization coupled to tandem mass spectrometry for real-time monitoring of paraquat on the surface of environmental particles. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2000**, *14*, 1523-1529.
93. J.S. Ridlen, G.J. Klopff, and T.A. Nieman: Determination of glyphosate and related compounds using HPLC with tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) electrogenerated chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta* **1997**, *341*, 195-204.
94. U. Baer and R. Calvet: Simulation and prediction of dissipation kinetics of two herbicides in different pedo-climatic situations. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1997**, *68*, 213-237.
95. S. Kim Jin, S. Jung, T. Hwang In, and Y. Cho Kwang: Characteristics of chlorophyll a fluorescence induction in cucumber cotyledons treated with diuron, norflurazon, and sulcotrionem. *Pest. Biochem. Physiol.* **1999**, *65*, 73-81.
96. LC-MS condities, zoals gangbaar binnen de afdeling NRC van het RIKILT, Wageningen. **2001**.

Bijlage C: Voorgestelde analysemethoden

Fenylureum:

1. 10 g gemalen monster met 30 ml aceton 30 s ultraturrax (UT); toevoegen 30 ml DCM en 30 ml PE (kooktraject 40 - 60°C) en 60 s UT; 10 min. centrifugeren (4000 rpm); organische laag decanteren en filtreren over Na₂SO₄; indampen tot < 1 ml m.b.v. Turbovap (37°C, 0.4 bar); aanvullen tot 1 ml met EtAc/c-Hex (1:1); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter
2. 500 µl injecteren op GPC (Envirogel® GPC cleanup column, 150 x 19 mm, + Envirogel® GPC cleanup column, 300 x 19 mm; eluens EtAc/c-Hex, 1:1; debiet 5 ml/min; 15.00 min. wassen, 7.50 min. elueren, 8.00 min. wassen); eluaat indampen tot < 400 µl; aanvullen tot 1 ml met MeOH (LiChrosolv® of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter
3. 50 µl injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART® 4-4 HPLC-guard column LiChrospher® 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 µm); analytische kolom LiChroCART® 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher® 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 µm); eluens: A = ACN/water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; λ = 200 - 350 nm; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2

Sulfonylureum:

1. 20 g gemalen monster met 100 ml water en 40 µl 25% ammonia in water 30 min. schudden; 100 ml water toevoegen en 30 min. schudden; 10 min. centrifugeren (3000 rpm); waterlaag decanteren; residu wassen met 100 ml MeOH/water (50:50; v/v); indampen aan rotatieverdamper tot 100 à 120 ml; op pH 2 brengen met 0.1 M HCl
2. SPE ENVI™-18 conditioneren met 3 ml MeOH en 3 ml water; extract opbrengen en onder licht vacuüm laten door lopen; drogen met stikstof; elueren met 20 ml MeOH/water (50:50; v/v); eluaat droogdampen; oplossen in 2 ml ACN
3. 20 µl injecteren op HPLC-systeem, bestaande uit: analytische kolom Intersil ODS 2 250 x 4.6 mm i.d.; eluens: ACN/0.1% azijnzuur (45:55); debiet 1 ml/min.

N.B. 1: vermoedelijk is SPE ENVI™-18 met 500 mg absorbent en 3 ml volume gebruikt.

N.B. 2: aanpassingen voor analyse op het huidige HPLC-PDA-systeem:

Stap 2: eluaat oplossen in 1 ml MeOH (LiChrosolv® of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter

Stap 3: 50 µl injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART® 4-4 HPLC-guard column LiChrospher® 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 µm); analytische kolom LiChroCART® 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher® 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 µm); eluens: A = ACN/water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; λ = 200 - 350 nm; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2

Fenoxycarbonzuren:

1. 10 g gemalen monster met 100 ml 0.05 M NaOH 15 min. voorzichtig koken; afkoelen tot

kamertemperatuur; 5 ml extract aanvullen tot 25 ml met 0.05 M HCl; 3 min. centrifugeren (3000 rpm)

2. SPE C₁₈ (100 mg) conditioneren met 1 ml MeOH, 1 ml aceton, 1 ml MeOH, 2 ml 0.1% TFA in water; extract opbrengen en door laten lopen onder vacuüm (ca. 100 mbar); elueren met 0.5 ml aceton (door cartridge persen met overdruk); eluaat droogdampen; oplossen in 200 µl DCM en 800 µl iso-octaan
3. SPE silica (100 mg) conditioneren met 1 ml MeOH/DCM (75:25; v/v), 1 ml DCM, 1 ml iso-octaan; extract opbrengen en onder licht vacuüm (400 mbar) laten doorlopen; elueren met 1 ml MeOH/DCM (50:50; v/v) onder overdruk; droogdampen; oplossen in 200 µl MeOH; aanvullen tot 1 ml met 0.05% TFA in water
4. 400 µl injecteren op HPLC-UV-systeem, bestaande uit: voorkolom GFF II Internal Surface Reversed Phase material 10 x 3 mm i.d. 5 µm; analytische kolom Microspher C18 100 x 4.6 mm i.d. 3 µm; eluens: A = MeOH/0.05% TFA in water (5:95; v/v) B = MeOH/0.05% TFA in water (60:40; v/v); debiet 1 ml/min.; λ = 228 nm. Er wordt in principe gebruik gemaakt van een kolomschakelsysteem. Het extract wordt geïnjecteerd op de voorkolom, wassen met 0.7 ml eluens A, voorkolom inlijn schakelen met analytische kolom gedurende 30 s (= 0.5 ml); analytische kolom elueren met eluens B. In plaats van een kolomschakelsysteem kan de opzuivering over de voorkolom ook afzonderlijk plaats vinden.

N.B. : aanpassingen voor analyse op het huidige HPLC-PDA-systeem:

Stap 3: eluaat oplossen in 1 ml MeOH (LiChrosolv® of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter

Stap 4: 50 µl injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART® 4-4 HPLC-guard column LiChrospher® 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 µm); analytische kolom LiChroCART® 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher® 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 µm); eluens: A = ACN/water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; λ = 200 - 350 nm; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2

Carbamaten:

1. 2 g gemalen monster mengen met 6 g watervrij Na₂SO₄; 20 ml DCM toevoegen en overnacht schudden; filtreren over Na₂SO₄; indampen tot < 1 ml m.b.v. Turbovap (30°C, 0.5 bar); aanvullen tot 1 ml met EtAc/c-Hex (1:1)
2. 500 µl injecteren op GPC (Envirogel® GPC cleanup column, 150 x 19 mm, + Envirogel® GPC cleanup column, 300 x 19 mm; eluens: EtAc/c-Hex, 1:1; debiet 5 ml/min; 15.50 min. wassen, 6.00 min. elueren, 8.00 min. wassen); eluaat indampen tot < 1 ml m.b.v. Turbovap (30°C, 0.5 bar); aanvullen tot 1 ml met DCM
3. SPE amino (Isolute™ NH₂, 100 mg, 3 ml) conditioneren met 1 ml DCM; extract opbrengen; elueren met 5 ml 1.5% MeOH in DCM; voorzichtig droogdampen onder stikstof bij 30°C; oplossen in 100 µl MeOH en 100 µl water
4. extract overbrengen in membraanfilterkolommetje (Microcon-30®); 12 min. centrifugeren (8000 rpm)
5. 50 µl injecteren op HPLC-systeem, bestaande uit: kolomoven (32.5°C), waarin zich bevinden de voorkolom Carbamate 7.5 x 4.6 mm i.d. 5 µm en de analytische kolom Carbamate 250 x 4.6 mm i.d. 5 µm; eluens: A = 90% ACN in water; B = 10% ACN in water; gradiënt: gedurende

1 min. 10% A, in 24 min. naar 60% A, 5 min. niet wijzigen, dan in 10 min. terug naar 10% A gevolgd door 10 min. stabiliseren van de kolom; debiet 1.5 ml/min. Na de kolom hydrolyseren bij 85°C met 2 g NaOH in 1 l water (debiet 0.4 ml/min) en derivatiseren met OPA-reagens, bestaande uit: 0.9 g α -ftaalaldehyde en 1 ml 2-mercapto-ethanol in 10 ml MeOH + 100 ml van (31 g H₃BO₃ en 31 g NaOH in 1 l water), aangevuld tot 1 l met water (debiet 0.2 ml/min). Detecteren met een fluorescentiedetector $\lambda_{ex} = 340$ nm, $\lambda_{em} = 455$ nm.

Propamocarb:

1. 20 g gemalen monster met 50 ml aceton/water (70:30; v/v) en 30 ml 1 M HCl 5 min. UT (droge monsters voorweken met 30 ml 1 M HCl en UT met 50 ml aceton/water (70:30; v/v)); filtreren over vouwfilter; filtraat indampen tot ca. 40 ml; overbrengen in scheidtrechter; toevoegen 5 g NaCl en 2x wassen met 50 ml diethylether (DEE); aan waterlaag 5 g Na₂CO₃ toevoegen en extraheren met DEE; gecombineerde etherlagen 15 min. laten staan; filtreren over Na₂SO₄; indampen tot bijna droog; oplossen in 1 ml EtAc
 2. 1 μ l injecteren op GC-MS; GC-kolom: 30 m x 0.25 mm i.d. FS-WCOT bonded capillary column TC-1701 (cyanopropylphenyl) dikte 0.25 μ m; temperatuurprogramma: 60°C (1 min.) -> 10°C/min -> 160°C (2 min.) -> 4°C/min. -> 180°C -> 20°C/min. -> 260°C (5 min.); EI +
- N.B. : temperatuurprogramma bij gebruik van een Rtx-CL pesticides 10 m kolom: 50°C (2 min.) -> 15°C/min -> 280°C

Quats:

1. 20 g gemalen monster met 30 ml 6 M H₂SO₄ 4 uur refluxen (ca. 180°C); laten afkoelen; kwantitatief overbrengen in centrifugebuis; centrifugeren (4000 rpm); decanteren; residu 2x naspoelen met 5 ml water en weer centrifugeren; 10 ml 10 M NaOH toevoegen en aanvullen tot 100 ml met water; goed homogeniseren; 20 ml extract zonodig filtreren over 1.2 μ m spuitfilter; met 10 M NaOH pH op 10 brengen; zonodig filtreren over 1.2 of 0.45 μ m spuitfilter
2. SPE silica (BakerBond, 500 mg, 6 ml): extract opbrengen; onder vacuüm wassen met 10 ml water, 10 ml MeOH; elueren met 10 ml MeOH/5 M HCl (8+92; v/v); 26 ml 1-propanol toevoegen; eluaat droogdampen; oplossen in 1 ml HPLC-eluens; filtreren over 0.45 μ m spuitfilter
3. 50 μ l injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit voorkolom LiChroCART® 4-4 HPLC-guard column Lichrospher® 60 RP-Select B 10 x 4 mm i.d. 5 μ m; analytische kolom LiChroCART® 250-4 HPLC-cartridge Lichrospher® 60 RP-Select B 250 x 4 mm i.d. 5 μ m; eluens: 3 g 1-heptaansulfonzuur natriumzout, 13.5 ml 85% α -fosforzuur, 10.3 ml diethylamine en 1 l water; debiet 1 ml/min.

Glyfosaat:

1. 5 g monster met 100 ml water en 50 ml chloroform 30 min. schudden; waterfase filtreren over 0.45 μ m spuitfilter
2. 50 μ l injecteren op HPLC-systeem, bestaande uit: kolomoven (32.5°C), waarin zich bevinden de voorkolom, Macrosphere 300 SAX 7.5 x 4.6 mm i.d. 7 μ m, en de analytische kolom, SynChropak Q300 100 x 4.6 i.d.; eluens: 0.34 g kaliumdiwaterstoffosfaat en 1 ml α -fosforzuur (85%) in 1 l water; debiet 0.8 ml/min. Na de kolom hydrolyseren met hydrolysereagens, bestaande uit: 3 ml chloorbleekloog (5%) + 100 ml van (87 g dikaliumwaterstoffosfaat + 58 g NaCl + 10 ml Brij 35 aangevuld tot 1 l met water), aangevuld met water tot 1 l (debiet 0.4 ml/min); en derivatiseren met OPA-reagens, bestaande uit: 0.9 g α -ftaalaldehyde + 1 ml 2-

mercapto-ethanol + 10 ml MeOH + 100 ml van (31 g H₃BO₃ en 31 g NaOH in 1 l water) + 1 ml Brij 35, aangevuld tot 1 l met water (debiet 1.05 ml/min). Detecteren met een fluorescentiedetector $\lambda_{\text{ex}} = 338 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 450 \text{ nm}$.

Sulcotrion:

1. 10 g gemalen monster met 90 ml EtAc 1 min. UT; filtreren over Na₂SO₄; indampen tot 5 ml; overbrengen in gesilaniseerde, gekalibreerde buis; onder stikstof indampen tot 1 ml; filtreren over 0.45 μm spuitfilter, naspoelen met 5 ml ACN en dit ook filtreren; indampen tot 1 ml
2. SPE koolstof: 0.5 ml extract opbrengen; elueren met 10 ml ACN; indampen tot 0.5 ml; aanvullen tot 1 ml met HPLC-eluens.
3. injecteer 50 μl op het HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: analytische kolom Waters μBond -pack C18 (330 x 3.9 mm i.d.); mobiele fase: 15% ACN in water met 0.2% v/v α -fosforzuur en 2% v/v ijszijn; in 21 min. naar 90% ACN; dit 10 min niet wijzigen; dan in 1 min. naar 15% ACN; in 13 min. naar 85% ACN.

N.B. : aanpassingen voor analyse op het huidige HPLC-PDA-systeem:

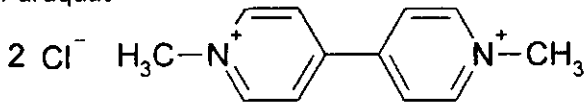
Stap 2: eluaat oplossen in 1 ml MeOH (LiChrosolv[®] of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 μm Acrodisc spuitfilter

Stap 3: 50 μl injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART[®] 4-4 HPLC-guard column LiChrospher[®] 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 μm); analytische kolom LiChroCART[®] 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher[®] 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 μm); mobiele fase: A = ACN/water, aangezuurd met 85% α -fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% α -fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; $\lambda = 200 - 350 \text{ nm}$; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2

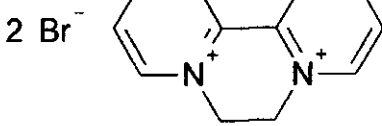
Bijlage A: Structuurformules polaire bestrijdingsmiddelen

Quats

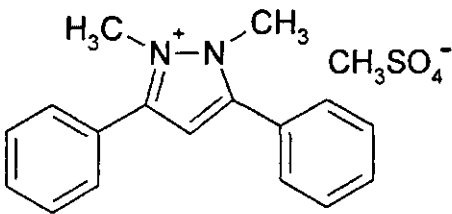
Paraquat



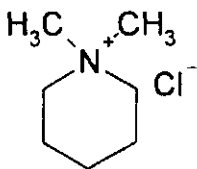
Diquat



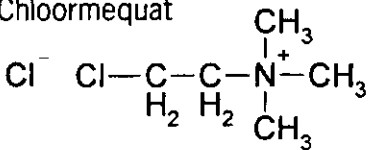
Difenzoquat



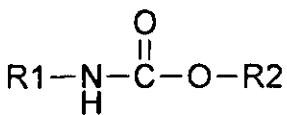
Mepiquat



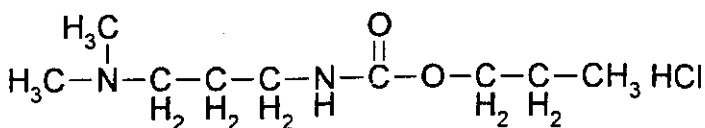
Chloormequat



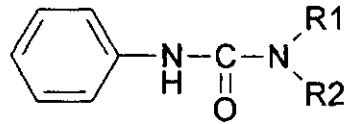
Carbamaten



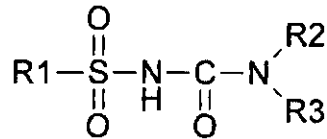
Propamocarb



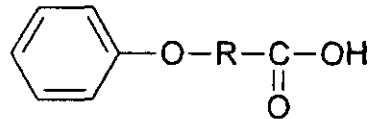
Fenyl ureum pesticiden



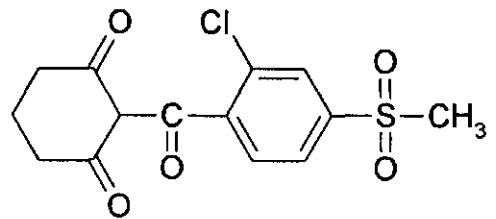
Sulfonyl ureum pesticiden



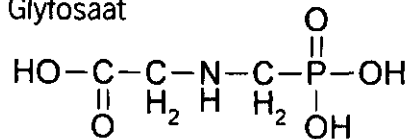
Fenoxycarbozuren



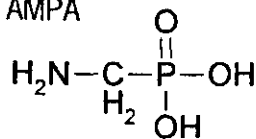
Sulcotrion



Glyfosaat



AMPA



Bijlage B: Tabellen

Ureum pesticiden

Tabel 1:

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
15 fenylureum pesticiden	granen, fruit en groenten	aceton/DCM/PE	SPE aminopropyl	HPLC	fluorescentie	81-111	0.1 ¹⁾	0.01-0.05	van Zoonen, ref. 6	2); 3)
23 fenylureum pesticiden	granen, fruit en groenten	DCM	hydrolyse, stoomdestillatie, bromering	GC	ECD	83-111	onbekend	0.01-0.05	van Zoonen, ref. 6	4)
diverse fenylureum pesticiden	vegetatie	EtAc	GFC, methylering, SPE silica	GC	FID	78-101	0.05-0.1 ⁵⁾	0.01-0.02	van Zoonen, ref. 6	6)
diflubenzuron	sinaasappels	MSPD C8; wassen met water, elueren met DCM		HPLC	UV	74-84	0.20.5	0.15-0.25	Valenzuela, ref. 15	7)
flufenoxuron										
hexaflumeron										
diflubenzuron	paddestoelen	aceton	extractie met c-hex/DCM; GPC	LC	APC/MS; SIM	85	0.06-0.58	0.017	Barnes, ref. 42	
monuron, diuron, fluometuron, siduron, linuron, neburon	standaarden	SPME; desorptie met MeOH		HPLC	UV 245 nm	n.v.t.	10-10000 ⁸⁾	< 5 ⁸⁾	Eisert, ref. 10	9)
imazosulfuron	water		pH>2; SPE C18	HPLC	UV 238 nm	91-97	0.05.1 ⁸⁾	0.05 ⁸⁾	Ventriglia, ref. 16	
imazosulfuron	grond	MeOH/ammonia	pH>2; SPE C18	HPLC	UV 238 nm	91-96	0.005-0.1	0.005	Ventriglia, ref. 16	
sulfometuron	grond	0.1M NaHCO ₃	pH>2-2.5; SPE C18	CE	UV 254 nm	65-104	onbekend	onbekend	Chen, ref. 21	
triasulfuron										
tribenuron										
thifensulfuron										
metsulfuron-methyl										
chlorsulfuron										
12 sulfonylureum pesticiden	moeraswater	pH>3; gevolgd door SPE RP-102	SPE SAX; SPE alumina; onttouten: SPE RP-102	CE	UV 240 nm	74-115	0.2 ⁸⁾	0.03-0.14 ⁸⁾	Krynetsky, ref. 54	10)

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
12 sulfonyleureum pesticiden	moeraswater	pH>3; gevolgd door SPE RP-102	SPE SAX; SPE alumina; ontzouten: SPE RP-102	LC	ES-MS; CID	71-105	0.2 ⁹⁾	0.01-0.12 ⁸⁾	Krynitsky, ref. 54	10)

1) in aardappel en wortel

2) postcolumn fotolyse en derivatisering met *ortho*-ftaalaldehyde en 2-mercapto-ethanol

3) MRM-2, sub 2; alleen fenylureum; geen hydrolyseproducten, die al in matrix aanwezig zijn

4) MRM-4, sub 1; fenylureum en hydrolyseproducten; niet voor chloroxuron, difenoxuron, metoxuron

5) chloroxuron, difenoxuron, metoxuron

6) MRM-4, sub 2; fenylureum, die niet bepaald kunnen worden volgens MRM-4, sub 1

7) ook voor hexythiazox

8) in µg/l

9) geautomatiseerd SPME-HPLC-UV systeem

10) ook voor flumetsulam

Tabel 2: Fenoxycarbonzuren

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
8 componenten	groenten en granen	koken met base	pH>2; SPE C18; SPE silica	HPLC	UV 228 nm	65-110	0.2 en 1.0	0.02-0.05	van Zoonen, ref. 6	1)
8 componenten	vlees	koken met base	pH>2; SPE C18; SPE amino	HPLC	UV 228 nm	58-91	0.8	0.05-0.1	van Zoonen, ref. 6	1)
7 componenten	appel, wortel, witlof en sla	aceton; hydrolyse; DCM; omzetting tot pentafluorbenzylderivaten	silica	GC	ECD	64-104	onbekend	0.01-0.05	van Zoonen, ref. 6	2)
30 componenten	kraanwater		pH>2; SPE C18; omzetting tot pentafluorbenzylderivaten	GC	EHMS; SIM	53-110	100 ³⁾	1-25 ³⁾	Heberer, ref. 25	
8 componenten	grond water	water	pH>2; extractie met EtAc	HPLC	UV 230 nm	70-90	0.1, 1, 33.3	niet vermeld	Kim, ref. 3	
o.a. MCPA, MCPP	vegetatie, grond	aceton/MeOH of MeOH	evt. GPC; methylering met TMSH	GC	EHMS	5)	1.0	0.01	RIKILT, ref. 27	

1) MRM-2, sub 3; ook voor triclopyr

2) MRM-3; als meer gevoeligheid c.q selectiviteit vereist is, dan met MRM-2, sub 3 behaald kan worden

3) in ng/l

4) in mg/l

5) sterk afhankelijk van het monster

Tabel 3: Carbamaten

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
20 comp. + metabolieten	granen, fruit en groenten	aceton/DCM/PE	SPE aminopropyl	HPLC	fluorescentie	65-100 54-96	0.13 0.13	0.005	van Zoonen, ref. 6	1); 2)
benturacarb	sinaasappelen	MSPD C8; wassen met water, elueren met DCM		HPLC	UV	80	1	0.15	Valenzuela, ref. 15	3)
A: methiocarb + B: metabolieten	grond, rijst en stro	aceton/water; uitschudden met DCM/hexaan	Florisil: elueren met EtAc/Hex -> A; dan acetone -> B	GC	NPD	A: 77-95 B: 85-100	0.1 en 0.3 0.1 en 0.3	0.5 ⁴⁾ 2.0 ⁴⁾	Keum, ref. 48	5)
9 comp.	asperge, aardappel, sinaasappel en aardbei	EtAc	SPE koolstof; GPC	GC	EHMS	76-103	0.2	0.004-0.013	Obana, ref. 45	6)
methomyl, methiocarb, carbofuran, carbaryl, aldicarb, bufencarb + metabolieten	lever van rund varken en eend	DCM	GPC; SPE amino-propyl	HPLC	fluorescentie	71-120	0.005-0.020	0.005-0.010	Ali, ref. 39	1)
10 comp.	lever		SPE C18; omzetting tot heptafluorbutyrylderiv.	GC	EHMS	onbekend	onbekend	0.010	Bakowski, ref. 24	
aldicarb, carbaryl, ethiofencarb, methomyl, propoxur, + metabolieten	vlees	DCM	GPC; SPE amino	HPLC	fluorescentie	60-80	0.010	0.001	RIKILT, ref. 38	1)
carbendazim	geconcentreerde vruchtensappen			enzym	spectrofotometrisch 450 nm	84-111	0.010-0.160	0.010	Bushway, ref. 74	7)
carbendazim	geconcentreerde vruchtensappen	base/DCM	centrifugeren; magere melk toevoegen	enzym	spectrofotometrisch 450 nm	94-108	0.040, 0.290	0.005	Bushway, ref. 74	7)

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
carbendazim	geconcentreerde vruchtensappen	base/DCM	centrifugeren; magere melk toevoegen	HPLC	fluorescentie	onbekend	onbekend	0.005	Bushway, ref. 74	
aldicarb, carbofuran + metaboliëten	urine		SPE koolstof	2x HPLC	UV 210 nm	84-110	10, 100 ^{a)}	0.3-1 ^{a)}	Vázquez, ref. 20	9)
aldicarb, oxamyl, methomyl, carbaryl	water		SPE koolstof SPE C8 of C18	HPLC	UV	95-98 43-74	niet vermeld niet vermeld	niet vermeld niet vermeld	Supelco, ref. 1	
carbaryl	extracten van: banaan, wortel, perzik, aardappel, sinaasappelsap			ELISA	spectrofotometrie 450 nm	71-120	1, 4, 20 ^{a)}	0.1-1.5	Nunes, ref. 14	
carbaryl	groene bonen, banaan, wortel, perzik, aardappel, sinaasappelsap	MeOH/ACN	+ NaCl, wassen met PE; + NaCl, extractie met DCM; Celite/koolstof	HPLC	UV	niet vermeld	1, 4, 20 ^{b)}	niet vermeld	Nunes, ref. 14	10)
carbaryl	groene bonen, banaan, wortel, perzik, aardappel, sinaasappelsap	MeOH/ACN	+ NaCl, wassen met PE; + NaCl, extractie met DCM; Celite/koolstof	LC	APCI-MS	niet vermeld	1, 4, 20 ^{b)}	niet vermeld	Nunes, ref. 14	10)
fenobucarb	water	SPME; desorptie met ACN		HPLC	UV 220 nm	n.v.t.	n.v.t.	5-8 ^{a)}	Jinno, ref. 7	11); 12)
propamocarb	sla, tomaat, komkommer, spinazie, aardbei, citroen, gember	aceton/water	+ NaCl, wassen met DEE; + Na ₂ CO ₃ , extractie met DEE	GC	NPD	75-97	0.1	0.01	Nagayama, ref. 43	13)
propamocarb	ongepelde rijst	1 M HCl aceton/water	+ NaCl, wassen met DEE; + Na ₂ CO ₃ , extractie met DEE	GC	NPD	95 (40)	0.1 (0.01)	0.01	Nagayama, ref. 43	

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
propamocarb	radijs	aceton/water/HCl	+ NaCl, wassen met DEE; + Na ₂ CO ₃ , extractie met DEE	GC	NPD	88	0.1	0.01	Nagayama, ref. 43	
propamocarb	witlof	water	+ NaOH + NaCl, extractie met di-isopropylether	GC	FID (N)	81-88	0.21-4.8	0.2	van Zoonen, ref. 6	
propamocarb	vegetatie	water	+ NaOH + NaCl, extractie met hexaan	GC	ELMS; SIM	88	0.33	0.05	RIKLT, ref. 36	
propamocarb	tomaten	0.1 M HCl	wassen met CHCl ₃	GC	NPD	niet vermeld	niet vermeld	0.03	Banasiak, ref. 40	

1) postcolumn hydrolyse met NaOH en derivatisering met *ortho*-ftaalaldehyde en 2-mercaptoethanol

2) MRM-2, sub 1

3) ook voor hexythiazox

4) in ng; LOQ voor metabolieten met GC-NPD 1.0 ng; LOQ voor methiocarb en metabolieten met HPLC-UV 20 resp. 50 ng

5) methiocarb hydrolyseert in GC gedeeltelijk; daarom methiocarb (fractie A) na Florisil volledig hydrolyseren tot 3,5-dimethyl-4-methylthiofenol

6) monster wordt voor extractie gemengd met sterk waterabsorberend polymeer

7) na enzymatische reactie wordt kleuringsreagens toegevoegd

8) in ug/l

9) kolomschakelsysteem van 2 HPLC-kolommen

10) spike toegevoegd aan extracten

11) watermonster is niet gespiked; de methode is getest met standaarden

12) LOD is afhankelijk van de diameter van de kolom

13) Sia: recovery 41%

Tabel 4: Quats

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
paraquat	marihuana	5 M HCl	CH ₃ Cl/isopropanol; SPE C18	HPLC	UV 254 en 280 nm	95	5-1000	1	Needham, ref. 1	
paraquat	rijst, granen, aard-	1 M HCl op	pH > 5; kationen-	HPLC	UV 257 nm	80-103	0.1 en 1	0.02	Nagayama, ref. 2	
diquat	appels, perzik, kool	stoombad	wisselaar		UV 310 nm	79-98	0.1 en 1	0.02		
paraquat	gerst, witte bonen	6 M HCl op	pH > 9; silica	HPLC	UV 257 nm	80-95	0.01-1	niet bepaald	Chichila, ref. 5	
diquat		stoombad			UV 310 nm	45-75	0.01-1	niet bepaald		
paraquat	oppervlaktewater		SPE silica	HPLC	UV 260 nm	25-100	0.4 en 4 ¹⁾	0.08 ¹⁾	Ibáñez, ref. 12	2); 3)
diquat					UV 350 nm	25-100	0.4 en 4 ¹⁾	0.05 ¹⁾		
difenzoquat					UV 255 nm	20-120	0.4 en 4 ¹⁾	0.08 ¹⁾		
paraquat	biologische monsters	pH > 10; reductie NaBH ₄ , extractie met DEE		HPLC	UV	niet bepaald	onbekend	32.63 ¹⁾	Arys, ref. 19	4); 5)
paraquat	granen, aardappels,	3 M HCl op	pH > 9; SPE silica	HPLC	UV 257 nm	85-105	0.01-0.5	0.005	Chichila, ref. 4	
diquat	rapen en asperge	stoombad			UV 310 nm	80-91	0.091-0.5	0.005		
paraquat	aardappels, grond	5 M H ₂ SO ₄	pH > 9; silica; derivatise- ring met benzaldehyde	geen	fluorescentie	99-101	0.2-1.2	niet bepaald	Pérez-Ruiz, ref. 46	
paraquat	water		silica; reductie met ascorbinezuur	geen	spectrofotometrie 600 nm	96	24, 48, 96 ¹⁾	12 ¹⁾	Shivhare, ref. 41	6)
paraquat	tarwe, rijst, gras aardappels	water	silica; reductie met ascorbinezuur	geen	spectrofotometrie 600 nm	74-89	0.6, 1.2, 2.4	0.3	Shivhare, ref. 41	6)
paraquat	granen, appels, suikerrietblad	water	silica; reductie met glucose	geen	spectrofotometrie 600 nm	96-99	0.2 en 0.4	niet bepaald	Kesari, ref. 44	6)
paraquat	granen, appels, suikerrietblad	9 M H ₂ SO ₄	silica; reductie met glucose	geen	spectrofotometrie 600 nm	96-99	0.2 en 0.4	niet bepaald	Kesari, ref. 44	6)
paraquat	riwiewater		silica; reductie met glucose	geen	spectrofotometrie 600 nm	96-99	20 en 40 ¹⁾	niet bepaald	Kesari, ref. 44	6)
paraquat	bloed en urine	water of 9 M H ₂ SO ₄	silica; reductie met glucose	geen	spectrofotometrie 600 nm	97-100	1 en 2 ¹⁾	niet bepaald	Kesari, ref. 44	4); 6)
paraquat	standaarden			geen	voltmetrie	n.v.t.	10-80 ¹⁾ 10-100 ¹⁾	6.32 ¹⁾ 4.80 ¹⁾	Luque, ref. 50	8)

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
paraquat diquat	oppervlaktewater		kationenwisselaar	geen	voltametrie	87-104 84-104	0.1-0.5 ¹¹⁾ 0.08-0.2 ¹¹⁾	0.016 ¹¹⁾ 0.025 ¹¹⁾	Luque, ref. 50	9); 10)
paraquat diquat	kraanwater		pH> 9; SPE silica	LC	MS; APCI of ES	85	0.1-5 ¹¹⁾	0.05-1.8 ¹¹⁾ 0.05-4.7 ¹¹⁾	Castro, ref. 55	
mepiquat chlormequat difenzoquat										
paraquat diquat	kraanwater		pH -> 10.5; SPE C18 disk		MALDIMS	niet bepaald	50 ¹¹⁾ 50 ¹¹⁾	0.32 ¹¹⁾ 0.64 ¹¹⁾	Vermillion-Salsbury, ref. 58	11)
chlormequat	bestrijdingsmiddel			CE	inverse UV	n.v.t.	n.v.t.	5000 ¹¹⁾	Wycherley, ref. 68	12)
paraquat diquat	standaarden			CE	ES-MS; SIM	n.v.t.	n.v.t.	niet bepaald		
paraquat diquat	standaarden			CE	ES-MS	n.v.t.	n.v.t.	200 ¹¹⁾	Song, ref. 69	
paraquat diquat	kraanwater			CE	ES-MS; SIM of MS-MS	niet bepaald	onduidelijk	10-70 ¹¹⁾	Moyano, ref. 70	
mepiquat chlormequat										
paraquat	standaarden			ELISA	spectrofotometrie 450 nm	n.v.t.	0.035-5	0.035	Spinks, ref. 75	13)
paraquat diquat	drinkwater		pH> 9; SPE C8 disk	LC	ES-MS; SIM	ca. 100	0.10-0.13 ¹¹⁾	0.005-0.060 ¹¹⁾	Castro, ref. 56	14)
difenzoquat mepiquat chlormequat										
paraquat	standaard		reductie met ascorbinezuur	geen	spectrofotometrie 600 nm	n.v.t.	n.v.t.	niet bepaald	Luna, ref. 67	
paraquat	drinkwater		reductie met ascorbine- zuur en kaliumjodaat	geen	spectrofotometrie 600 nm	100-110	0.1-100 ⁷⁾	20 ¹¹⁾	Jain, ref. 66	15)
paraquat	drinkwater		kationenwisselaar; reductie met natriumdithioniet	geen	spectrofotometrie 600 nm	67	0.5 ⁷⁾	niet bepaald	Chico Gujjarro, ref. 47	15)
paraquat	aardappels	9 M H ₂ SO ₄	kationenwisselaar; reductie	geen	spectrofotometrie	55%	onduidelijk	niet bepaald	Chico Gujjarro, ref. 47	15)

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
			met natriumdithioniet		600 nm					
paraquat	kraanwater en rivierwater		pH > 9; SPE silica	CE	UV	90-103	5 ¹⁾	0.9-3.9 ¹⁾	Carneiro, ref. 18	16)
diquat			pH > 9; SPE silica	HPLC	UV	75-95	5 ¹⁾	0.2-0.5 ¹⁾		
difenzoquat										
paraquat	kraanwater en rivierwater		pH > 9; SPE koolstof	CE	UV	46-107	5 ¹⁾	2.3 ¹⁾	Carneiro, ref. 18	
diquat			pH > 9; SPE koolstof	HPLC	UV	54-104	5 ¹⁾	0.2 ¹⁾		
difenzoquat										
paraquat op oppervlak van gronddeeltjes; aerosol van gronddeeltjes naar MS					LD-MS-MS-MS	niet bepaald	0.2-1 ¹⁷⁾	0.02 ¹⁷⁾	Lazar, ref. 92	18)
chlormequat	perenextract				LC (ODS1)	n.v.t.	600 ¹⁾	0.04 ¹⁾	Evans, ref. 89	19)
					LC (ODS1)	n.v.t.	600 ¹⁾	0.06 ¹⁾		
					LC (SCX)	n.v.t.	600 ¹⁾	1 ¹⁾		
					LC (SCX)	n.v.t.	600 ¹⁾	1 ¹⁾		
paraquat	lucht, glasvezel, textiel, biologische monsters	6 M HCl		ELISA	spectrofotometrie	niet bepaald	niet vermeld	1-10 ¹⁾ 20)	Van Emon, ref. 73	21)
paraquat	standaard			ES-MS	405 nm	n.v.t.	niet vermeld	niet vermeld	Lazar, ref. 72	
paraquat	grond	refluxen in 6 M H ₂ SO ₄	pH > 10; SPE silica	HPLC	UV 258 nm	50	1, 5	0.05	RIKILT, ref. 22	
diquat					UV 309 nm	50	5	0.05		

1) in ug/l

2) toevoegen van ceftrime i.v.m. aanwezigheid van humuszuren

3) recovery wordt neg. beïnvloed door aanwezigheid van NaCl

4) proteïnen verwijderen door toevoegen van trichloorazijnzuur

5) LOD geldt voor bibed en urine

6) metaalionen maskeren door toevoegen van EDTA

7) in mg/l

8) voorbehandeling van de elektrode met een surfactant

9) kationwisselaar aan voltammeter gekoppeld

10) LOD is afhankelijk van monstervolume

11) SPE-MALDI-MS; MALDI-matrix opgebracht op SPE disk; SPE disk wordt op MALDI-platea geplaatst

12) kleurgevende buffer is 10 mM creatinine op pH 3.6 gebracht met CH₃COOH

13) kruisreactie met monoquat; geen kruisreactie met diquat

14) SPE-LC-MS

15) diquat vormt groen radicaal ion

16) stoorsignaal bij DF

17) in g/kg

18) LOD berekend; echter 0.2 g/kg al slecht zichtbaar

19) chlormequat toegevoegd aan peereextract; 600 ug/l komt overeen met 3 mg/kg peer = MRL UK

20) LOD geldt voor biologische monsters

21) kruisreactie met methylpropylparaquat

Tabel 5: Glyfosaat

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
glyfosaat AMPA	water		pH->2; 2 ionenwisselaars en derivatisering met TFAA en HFB	GC	EIMS-MS	88 74	0.05 ¹⁾ 0.05 ¹⁾	0.025 ¹⁾ 0.05 ¹⁾	Royer, ref. 28	
glyfosaat AMPA	zwarte bessen- en hazelhoot- vegetatie	0.01 M HCl/DCM	pH->2; 2 ionenwisselaars en derivatisering met TFAA en HFB	GC	EIMS-MS	81 92	0.02 0.02	0.001	Royer, ref. 28	
glyfosaat AMPA	oppervlaktewater		kationenwisselaar	HPLC	fluorescentie	niet bepaald	niet vermeld	0.025 ¹⁾ 0.05 ¹⁾	Skark, ref. 49	2)
glyfosaat AMPA	standaarden			HPLC	chemie- luminescentie	n.v.t.	n.v.t.	0.14 ³⁾ 22 ³⁾	Ridlen, ref. 93	4)
glyfosaat AMPA	gerst, tarwe, linzen, droge erwten, soya- bonen, koolzaad	water/CHCl ₃	waterlaag aanzuren, wassen met CHCl ₃ ; kationenwisselaar; pH->7-10; anionenwisselaar	HPLC	fluorescentie	73-126 67-125	0.54 0.54	0.07-0.12 0.05-0.12	Wigfield, ref. 35	2)
glyfosaat AMPA	stengels van bos- bessen en van frambozen	water/CHCl ₃	wassen met hexaan; wassen met EtAc; actieve kool; pH->2.1; kationenwisselaar; derivatiseren met TFAA en trifluorethanol	GC	NPD	72-92 61-73	0.17-5.13 0.08-2.46	0.03 0.01	Konar, ref. 23	
glyfosaat	vegetatie; boom- stam	water/CHCl ₃		HPLC	fluorescentie	90-100	1.0	0.01	RIKILT, ref. 37	2)

1) in ug/l

2) postcolumn hydrolyse met NaOH en derivatisering met *ortho*-ftaalaldehyde en 2-mercapto-ethanol

3) in mg/l; waarde is geschat

4) derivatisering met tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II); kan aan mobiele fase toegevoegd worden, of (bij kationenwisselaar) postcolumn

Tabel 6: Sulcotrion

component	matrix	extractie	cleanup	scheiding	detectie	recovery (%)	spike (mg/kg)	LOD/LOQ (mg/kg)	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
sulcotrion	maïspiant en maïskorrels	EtAc/HCl (100:3); extractie met Na ₂ CO ₃ ; wassen met DCM; pH > 1; extractie met DCM	SPE amino	HPLC	UV 280 nm	70 96	0.05-10 0.05-1	0.05 0.05	Fischer, ref. 9	
sulcotrion = A + metaboliet CMBA = B	grond	ACN/0.1 M HCl (90:10)	pH > 1; extractie met DCM; A: SPE amino B: derivatisering	HPLC	UV 280 nm	92	0.01-1	0.01	Fischer, ref. 9	
sulcotrion = A + metaboliet CMBA = B	drinkwater		pH > 1; extractie met DCM; A: SPE amino B: derivatisering	HPLC	UV 280 nm	93	0.1-10 ²⁾	0.1 ²⁾	Fischer, ref. 9	1)
sulcotrion	grond	MeOH/water; aanzuren; extractie met EtAc	TLC, 2x elueren; band extraheren met aceton; methyleren; TLC, 2x elueren; band extraheren met aceton	GC	EIMS	83	0.1-10 ²⁾	0.1 ²⁾	Rouchaud, ref. 26	
metabolieten van sulcotrion	grond	MeOH/water; aanzuren; extractie met EtAc	TLC => 1 en 2; 1 op TLC => 3 en 4; 4 methyleren; op TLC, 2x elueren; => 5; 5 naar GC; 2 deels naar GC, deels methyleren; op TLC => 6; 6 naar GC	GC	ECD of EIMS	76-97	0.01-0.05	0.004	Rouchaud, ref. 26	
sulcotrion	sla, grond, schorseneren	EtAc	SPE koolstof	HPLC	UV 284 nm	82-90	1 en 5	0.05	RIKILT, ref. 13	3); 4)

1) derivatisering met *N*-methyl-*N*-(*t*-butyldimethylsilyl)trifluoroacetamide

2) in µg/l

3) er wordt gesilaneerd glaswerk gebruikt

4) recovery en spike gelden voor sla

Tabel 7: LC condities voor LC-MS

component	kolom	eluens	debiet (ml/min)	injectievol. (ul)	ionisatie	referenties (zie pag. 25)	opmerkingen
fenylureum	Hichrom S50DS2 10 x 4.6 mm + 250 x 4.6 mm	A = MeOH B = H ₂ O 80% A (8 min) -> 0.1 min -> 95% A (9.9 min) -> 80% A (7.9 min)	1		APCI	Barnes, ref. 42	
sulfonylureum	Zorbax RX-C8 150 x 2.1 mm, 5 µm	A = ACN B = 0.15% HOAC 0% A -> 10 min -> 20% -> 21 min -> 36.8% -> 1 min -> 50%	0.25	75	ES	Krynetsky, ref. 54	
carbaryl	Zorbax SBC18, 150 x 4.6 mm, 5 µm	A = ACN + 0.1% HOAC B = H ₂ O + 0.1% HOAC 5% A -> 30 min -> 100% A	1		APCI	Nunes, ref. 14	
quats	Kromasil C8, 200 x 2.1 mm, 5 µm	A = 15 mM HFBA pH 3.3 B = ACN (postcolumn additie)			ES	Castro, ref. 56	HFBA = heptafluorbutyric acid
quats	Kromasil C8, 200 x 21 mm, 5 µm	A = 15 mM HFBA pH 3.3 B = ACN 0.5% B -> 10 min -> 40% B -> 2 min -> 60% B postcolumn additie van ACN	0.2		ES; APCI	Castro, ref. 55	kolomtemp. 50 graden Celsius
CCC	Hypersil BDS C18 250 x 4.6 mm, 5 µm	50 mM ammoniumacetaat in methylecyanide/MeOH/H ₂ O/HOAc (53:21:25:1)	1	20	ES	Evans, ref. 89	geen retentie
	Hypersil ODS endcapped 250 x 4.6 mm, 5 µm		1	20			te weinig retentie
	Spherisorb S5 ODS1 250 x 4.6 mm	idem	1	20			
CCC	Partisil 10 SCX 150 x 2.1 mm	50 mM ammoniumacetaat in MeOH/H ₂ O (1:1)	0.2	20	ES	Evans, ref. 89	brede pieken
diversen	Symmetry® C18 150 x 3.0 mm, 5 µm	A = 10 mM ammoniumacetaat pH 3.5 B = 90% ACN + 10% 100 mM ammoniumacetaat pH 3.5 0% B (5 min) -> 15 min -> 100% B	0.4	10 - 100	ES; APCI	RIKILT, ref. 96	niet voor pesticiden getest kolomtemp. 40 graden Celsius

Tabel 8: Aanbevolen analysemethoden

component	extractie	cleanup	scheiding	"postcolumn" derivatisering	detectie	opmerkingen
ureum herbiciden						
fenylureum						
methode:	aceton/DCM/PE	GPC	HPLC	nee	UV	metabolieten bepalen
onderzoeken:	aceton/DCM/PE	SPE aminopropyl	HPLC	ja	fluorescentie	hydrolyse met NaOH
	aceton/DCM/PE	SPE aminopropyl	LC	nee	MS(MS)	zodrig andere opwerking voor LC-MS
	aceton/DCM/PE	GPC	LC	nee	MS(MS)	metabolieten bepalen
sulfonylureum						
methode:	MeOH/ammonia	SPE C18	HPLC	nee	UV	
onderzoeken:	MeOH/ammonia	SPE C18	LC	nee	MS(MS)	zodrig andere opwerking voor LC-MS
fenoxycarbonzuren						
methode:	koken met base	pH>2; SPE C18; SPE silica	HPLC	nee	UV	voor vlees: SPE amino i.p.v. SPE silica
onderzoeken:	koken met base	pH>2; SPE C18; SPE silica	HPLC	ja	fluorescentie	
	koken met base	pH>2; SPE C18; SPE silica	LC	nee	MS(MS)	zodrig andere opwerking voor LC-MS
carbamaten						
methode:	DCM	GPC; SPE amino	HPLC	ja	fluorescentie	ook metabolieten bepalen
onderzoeken:	DCM	GPC; SPE amino	LC	nee	MS(MS)	ook metabolieten bepalen
propamocarb						
methode:	1 M HCl/aceton/water	+ NaCl, wassen met DEE; + Na ₂ CO ₃ , extractie met DEE	GC	nee	EIMS (SIM)	eventueel ander organisch oplosmiddel gebruiken voor goede scheiding diverse kolommen testen
quats						
methode:	refluxen met H ₂ SO ₄	pH>10; SPE silica	HPLC	nee	UV	grondmonsters
onderzoeken:	refluxen met H ₂ SO ₄	pH>10; SPE silica	HPLC	nee	UV	andere matrices; andere quats
	refluxen met H ₂ SO ₄	pH>10; SPE silica	HPLC	ja	fluorescentie	derivatisering met benzaldehyde
	refluxen met H ₂ SO ₄	pH>10; SPE silica	HPLC	ja	spectrofotometrie	voor paraquat; reductie met glucose
	refluxen met H ₂ SO ₄	pH>10; SPE silica	LC	nee	MS(MS)	zodrig andere opwerking voor LC-MS
glyfosaat						
methode:	water/CHCl ₃	geen	HPLC	ja	fluorescentie	confirmatie door weglaten oxidatiereagens
onderzoeken:	water/CHCl ₃	geen	HPLC	ja	fluorescentie	ook AMPA
	water/CHCl ₃	geen	LC	nee	MS(MS)	ook AMPA
sulcotrion						
methode:	EtAc	SPE koolstof	HPLC	nee	UV	
onderzoeken:	EtAc	SPE koolstof	LC	nee	MS(MS)	zodrig andere opwerking voor LC-MS

Bijlage C: Voorgestelde analysemethoden

Fenylureum:

1. 10 g gemalen monster met 30 ml aceton 30 s ultraturrax (UT); toevoegen 30 ml DCM en 30 ml PE (kooktraject 40 - 60°C) en 60 s UT; 10 min. centrifugeren (4000 rpm); organische laag decanteren en filtreren over Na₂SO₄; indampen tot < 1 ml m.b.v. Turbovap (37°C, 0.4 bar); aanvullen tot 1 ml met EtAc/c-Hex (1:1); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter
2. 500 µl injecteren op GPC (Envirogel® GPC cleanup column, 150 x 19 mm, + Envirogel® GPC cleanup column, 300 x 19 mm; eluens EtAc/c-Hex, 1:1; debiet 5 ml/min; 15.00 min. wassen, 7.50 min. elueren, 8.00 min. wassen); eluaat indampen tot < 400 µl; aanvullen tot 1 ml met MeOH (LiChrosolv® of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter
3. 50 µl injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART® 4-4 HPLC-guard column LiChrospher® 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 µm); analytische kolom LiChroCART® 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher® 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 µm); eluens: A = ACN/water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; λ = 200 - 350 nm; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2

Sulfonylureum:

1. 20 g gemalen monster met 100 ml water en 40 µl 25% ammonia in water 30 min. schudden; 100 ml water toevoegen en 30 min. schudden; 10 min. centrifugeren (3000 rpm); waterlaag decanteren; residu wassen met 100 ml MeOH/water (50:50; v/v); indampen aan rotatieverdamper tot 100 à 120 ml; op pH 2 brengen met 0.1 M HCl
2. SPE ENVI™-18 conditioneren met 3 ml MeOH en 3 ml water; extract opbrengen en onder licht vacuüm laten door lopen; drogen met stikstof; elueren met 20 ml MeOH/water (50:50; v/v); eluaat droogdampen; oplossen in 2 ml ACN
3. 20 µl injecteren op HPLC-systeem, bestaande uit: analytische kolom Intersil ODS 2 250 x 4.6 mm i.d.; eluens: ACN/0.1% azijnzuur (45:55); debiet 1 ml/min.

N.B. 1: vermoedelijk is SPE ENVI™-18 met 500 mg absorbent en 3 ml volume gebruikt.

N.B. 2: aanpassingen voor analyse op het huidige HPLC-PDA-systeem:

Stap 2: eluaat oplossen in 1 ml MeOH (LiChrosolv® of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter

Stap 3: 50 µl injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART® 4-4 HPLC-guard column LiChrospher® 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 µm); analytische kolom LiChroCART® 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher® 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 µm); eluens: A = ACN/water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; λ = 200 - 350 nm; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2

Fenoxycarbonzuren:

1. 10 g gemalen monster met 100 ml 0.05 M NaOH 15 min. voorzichtig koken; afkoelen tot

- kamertemperatuur; 5 ml extract aanvullen tot 25 ml met 0.05 M HCl; 3 min. centrifugeren (3000 rpm)
2. SPE C₁₈ (100 mg) conditioneren met 1 ml MeOH, 1 ml aceton, 1 ml MeOH, 2 ml 0.1% TFA in water; extract opbrengen en door laten lopen onder vacuüm (ca. 100 mbar); elueren met 0.5 ml aceton (door cartridge persen met overdruk); eluaat droogdampen; oplossen in 200 µl DCM en 800 µl iso-octaan
 3. SPE silica (100 mg) conditioneren met 1 ml MeOH/DCM (75:25; v/v), 1 ml DCM, 1 ml iso-octaan; extract opbrengen en onder licht vacuüm (400 mbar) laten doorlopen; elueren met 1 ml MeOH/DCM (50:50; v/v) onder overdruk; droogdampen; oplossen in 200 µl MeOH; aanvullen tot 1 ml met 0.05% TFA in water
 4. 400 µl injecteren op HPLC-UV-systeem, bestaande uit: voorkolom GFF II Internal Surface Reversed Phase material 10 x 3 mm i.d. 5 µm; analytische kolom Microspher C18 100 x 4.6 mm i.d. 3 µm; eluens: A = MeOH/0.05% TFA in water (5:95; v/v) B = MeOH/0.05% TFA in water (60:40; v/v); debiet 1 ml/min.; λ = 228 nm. Er wordt in principe gebruik gemaakt van een kolomschakelsysteem. Het extract wordt geïnjecteerd op de voorkolom, wassen met 0.7 ml eluens A, voorkolom inlijn schakelen met analytische kolom gedurende 30 s (= 0.5 ml); analytische kolom elueren met eluens B. In plaats van een kolomschakelsysteem kan de opzuivering over de voorkolom ook afzonderlijk plaats vinden.
- N.B. : aanpassingen voor analyse op het huidige HPLC-PDA-systeem:
- Stap 3: eluaat oplossen in 1 ml MeOH (LiChrosolv[®] of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 µm Acrodisc spuitfilter
- Stap 4: 50 µl injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART[®] 4-4 HPLC-guard column LiChrospher[®] 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 µm); analytische kolom LiChroCART[®] 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher[®] 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 µm); eluens: A = ACN/water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; λ = 200 - 350 nm; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2

Carbamaten:

1. 2 g gemalen monster mengen met 6 g waterdrijv Na₂SO₄; 20 ml DCM toevoegen en overnacht schudden; filtreren over Na₂SO₄; indampen tot < 1 ml m.b.v. Turbovap (30°C, 0.5 bar); aanvullen tot 1 ml met EtAc/c-Hex (1:1)
2. 500 µl injecteren op GPC (Envirogel[®] GPC cleanup column, 150 x 19 mm, + Envirogel[®] GPC cleanup column, 300 x 19 mm; eluens: EtAc/c-Hex, 1:1; debiet 5 ml/min; 15.50 min. wassen, 6.00 min. elueren, 8.00 min. wassen); eluaat indampen tot < 1 ml m.b.v. Turbovap (30°C, 0.5 bar); aanvullen tot 1 ml met DCM
3. SPE amino (Isolute[™] NH₂, 100 mg, 3 ml) conditioneren met 1 ml DCM; extract opbrengen; elueren met 5 ml 1.5% MeOH in DCM; voorzichtig droogdampen onder stikstof bij 30°C; oplossen in 100 µl MeOH en 100 µl water
4. extract overbrengen in membraanfilterkolommetje (Microcon-30[®]); 12 min. centrifugeren (8000 rpm)
5. 50 µl injecteren op HPLC-systeem, bestaande uit: kolomoven (32.5°C), waarin zich bevinden de voorkolom Carbamate 7.5 x 4.6 mm i.d. 5 µm en de analytische kolom Carbamate 250 x 4.6 mm i.d. 5 µm; eluens: A = 90% ACN in water; B = 10% ACN in water; gradiënt: gedurende

1 min. 10% A, in 24 min. naar 60% A, 5 min. niet wijzigen, dan in 10 min. terug naar 10% A gevolgd door 10 min. stabiliseren van de kolom; debiet 1.5 ml/min. Na de kolom hydrolyseren bij 85°C met 2 g NaOH in 1 l water (debiet 0.4 ml/min) en derivatiseren met OPA-reagens, bestaande uit: 0.9 g *o*-ftaalaldehyde en 1 ml 2-mercapto-ethanol in 10 ml MeOH + 100 ml van (31 g H₃BO₃ en 31 g NaOH in 1 l water), aangevuld tot 1 l met water (debiet 0.2 ml/min). Detecteren met een fluorescentiedetector $\lambda_{ex} = 340 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 455 \text{ nm}$.

Propamocarb:

1. 20 g gemalen monster met 50 ml aceton/water (70:30; v/v) en 30 ml 1 M HCl 5 min. UT (droge monsters voorweken met 30 ml 1 M HCl en UT met 50 ml aceton/water (70:30; v/v)); filtreren over vouwfilter; filtraat indampen tot ca. 40 ml; overbrengen in scheidrecther; toevoegen 5 g NaCl en 2x wassen met 50 ml diethylether (DEE); aan waterlaag 5 g Na₂CO₃ toevoegen en extraheren met DEE; gecombineerde etherlagen 15 min. laten staan; filtreren over Na₂SO₄; indampen tot bijna droog; oplossen in 1 ml EtAc
 2. 1 μ l injecteren op GC-MS; GC-kolom: 30 m x 0.25 mm i.d. FS-WCOT bonded capillary column TC-1701 (cyanopropylphenyl) dikte 0.25 μ m; temperatuurprogramma: 60°C (1 min.) -> 10°C/min -> 160°C (2 min.) -> 4°C/min. -> 180°C -> 20°C/min. -> 260°C (5 min.); EI +
- N.B. : temperatuurprogramma bij gebruik van een Rtx-CL pesticides 10 m kolom: 50°C (2 min.) -> 15°C/min -> 280°C

Quats:

1. 20 g gemalen monster met 30 ml 6 M H₂SO₄ 4 uur refluxen (ca. 180°C); laten afkoelen; kwantitatief overbrengen in centrifugebuis; centrifugeren (4000 rpm); decanteren; residu 2x naspoelen met 5 ml water en weer centrifugeren; 10 ml 10 M NaOH toevoegen en aanvullen tot 100 ml met water; goed homogeniseren; 20 ml extract zonodig filtreren over 1.2 μ m spuitfilter; met 10 M NaOH pH op 10 brengen; zonodig filtreren over 1.2 of 0.45 μ m spuitfilter
2. SPE silica (BakerBond, 500 mg, 6 ml): extract opbrengen; onder vacuüm wassen met 10 ml water, 10 ml MeOH; elueren met 10 ml MeOH/5 M HCl (8+92; v/v); 26 ml 1-propanol toevoegen; eluaat droogdampen; oplossen in 1 ml HPLC-eluens; filtreren over 0.45 μ m spuitfilter
3. 50 μ l injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit voorkolom LiChroCART® 4-4 HPLC-guard column Lichrospher® 60 RP-Select B 10 x 4 mm i.d. 5 μ m; analytische kolom LiChroCART® 250-4 HPLC-cartridge Lichrospher® 60 RP-Select B 250 x 4 mm i.d. 5 μ m; eluens: 3 g 1-heptaansulfonzuur natriumzout, 13.5 ml 85% *o*-fosforzuur, 10.3 ml diethylamine en 1 l water; debiet 1 ml/min.

Glyfosaat:

1. 5 g monster met 100 ml water en 50 ml chloroform 30 min. schudden; waterfase filtreren over 0.45 μ m spuitfilter
2. 50 μ l injecteren op HPLC-systeem, bestaande uit: kolomoven (32.5°C), waarin zich bevinden de voorkolom, Macrosphere 300 SAX 7.5 x 4.6 mm i.d. 7 μ m, en de analytische kolom, SynChropak Q300 100 x 4.6 i.d.; eluens: 0.34 g kaliumdiwaterstoffosfaat en 1 ml *o*-fosforzuur (85%) in 1 l water; debiet 0.8 ml/min. Na de kolom hydrolyseren met hydrolysereagens, bestaande uit: 3 ml chloorbleekloog (5%) + 100 ml van (87 g dikaliumwaterstoffosfaat + 58 g NaCl + 10 ml Brij 35 aangevuld tot 1 l met water), aangevuld met water tot 1 l (debiet 0.4 ml/min); en derivatiseren met OPA-reagens, bestaande uit: 0.9 g *o*-ftaalaldehyde + 1 ml 2-

mercapto-ethanol + 10 ml MeOH + 100 ml van (31 g H₃BO₃ en 31 g NaOH in 1 l water) + 1 ml Brij 35, aangevuld tot 1 l met water (debiet 1.05 ml/min). Detecteren met een fluorescentiedetector $\lambda_{ex} = 338$ nm, $\lambda_{em} = 450$ nm.

Sulcotrion:

1. 10 g gemalen monster met 90 ml EtAc 1 min. UT; filtreren over Na₂SO₄; indampen tot 5 ml; overbrengen in gesilaniseerde, gekalibreerde buis; onder stikstof indampen tot 1 ml; filtreren over 0.45 μ m spuitfilter, naspoelen met 5 ml ACN en dit ook filtreren; indampen tot 1 ml
2. SPE koolstof: 0.5 ml extract opbrengen; elueren met 10 ml ACN; indampen tot 0.5 ml; aanvullen tot 1 ml met HPLC-eluens.
3. injecteer 50 μ l op het HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: analytische kolom Waters μ Bondapak C18 (330 x 3.9 mm i.d.); mobiele fase: 15% ACN in water met 0.2% v/v *o*-fosforzuur en 2% v/v ijsazijn; in 21 min. naar 90% ACN; dit 10 min niet wijzigen; dan in 1 min. naar 15% ACN; in 13 min. naar 85% ACN.

N.B. : aanpassingen voor analyse op het huidige HPLC-PDA-systeem:

Stap 2: eluaat oplossen in 1 ml MeOH (LiChrosolv[®] of andere HPLC-kwaliteit); filtreren over 0.45 μ m Acrodisc spuitfilter

Stap 3: 50 μ l injecteren op HPLC-PDA-systeem, bestaande uit: voorkolom LiChroCART[®] 4-4 HPLC-guard column LiChrospher[®] 60 RP-select B (10 x 4 mm, 5 μ m); analytische kolom LiChroCART[®] 250-4 HPLC-Cartridge LiChrospher[®] 60 RP-select B (250 x 4 mm, 5 μ m); mobiele fase: A = ACN/water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5 (95+5; v/v); B = water, aangezuurd met 85% *o*-fosforzuur tot pH = 2.5; beginnen met 16% A, in 45 min. naar 95% A, 10 min. niet wijzigen, in 5 min. terug naar 16% A, 15 min. kolom stabiliseren; debiet 1.0 ml/min.; $\lambda = 200 - 350$ nm; sampling rate = 1.0; resolution = 1.2; bandwidth = 1.2