



Szybkie, selektywne i czułe badania przesiewowe w kierunku ponad 1000 pestycydów, połączone z ich identyfikacją w oparciu o automatyczne przeszukiwanie bibliotek widm.

André Schreiber¹, Tania Sasaki², Doina Caraiman¹

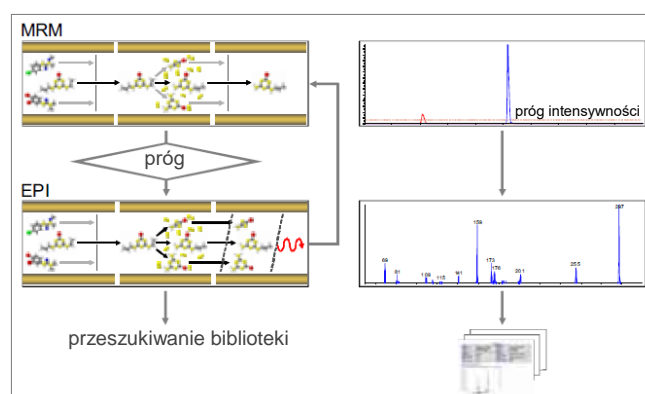
¹AB SCIEX, Concord, Ontario, Canada; ² AB SCIEX, Foster City, California, USA

Wprowadzenie

Najnowsze przepisy dotyczące badań przesiewowych pod kątem zawartości pestycydów w żywności i środowisku naturalnym wymagają zastosowania technik potwierdzających, takich jak GC/MS i LC/MS/MS. Na świecie używanych jest ponad 1000 pestycydów, które wraz ze swoimi metabolitami oraz produktami rozpadu obecne są w żywności i środowisku naturalnym. W związku z tym potrzebne są wydajne i szybkie metody analityczne, umożliwiające wykrywanie pestycydów w bardzo niskich stężeniach. Grupa Aldera porównała zastosowanie GC/MS i LC/MS/MS w analizie pozostałości pestycydów, konkludując: „zalety LC-MS/MS w kontekście szerszego zakresu, zwiększonej czułości i lepszej selektywności są oczywiste”¹

Obecnie ogromnym wyzwaniem dla laboratoriów zajmujących się badaniem pozostałości pestycydów jest oczekiwanie by badać coraz większą liczbę związków, w większej ilości surowców, w jak najkrótszym czasie, oczywiście bez utraty jakości danych.

Wszystko to stało się możliwe dzięki nowemu systemowi AB SCIEX QTRAP[®] 5500 LC/MS/MS, wyposażonemu w zaawansowaną elektronikę eQTM, nową komorę zderzeń *Curved LINAC*[®] oraz opatentowaną Pułapkę *Linear Accelerator*TM. Opracowana metoda pokazuje, że niezrównana szybkość aparatu sprzężonego z szybkim LC, umożliwia badania przesiewowe większej ilości pozostałości pestycydów, dzięki zastosowaniu szybkiego trybu MRM, połączonego z identyfikacją wykrytych związków na podstawie porównania widma zarejestrowanego w trybie ulepszanego skanowania jonów potomnych (*Enhanced Product Ion*) z widmami znajdującymi się w bibliotece.



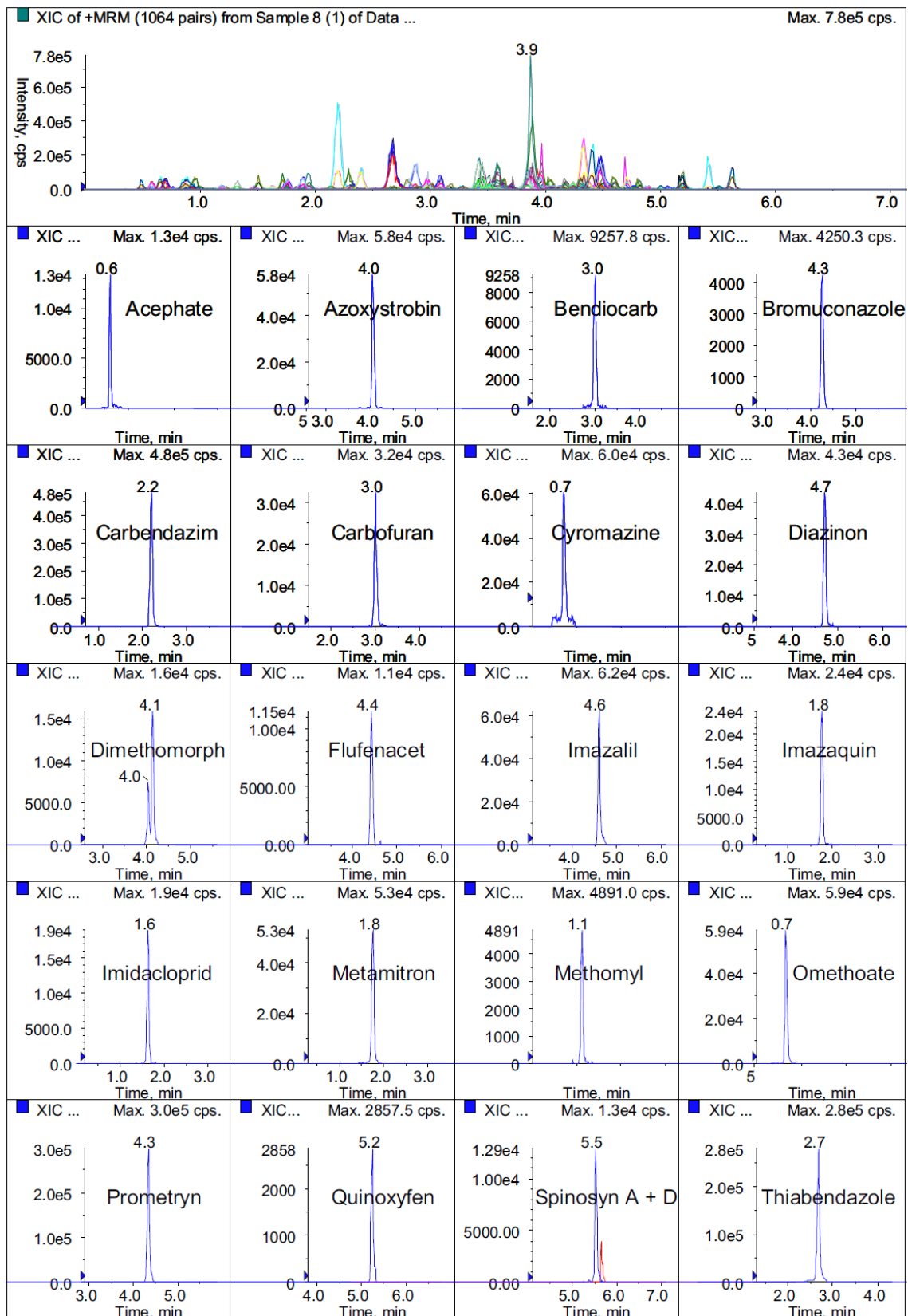
Rycina 1. Zasady tworzenia eksperymentu warunkowego zbierania danych (*Information Dependent Acquisition, IDA*):

Wstępnie stosowane jest wysoce selektywne i bardzo czułe skanowanie w trybie monitorowania wielu reakcji (*Multiple Reaction Monitoring, MRM*) w kierunku wielu poszukiwanych analitów. Każdy sygnał chromatograficzny wybijający się ponad zadany próg intensywności powoduje automatyczne zarejestrowanie widma w trybie ulepszanego skanowania jonów potomnych (*Enhanced Product Ion*), które to z kolei użyte jest do porównania z widmami znajdującymi się w bibliotece i ewentualnej identyfikacji wykrytego związku.

Szczegóły metody

- Ekstrakcja QuEChERS próbki żywności, następnie 50-krotne rozcieńczenie w celu zminimalizowania ewentualnego efektu matrycy
- W przypadku próbki wody - bezpośredni nastrzyk
- Ultra Wysokociśnieniowa Chromatografia Cieczowa za pomocą systemu Shimadzu UFLCXR z wykorzystaniem kolumny Phenomenex Synergi Fusion-RP (2.5 µm) i szybkiego gradientu woda/metanol z dodatkiem buforu mrówczanu amonu
- Całkowity czas analizy krótszy niż 10 min
- System AB SCIEX QTRAP[®] 5500 LC/MS/MS ze źródłem Turbo VTM i sondą ESI
- Wykrywanie 1064 par *Scheduled MRM*TM, połączone z przeszukiwaniem bibliotek widm pod kątem zgodności z zarejestrowanym widmem EPI

Na rycinie 1 przedstawiony jest stosowany cykl pracy, razem z odpowiednim widmem EPI.



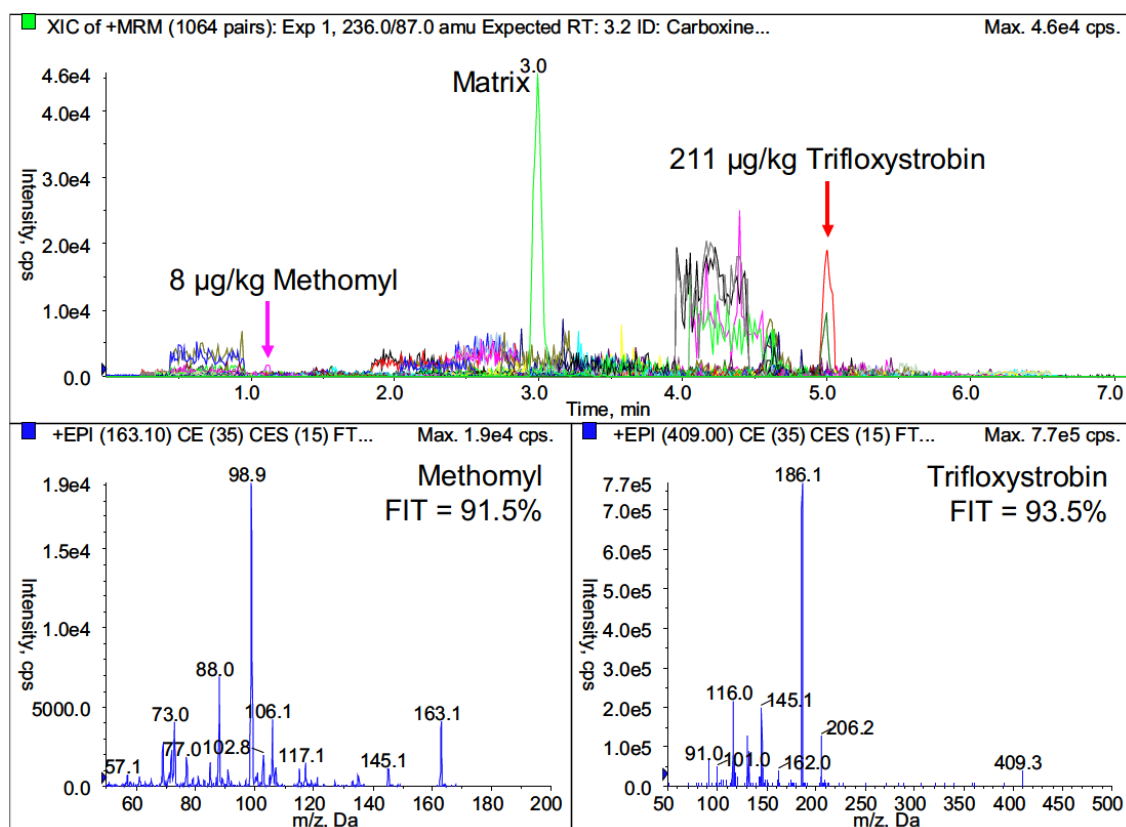
Rycina 2. Badania przesiewowe pestycydów w oparciu o 1064 par *Scheduled MRM™* w czasie krótszym niż 10 minut (na górze) oraz wyekstrahowane chromatogramy poszczególnych pestycydów o stężeniu 1 ng/mL (na dole).

Wyniki

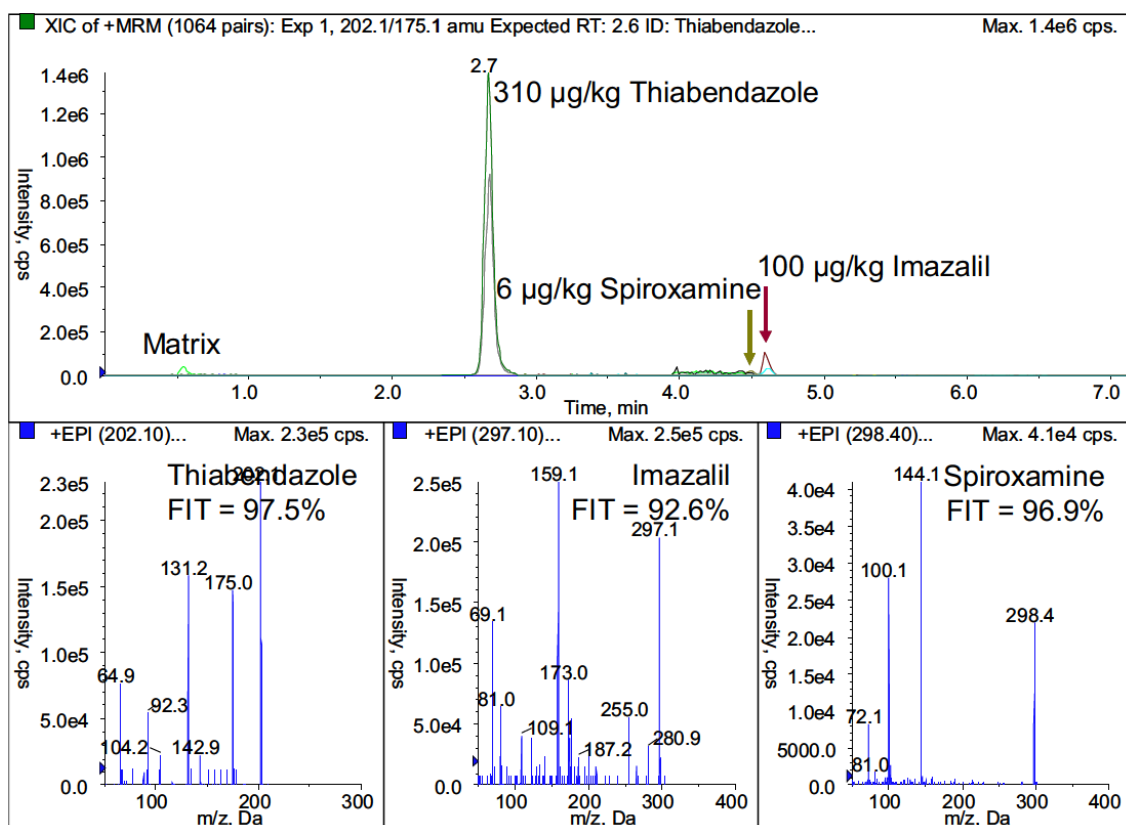
Nowy system QTRAP[®] 5500 pozwala na zastosowanie zarówno krótszych czasów zbierania poszczególnych par MRM jak i krótszych przerw pomiędzy nimi, przy jednoczesnym zachowaniu najwyższej selektywności, czułości i powtarzalności. Wspomniane powyżej parametry, połączone z zaimplementowanym w programie Analyst[®] 1.5 algorytmem *Scheduled MRM*[™] umożliwiają wykrywanie nawet kilku tysięcy par MRM w trakcie jednej analizy. Na ryc. 2 pokazana jest przykładowa analiza w trybie warunkowego zbierania danych (IDA), w której w czasie poniżej 10 minut obserwowano ponad 1000 par MRM. Przykładowe wyekstrahowane chromatogramy pokazują lepszą czułość, umożliwiającą wykrywanie substancji na poziomie stężeń niższym niż ng/ml.

Nowa liniowa pułapka jonowa (Linear Accelerator[™] Trap) systemu QTRAP[®] 5500 pozwala na zbieranie widm EPI z niezrównaną czułością i szybkością skanowania 20 000 Da/s. Udoskonalony sprzętowo-programowy algorytm Dynamicznego Czasu Napełniania (Dynamic Fill Time, DFT) umożliwia zastosowanie szerszego zakresu czasów napełniania, choćby tak krótkiego jak 0,05 ms. Taka konstrukcja pułapki umożliwia zmniejszenie niekorzystnego efektu ładunku przestrzennego, co znacząco poprawia jakość zbieranych widm mas, nawet w szerokim zakresie dynamicznym. Dodatkowo, widma EPI uzyskiwane z użyciem Rozrzutu Energii Zderzeń (*Collision Energy Spread, CES*) cenione są za bogactwo informacji, umożliwiające łatwiejszą identyfikację.

Ryciny 3 i 4 pokazują przykłady zastosowania opisanych wcześniej metod w badaniu przesiewowym pestycydów w próbkach owoców. Wiele związków zostało zidentyfikowanych i potwierdzonych na podstawie automatycznego przeszukiwania biblioteki widm.



Rycina 3. Wykrycie metomylu w stężeniu 8 µg/kg oraz trifloksystrobin w stężeniu 211 µg/kg w próbce winogron, połączone z identyfikacją na podstawie porównania widma EPI z biblioteką widm. Uzyskano doskonałe dopasowanie o wartości >90%.



Rycina 4. Wykrycie spiroksaminy w stężeniu 6 µg/kg, imazalilu w stężeniu 100 µg/kg oraz tiabendazolu w stężeniu 310 µg/kg w próbce banana, połączone z identyfikacją na podstawie porównania widma EPI z biblioteką widm. Ponownie uzyskano doskonałe dopasowanie o wartości >90% dla wszystkich

Podsumowanie

Nowy system QTRAP® 5500 LC/MS/MS łącząc sprawdzoną technologię źródła jonów Turbo V™, łącznika *Curtain Gas*™ zapewnia najwyższą czułość i solidność badań. Dzięki zastosowaniu zaawansowanych technologii, takich jak nowa komora zderzeń *Curved LINAC*® czy też pułapka *Linear Accelerator*™ możliwe jest uzyskanie niedoścignionej szybkości obserwowania par MRM i zbierania widm EPI. Wszystkie powyższe elementy połączone z zaawansowanymi algorytmami programowymi, takimi jak *Scheduled MRM*™ czy też zastosowanie Rozrzutu Energii Zderzeń (*Collision Energy Spread*), sprawiają że system QTRAP® 5500 jest idealnym narzędziem do wysokoprzepustowych badań przesiewowych pestycydów w stężeniach wymaganych w przepisach dotyczących badań żywności oraz badań wody pitnej. Dodatkowo, przeszukiwanie bibliotek zapewnia największy stopień pewności otrzymywanych wyników.

Odnosiniki

- 1 L. Alder, K. Greulich, G. Kempe, B. Vieth: *Mass Spectrometry Reviews* 25 (2006) 838-865

Do zastosowania w badaniach naukowych. Nie stosować w diagnostyce.

© 2010 AB SCIEX. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

Publication number: 1121010-01