

Bestimmung von Botrytiziden-Wirkstoffen in Wein: ein Methodenvergleich von QUECHERS-GC-NPD mit HS-SPME-GC-MS

Christian PHILIPP, Phillip EDER, Walter BRANDES, Elsa PATZL-FISCHERLEITNER, Karin MANDL und Reinhard EDER

HÖHERE BUNDESLEHRANSTALT UND BUNDESAMT FÜR WEIN- UND OBSTBAU; Wienerstrasse 74, 3400 Klosterneuburg, Austria;
E-mail: christian.philipp@weinobst.at | phone: 0043 2243 37910280

Wenn das Problem mit Pflanzenschutzmittel-Rückständen in Wein weder dramatisiert noch bagatellisiert werden soll, bedarf es der seriösen Bearbeitung verschiedener Fragestellungen. Eine sehr wichtige Frage ist die des raschen, billigen und validen Nachweises dieser Wirkstoffe in Most, Sturm und Weinproben. Um die Probenvorbereitung bei der Pestizidanalytik an der HBLA und BA für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg effizienter zu gestalten, erfolgte die Umstellung der Analytik von der sehr teuren und seit Jahren am Bundesamt etablierten Headspace-Solid-Phase-Microextraction-Gaschromatographie-Massen-spektroskopie (HS-SPME-GC-MS) auf eine für die Pestizid-Analytik als neue Alternative beschriebenen QuEChERS- Probenvorbereitung in Kombination mit der kostengünstigeren Gaschromatographie mit Stickstoff-Phosphor-Detektor (NPD). QuEChERS steht für "Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe", was so viel bedeutet wie "schnell, einfach, preiswert, robust und sicher". Im Zuge dieser Studie wurden die beiden Methoden anhand der Wiederfindung der Analyten verglichen (PAYA et al 2007, PHILIPP et al., SCHENCK and HOBBS 2004).

Material und Methoden

Als Basiswein für den Methodenvergleich diente ein kontrolliert-biologisch und somit rückstandsfrei produzierter Wein. Diesem Wein wurden 40 verschiedene Konzentrationen (0,000 mg/l – 0,600 mg/L) der Analyten zugesetzt und mittels der von PHILIPP et al. beschriebenen Methoden mittels GC-NPD und QuEChERS Probenvorbereitung und HS-SPME-GC-MS auf die gängigsten Botrytiziden-Wirkstoffe (Tab. 1) analysiert. Die Auswertung erfolgte einerseits in Prozent der Wiederfindung (relativer Anteil der gefundenen Konzentration zur Sollkonzentration) über den gesamten Messbereich und andererseits im Methodenvergleich (für die Verbindung Fludioxonil) als Bland-Altman-Diagramm im Vergleich der jeweiligen Methode mit der SOLL-Konzentration (BLAND und ALTMAN 1987). Die durchschnittliche Wiederfindung wurde aus den 40 zugesetzten Konzentrationen (0,000 mg/l – 0,600 mg/L) der Analyten berechnet. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert der Wiederfindung, als Standardabweichung der Wiederfindung, als höchster und niedrigster Wert der Wiederfindung für alle Analyten und für beide Methoden angegeben.

Ergebnisse und Diskussion

Der größte Vorteil der Analyse mit QuEChERS Probenvorbereitung an der HBLA liegt bei den Kosten und bei der strategischen Geräteverwendung. Die Probenvorbereitung ist zwar zeitintensiver als mit HS-SPME Autosampler, aber die Analysenkosten mittels GC-NPD liegen nur bei etwa 50 % gegenüber einer GC-MS Analyse (SCHENCK and HOBBS 2004).

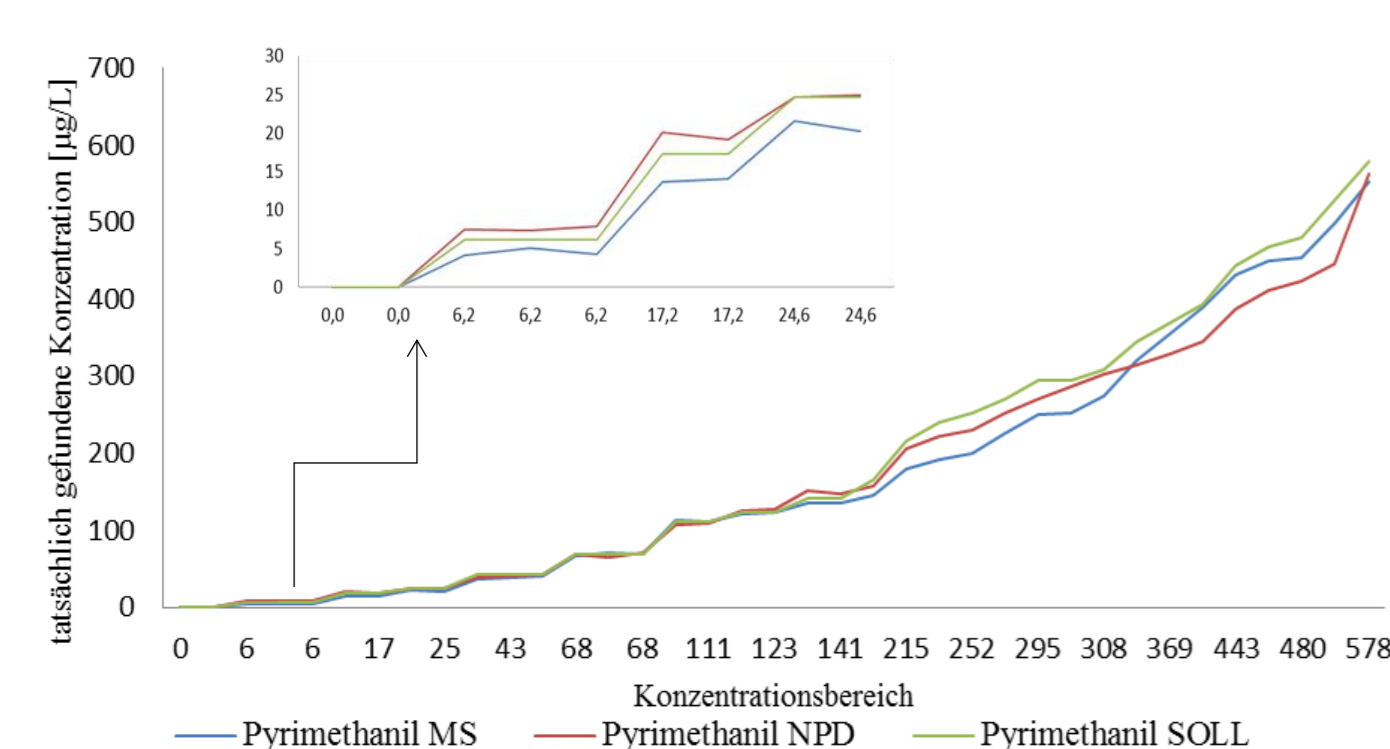


Abbildung 1: Verlauf der Wiederfindungs-Messungen von Pyrimethanil mit GC-NPD und GC-MS

	QuEChERS- GC- NPD		HS - SPME- GC- MS	
	M [±]	SD [±]	M [±]	SD [±]
Pyrimethanil	98,94%	9,96%	89,80%	8,85%
Cyprodinil	98,11%	10,80%	89,11%	11,56%
Procymidon	88,03%	17,03%	74,61%	8,26%
Mepanipyrim	93,16%	12,43%	86,17%	13,94%
Fludioxonil	99,71%	13,27%	71,22%	8,58%
Fenhexamid	97,58%	17,09%	70,68%	7,25%
Boscalid	87,49%	15,22%	64,67%	7,35%

Tabelle 1: Wiederfindungsdaten verteilt über den Konzentrationsbereich von 0,005-0,6 mg/L (40 Messungen)

Was sich bereits durch die Werte der durchschnittlichen Wiederfindung gezeigt hat, wird in Abbildung 2 und 3 dann deutlicher ersichtlich. Im Vergleich zu unserem Gold-Standard (Soll-Wert) liegt die durchschnittliche Abweichung von Fludioxonil (dicke rote Linie) bei GC-NPD (Abb.:2) bei 0,0015 mg/L und bei GC-MS bei 0,031 mg/L. In beiden Fällen ergeben sich wie zu erwarten (Wiederfindung <100%) niedrigere Werte als mit dem vergleichbaren Gold-Standard.

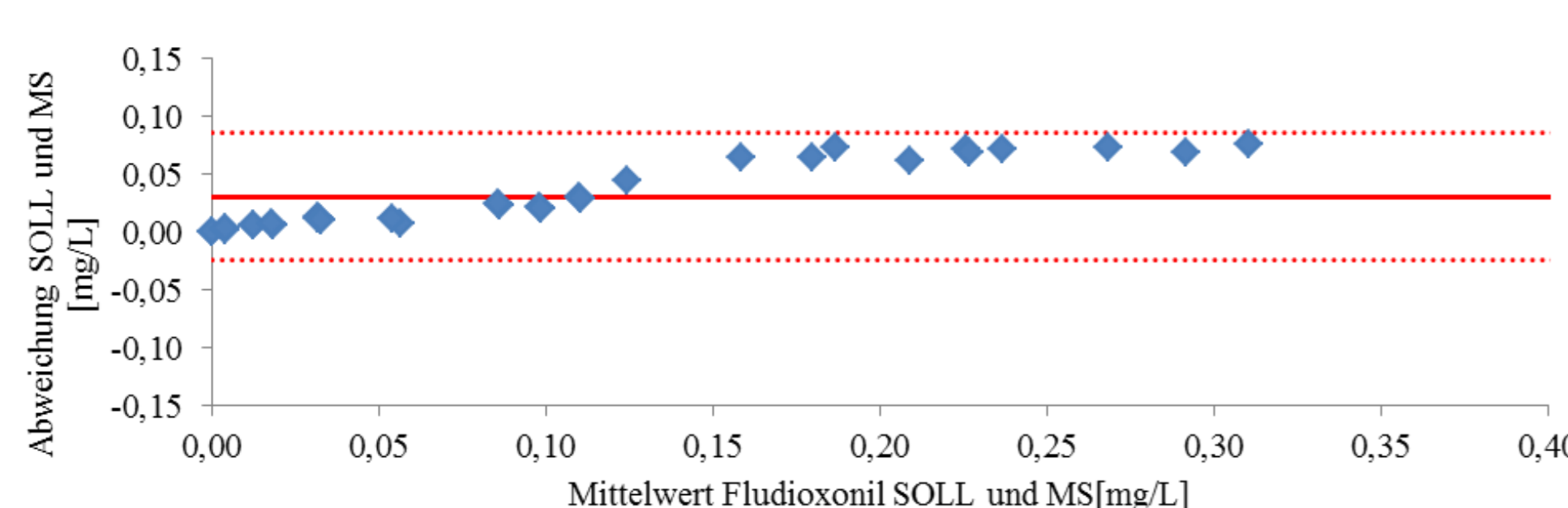


Abbildung 2: Bland-Altman Diagramm: Vergleich von Fludioxonil-SOLL-Konzentrationen vs. Konzentrationen analysiert mittels QuEChERS GC-NPD

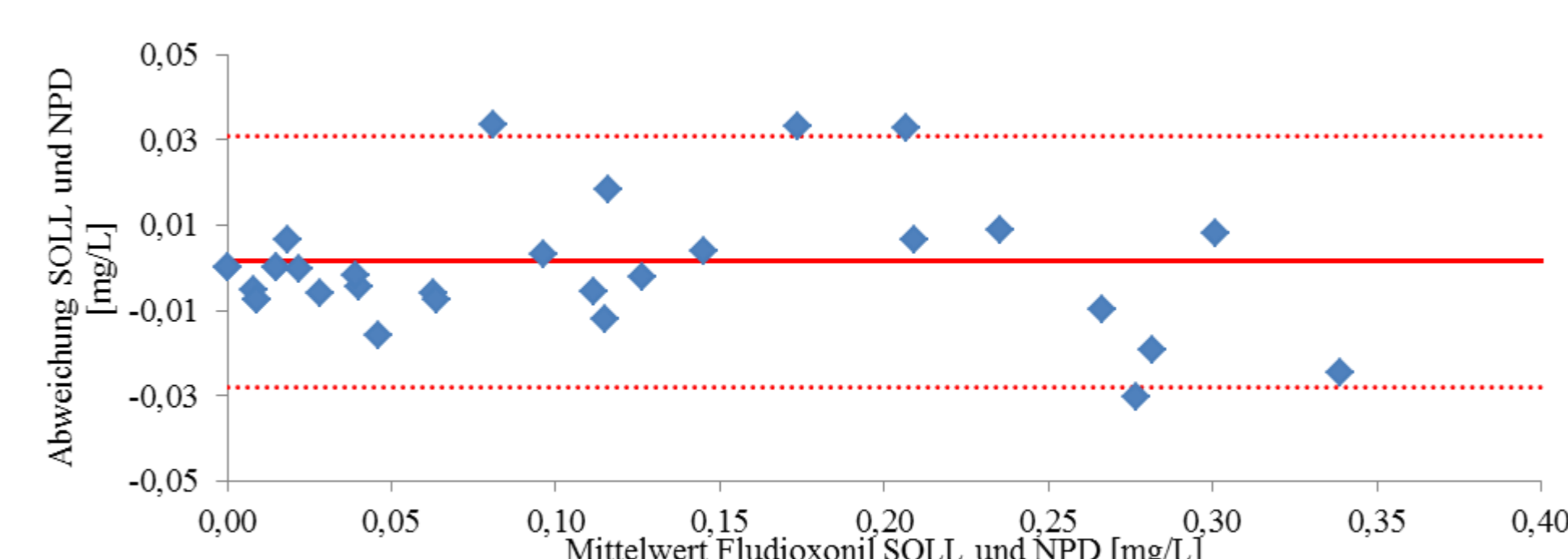


Abbildung 3: Bland-Altman Diagramm: Vergleich von Fludioxonil-SOLL-Konzentrationen vs. Konzentrationen analysiert mittels HS SPME-GC-MS

Die Abweichungen bei GC-NPD sind kleiner als die für die GC-MS-Methode festgelegte Bestimmungsgrenze (<0,0049 mg/L) für diese Verbindung. Es liegt somit bei den Analysen mittels GC-NPD kein systematischer Fehler vor, ein kleiner systematischer Fehler bei GC-MS ist aber vorhanden. Die beiden gestrichelten Linien (MW±1,96-SD) begrenzen den Bereich, in dem sich 95 % aller Analyseergebnisse befinden (Limits of agreement). In der Theorie von Bland Altman werden eigentlich Normmethoden (Goldstandard) mit neuen Methoden verglichen. Da es in diesem Fall aber keine Normmethode gibt, werden die beiden Methoden den jeweiligen Sollwerten gegenübergestellt. Die „Limits of agreement“ werden mit vorher festgelegten a priori Kriterien verglichen. Als a priori Kriterium des Gold-Standards (Sollwerte) dient, die nach der DIN 38402 abgesicherter fünffache Bestimmungsgrenze (0,0245 mg/L). Wären die beiden Methoden unter Berücksichtigung der systemischen und der zufälligen Fehler (Streuung) nach den Kriterien von Bland-Altman absolut ident mit den SOLL-Werten, dürften die Limits of Agreement nicht außerhalb der a priori Kriterien liegen. Da die Ergebnisse mittels GC-NPD (Abb.: 2) fast diesen hohen Ansprüchen nahe kommt, kann man davon ausgehen, dass die Methode entspricht (BLAND und ALTMAN 1987).

Literatur

BLAND JM, ALTMAN DG. 1987: Statistical methods for assessing agreement between measurement. *Biochimica Clinica*, 11, 399-404.

Kromidas S. 2011: Handbuch Validierung in der Analytik. John Wiley & Sons.

PAYA, P., ANASTASSIADES, M., MACK, D., SIGALOVA, I., TASDELEN, B., OLIVA, J., & BARBA, A., 2007: Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 389(6), 1697-1714.

PHILIPP C, EDER P, BRANDES W, PATZL-FISCHERLEITNER E, EDER R: Bestimmung von Botrytiziden-Rückständen in Wein mittels QUECHERS-GC-NPD oder HS-SPME-GCMS: ein Methodenvergleich. *Mitt Klosterneuburg*: to be published

SCHENCK, F. J., AND J. E. HOBBS. 2004: Evaluation of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) approach to pesticide residue analysis. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 73.1: 24-30.

