

Totfund - Analyse eines Feldhamsters - Ein Fallbeispiel

Analysis of a dead found hamster – case example

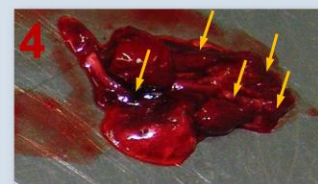
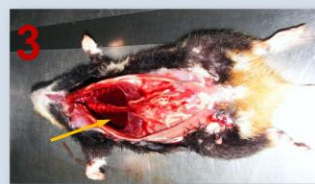
Detlef Schenke¹, Antje Weber², Gabriela Bischoff³, Christoph Böttcher¹, Jens Jacob⁴

DOI 10.5073/jki.poster.2016.001



Veranlassung

Im September 2015 wurden fünf Feldhamster im Landschaftsschutzgebiet Harsleben tot aufgefunden. Bei der Sektion eines Hamsters wurden Blutungen in Leber, Magenwand und Darm sowie starke **Einblutungen** im Brustraum festgestellt.



1, 2 - Feldhamster äußerlich unverseht aber schlecht konditioniert, kachektisch; 3 - Brustraum, 4 - Lungengewebe schwammig zersetzt

Analytik



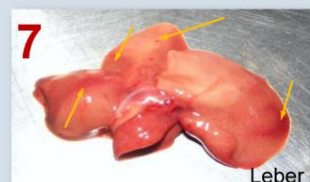
Backentascheninhalt

Rohextrakt nach Homogenisierung der Proben mit Methanol/Wasser (2:1)

Reinextrakt durch Festphasen gestützte Flüssig-Flüssig-Verteilung – ChemElut



Magenwand



Leber

i) Zielgerichtete Analyse auf die Rodentizide in den Reinextrakten Brodifacoum, Bromadiolon, Chlorophacinon, Coumatetralyl, Difenacoum, Difethialon, Flocoumafen und Warfarin (GEDUHN et al., 2014)

- In keiner Probe Rodentizide nachweisbar (n.n. < 10 ng/g)

ii) Zielgerichtete Analyse auf 282 Insektizide, Akarizide, Fungizide, Herbizide und Metabolite in den Reinextrakten

- Nachweis der Fungizide Boscalid mit 42 ng/g und Cyproconazol mit 32 ng/g im Backentascheninhalt,
- Keine Befunde in Magenwand und Leber

iii) Nicht-Zielgerichtete Analyse in Roh- und Reinextrakten

- In keiner Probe Rodentizide nachgewiesen, wie in i),
- Im Backentascheninhalt Boscalid identifiziert wie in ii) aber Cyproconazol nicht angezeigt,
- Keine Befunde in Magenwand und Leber

Bewertung

Organeinblutungen als Symptom von Cyproconazol/Boscalid-Vergiftungen sind nicht bekannt geworden. Basierend auf ihren Konzentrationen im Backentascheninhalt erscheint die Aufnahme einer für eine Vergiftung ausreichenden Menge Futter als unwahrscheinlich. Es ist nicht plausibel, dass die Hamster an einer Vergiftung durch die nachgewiesenen Wirkstoffe verendet sind.

Wir danken K. Janicke, R. Koç, H. Nowak und I. Stachewicz-Voigt für die Aufarbeitung und bzw. Messung der Proben sowie S. Weißenberg für die Gestaltung des Posters.

Geduhn, A., Esther, A., Schenke, D., Mattes, H., Jacob, J.: Spatial and temporal exposure patterns in non-target small mammals during brodifacoum rat control. Science of the Total Environment 496 (2014) 328-338 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.0490048-9697>).

¹ JKI, Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin

² Büro Wildforschung Artenschutz, Jeggau 44 a, 39649 Gardelegen, OT Jeggau, wildforschung-artenschutz@posteo.de

³ JKI, Institut für Bienenschutz, Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin

⁴ JKI, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, AG Wirbeltierforschung, Topphaideweg 88, 48161 Münster



161 - Totfund - Analyse eines Feldhamsters – Ein Fallbeispiel

Analysis of a dead found hamster – case example

Detlef Schenke¹, Antje Weber², Gabriela Bischoff³, Christoph Böttcher¹, Jens Jacob⁴



¹JKI, Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, detlef.schenke@julius-kuehn.de

²Büro Wildtierforschung & Artenschutz

³JKI, Institut für Bienenschutz

⁴JKI, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, AG Wirbeltierforschung

DOI 10.5073/jki.poster.2016.001

Im September 2015 wurden fünf Feldhamster in einem Landschaftsschutzgebiet im Vorharz tot aufgefunden. Bei der Sektion eines Hamsters wurden Blutungen in Leber, Magenwand und Darm sowie starke Einblutungen im Brustraum festgestellt. Dem sich daraus ergebenden Verdacht auf eine Vergiftung durch blutgerinnungshemmende Rodentizide wurde nachgegangen. i) Backentascheninhalt, Leber und Mageninhalt wurden mit einem Methanol-Wasser-Gemisch (2:1) extrahiert. Ein Aliquot des Rohextrakts wurde nach Zugabe einer gesättigten Natriumchloridlösung durch eine festphasengestützte Flüssig-Flüssig-Verteilung (ChemElut) gereinigt. Die Analyse auf die Rodentizide Brodifacoum, Bromadiolon, Chlorophacinon, Coumatetralyl, Difenacoum, Difethialon, Flocoumafen und Warfarin erfolgte tandemmassenspektrometrisch mit negativer Elektrosprayionisation (ESI) nach einer flüssigchromatographischen Auftrennung des gereinigten Extraktes auf einer Kinetex F5 - Säule (Phenomenex) (LC-MS: UltiMate 3000 RS (Dionex) - QTRAP 5500 (AB SCIEX)) (Geduhn et al., 2014). Da in allen drei Proben **keine Rodentizide** nachgewiesen werden konnten, wurden die aufgereinigten Extrakte gezielt auf weitere 282 Pflanzenschutzmittelwirkstoffe bzw. Metabolite analysiert ii). Dazu wurden 3 Analysenläufe auf der Gerätekombination LC 20A Prominence (Shimadzu) – 4000 QTRAP-MSMS (Applied Biosystems/MDS Sciex) (Synergi Hydro - und Kinetex C 18 - Säule (Phenomenex) mit + ESI bzw. - & + ESI) sowie 2 Analysenläufe auf der Gaschromatograph – Massenspektrometer - Kopplung DSQ II (Thermo Electron Corporation, Zebtron ZB-MultiResidue-1-Säule (Phenomenex), Elektronenstoß bzw. Negative Chemische Ionisierung) durchgeführt. Im Backentascheninhalt wurden die Fungizide **Boscalid** mit 42 ng/g und **Cyproconazol** mit 32 ng/g nachgewiesen. Trotz der Analyse der Proben mit insgesamt 6 Messungen auf 4 Säulen, bleibt die Aussage auf die gezielt integrierten Analyten begrenzt. iii) Mit einer nichtzielgerichteten Analyse der Proben auf einem Infinity 1290 UHPLC - 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS – System (Agilent) wurde versucht, diese Einschränkung aufzuheben. Die chromatographische Auftrennung von Roh- und Reinextrakt erfolgte auf einer Zorbax RRHD Eclipse Plus C18 - Säule (Agilent). Nach Datenaquisition im negativen und positiven ESI-Modus mit 0 eV und 2 Spektren/s bei einer Massengenauigkeit von 5 ppm, der Auswertung über den Algorithmus „Find by Molecular Feature“ (MassHunter Qualitative Analysis B.07.00) und einem Datenbankabgleich (MassHunter Forensics and Toxicology Personal Compound database Library Rev. B.04.02)(Agilent) wurde eine Vielzahl von möglichen Substanzen vorgeschlagen. Die mit „pesticide...“ deklarierten und in der EU-PESTICIDE DATABASE gelisteten Substanzen mit einer oralen LD₅₀ für Ratten <200 mg/kg KGW wurden genauer betrachtet. Keine dieser 24 Substanzen konnte durch einen Spektrenvergleich nach weiteren MSMS-Experimenten bestätigt werden. Die nichtzielgerichtete Analyse **bestätigte das Ergebnis von i) keine Rodentizide** und wie ii) das Vorhandensein von **Boscalid**, zeigte **aber kein Cyproconazol** an. Organeinblutungen als Symptom von Cyproconazol/Boscalid-Vergiftungen sind nicht bekannt geworden.

Basierend auf ihren Konzentrationen im Backentascheninhalt erscheint die Aufnahme einer für eine Vergiftung ausreichenden Menge Futter als unwahrscheinlich. Es ist nicht plausibel, dass die Hamster an einer Vergiftung durch die nachgewiesenen Wirkstoffe verendet sind.

Literatur

GEDUHN, A., A. ESTHER, D. SCHENKE, H. MATTES, J. JACOB, 2014: Spatial and temporal exposure patterns in non-target small mammals during brodifacoum rat control. *Sci. Total Environ.* 496, 328–338.

EU-Pesticide database: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/>. Zugriff Mai 2016.

162 - Prozedur für Avoidance-Tests mit Vögeln und Nagern zur Evaluierung des Expositionsrisikos durch Saatgutbeizen für Nichtzielorganismen

Procedure of avoidance-tests with birds and rodents to evaluate the exposure risk of non-target organisms to seed treatments

Angela Leukers, Joanna Dürger, Hendrik Ennen, Jan Sadowski, Jens Jacob, Alexandra Esther

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Wirbeltierforschung, Topheideweg 88, 48161 Münster, angela.leukers@julius-kuehn.de

Fressen Vögel und Nager z.B. mit Fungiziden gebeiztes Saatgut, ist ein unerwünschtes Expositionsrisiko von Nichtzielarten durch Pflanzenschutzmittel möglich. Gemäß der EFSA-Richtlinie „risk assessment for birds and mammals“ (EFSA 2009) muss dieses Risiko durch Expositionsszenarien bewertet werden. Das schließt die Bewertung des Vermeidungseffektes (avoidance effect) durch die repellente Wirkung des angewendeten Pflanzenschutzmittels ein. Durch die Vermeidung der Aufnahme von behandeltem Saatgut kann das Expositionsrisiko gesenkt sein. Ein entsprechendes Verhalten wurde für verschiedene Vogel- und Nagerarten bei der Aufbringung von Fungiziden auf Saatgut bereits erfasst (Lopez et al. 2014, Nolte & Barnett 2000). Ein Prüfverfahren für die Durchführung von Avoidance-Tests als Bestandteil von Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel existiert jedoch EU weit bisher nicht.

Es wurde ein Acht-Phasen-Prüfverfahren bestehend aus Choice-, No-Choice-Tests und Erholungsphasen entwickelt, angelehnt an Publikationen der BBA (1993) und EFSA (2009). Als Testtiere für Deutschland werden Wachteln (*Coturnix japonica*), Grünfinken (*Carduelis chloris*) und Feldmäuse (*Microtus arvalis*) vorgeschlagen. Die dargestellten statistischen Auswerterroutinen ermöglichen zum Einen die Begrenzung der notwendigen Tierzahl sowie zum Anderen die Berücksichtigung von unerfahrenen sowie erfahrenen Tieren. Fraßmengen werden bezogen auf das Körpergewicht der Tiere ermittelt. In diesem Beitrag werden wesentliche Projektergebnisse und Hinweise zur sachgerechten Durchführung von Avoidance-Tests vorgestellt.

Die Finanzierung des Projektes erfolgt durch die Satec Handelsgesellschaft mbH.

Literatur

BBA, 1993: Guidelines for testing plant protection products in the authorization procedure. Part IV, 25-1, Testing of baits, granules and treated seeds for hazards to birds - acceptance tests (2nd edition).

European Food Safety Authority, 2009: Guidance document on risk assessment for birds and mammals on request from EFSA. *EFSA Journal* 2009, 7 (12), 143.

Lopez-Anita A., Ortiz-Santaliestra, M. E., Mateo, R. 2014: Experimental approaches to test pesticide-treated seed avoidance by birds under a simulated diversification of food sources. *Sci. Total Environ.* 496, 179–187.

Nolte D.L., Barnett J.P., 2000: A repellent to reduce mouse damage to longleaf pine seed. *Int. Biodeter. & Biodegr.* 45, 169-174.

ANHANG

Totfund - Analyse eines Feldhamsters – Ein Fallbeispiel

Analysis of a dead found hamster – case example

Detlef Schenke¹, Antje Weber², Gabriela Bischoff³, Christoph Böttcher¹, Jens Jacob⁴

Poster 161: 60. Deutsche Pflanzenschutztagung, 20. - 23. 09. 2016, Halle (Saale).

Sektionsprotokoll

Probenaufarbeitung

- i) UltiMate 3000 RS (Dionex) - QTRAP 5500 (AB SCIEX)
- ii) LC 20A Prominence (Shimadzu) – 4000 QTRAP-MSMS (Applied Biosystems/MDS Sciex)
DSQ II (Thermo Electron Corporation)
- iii) Infinity 1290 UHPLC - 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS (Agilent)



Büro Wildforschung & Artenschutz

Dipl.-Biol. Antje Weber, Jeggau 44a, 39649 Gardelegen, OT Jeggau
Mobil: 0152-0478 43 49 E-Mail: wildforschung-artenschutz@posteo.de
Internet: <http://www.wildforschung-artenschutz.de>

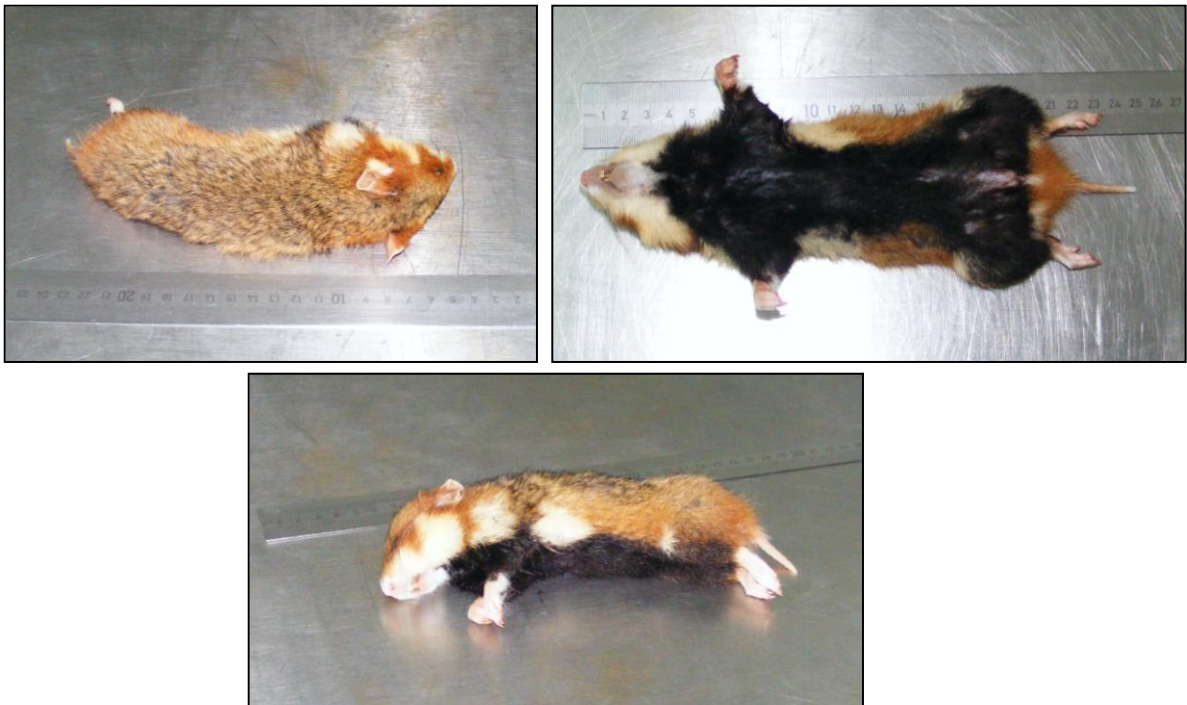
Sektionsprotokoll: *rot unterlegt = bitte dringend beachten!*

lfd. Nr.	1
Ham. R-Nr.	01/2015
Fundort	LSG Harsleben, nahe Goldbach
Bundesland	Sachsen-Anhalt
Funddatum	11.09.2015
Finder	RA Alexander Nabel
Sektionsdatum	09.10.2015
Sex	männlich
Alter	subadult-adult
Gewicht (g)	181,76
HF (mm)	31
Ohr (mm)	26
KRL (mm)	197
RSchwL (mm)	47
Ernährungszustand	sehr schlecht
Körperfett dicke (mm)	nicht messbar (< 1mm)
Magen (g)	4,9
Füllgrad %	10
Herz (g)	1,12
Lunge (g)	2,79 (o.LR)
Milz (g)	0,22
Leber (g)	6,08
Niere dex (g)	0,59
Niere sin (g)	0,55
Darm ges (g)	15,75
Hoden dex (g)	0,009
Hoden sin (g)	0,005
Uterus dex (mm)	x
Uterus sin (mm)	x
Zahnprobe	ja
Ektoparasiten	x
Endoparasiten	x
Frakturen	keine
Rupturen	Lunge beschädigt, Gewebe zersetzt + schwammig, Blutungen in Leber, Magenwand und Darm, starke Einblutungen im Brustraum
DNA	Muskelgewebe, Ohr

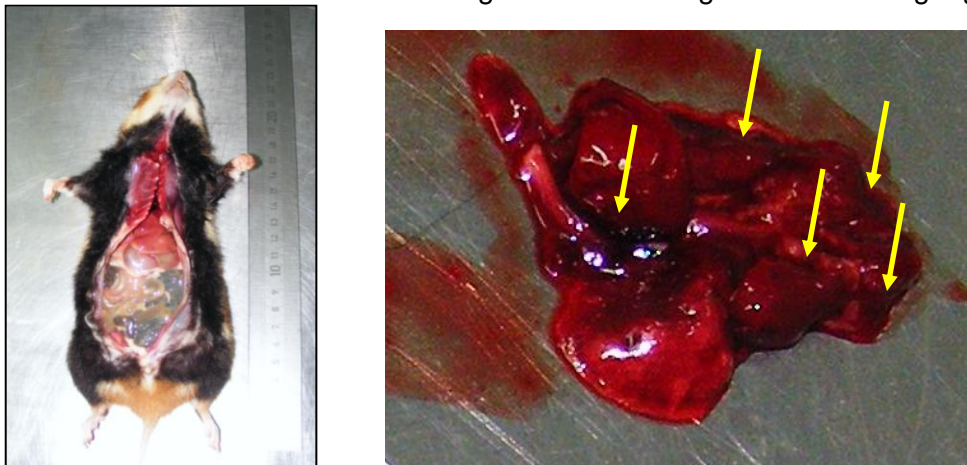
Haarprobe	Fell
weitere Proben	Fett (Schadstoffanalytik), Mageninhalt, Backentascheninhalt
Bemerkungen	schlecht konditioniert, kachektisch
Todesursache	unklar, Vermutung: Gift
Bearbeiter	A. Weber, C. Griesau
Zusatz	Mageninhalt und Inhalt Backentaschen ebenfalls zur Folgeuntersuchung eingefroren, auf Rodentizide prüfen!!!
Fotos	ja

Fotodokumentation:

1. Tier äußerlich unversehrt (dorsal und ventral, ventro-lateral)

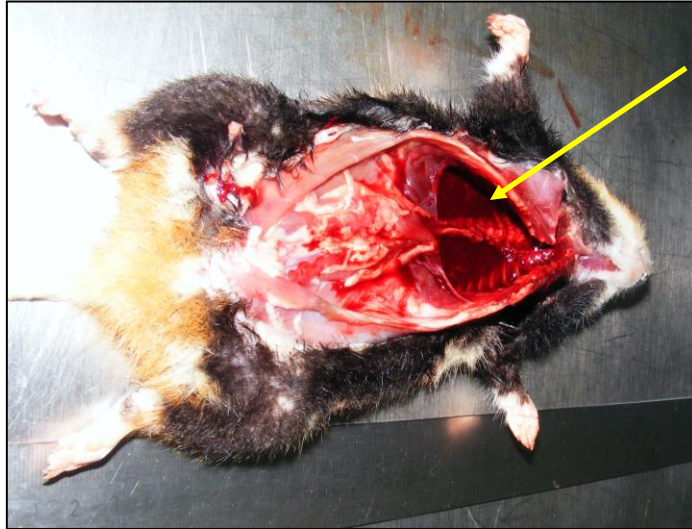


2. Ansicht von ventral während Eröffnung und schwammig zersetztes Lungengewebe:

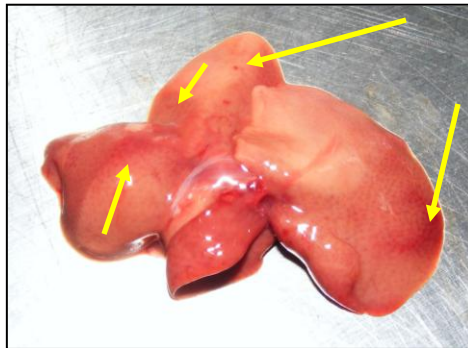


3. Einblutungen:

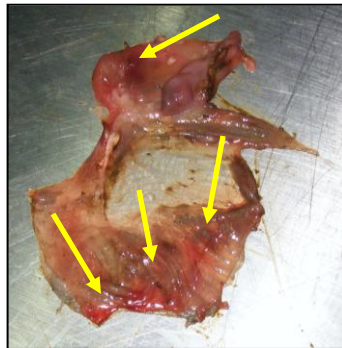
- im Brustraum:



- in Leber:



- in Magenwand:



- in Darmwand:



- Backentascheninhalt:



Hinweis: Da die Todesursache nicht eindeutig erkennbar ist, die registrierten Einblutungen aber den Verdacht einer Vergiftung nahelegen, sollten Leber, Mageninhalt und der Inhalt der Backentaschen auf Rodentizide untersucht werden.

Bearbeiter: Antje Weber, Jeggau, den 09.10.2015

Defrosting of samples, **cutting** in small pieces and **weigh** in pp - tubes (50 mL)
↓
Spike with 2 ng/μL surrogates acenocoumarol, coumachlor, diphacinone-d₄, phenprocoumon in 100 μL acetonitrile
↓
Addition of 20 mL methanol
↓
Homogenisation (IKA Ultra-Turrax T25) 3 min
↓
Addition of 10 ml water
↓
Homogenisation (IKA Ultra-Turrax T25) 1 min
↓
Centrifugation (Heraeus Megafuge 1.0) 5 min with 5.000 rpm at RT
↓
Transfer an aliquot of supernatant (15 mL) in a new pp - tube
↓
Addition of 5 mL sodium chloride - solution (20%)
↓
Agitation for 4 min
↓
Transfer of solution on ChemElut - column (Agilent 12198008) and wait at least 15 min
↓
Elute with 100 mL dichloromethane (250 mL round bottom flask)
↓
Transfer an aliquot (2 mL) in a conical flask and evaporate to dryness (Büchi Rotavapor, 37 °C bath temp.)
↓
Spike with 250 pg/μL internal standards chlorophacinone-d₄, 100 pg/μL warfarin-d₅ in 100 μL acetonitrile
↓
Evaporate to dryness
↓
Redissolve in 1 mL water / methanol (1:1, v/v) (briefly vortex)
↓
Filtration through Rotilabo-syringe filter (0.2 μm, PTFE) in autosampler vial and **Storage** no longer than 2 weeks until measurement at -20 °C

i)

LIQUID CHROMATOGRAPHY		UltiMate 3000 RS (Dionex)		
Autosampler temperature	10 °C			
Injection volume	5 µL			
Syringe rinse	100 µL			
Analytical column	Kinetex PFP (5 µm, 50 mm, 2.1 mm i.d.)			
Column temperature	70 °C			
Mobile phase A	MeOH + 0,5% HCOOH + 5 mmol NH ₄ -formiat			
Mobile phase B	H ₂ O + 0,5% HCOOH + 5 mmol NH ₄ -formiat			
Gradient program	Time (min)	A (%)	B (%)	
	0	10	90	
	3	90	10	
	4	90	10	
	4	10	90	
	6	10	90	
Flow rate	800 µL/min			
MASS SPECTROMETER		QTRAP 5500 (AB SCIEX)		
Mode	negative ESI			
Ion spray potential	-4,5 kV			
Source temperature	450 °C			
Scan type	Multiple Reaction Monitoring / Enhanced Product Ion			
Dwell time	10 ms			
Software	Analyst 1.6.1			
Quantification	peak area			

MS/MS parameters (precursor (Q1) and product ions (Q3), declustering potential (DP), entrance potential (EP), collision energy (CE) and cell exit potential (CXP))

MRM	Precursor	Product	DP	EP	CE	CXP
ANALYTES	<i>(m/z)</i>		<i>(V)</i>			
Brodifacoum	521.0	78.9	-85	-10	-94	-13
Bromadiolone	526.9	249.9	-30	-10	-50	-19
Chlorophacinone	373.1	201.0	-75	-10	-30	-13
Coumatetralyl	291.0	140.9	-125	-10	-38	-13
Difenacoum	443.1	135.0	-55	-10	-46	-11
Difethialone	538.9	80.8	-215	-10	-92	-13
Flocoumafen	541.0	382.0	-65	-10	-36	-29
Warfarin	307.0	161.0	-90	-10	-28	-13
SURROGATES						
Acenocoumarol	352.0	145.0	-55	-10	-58	-19
Coumachlor	340.9	160.8	-60	-10	-30	-21
Diphacinone-d ₄	343.1	167.0	-115	-10	-32	-15
Phenprocoumon	278.9	250.0	-55	-10	-32	-17
INTERNAL STANDARDS						
Chlorophacinone-d ₄	377.1	200.9	-120	-10	-32	-15
Warfarin-d ₅	312.1	161.0	-95	-10	-28	-9
EPI	> 1000 cps					

ii)

Methode zur Bestimmung von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in Bienen und Bienen-relevanten Materialien mit GC-MS und LC-MS/MS
(des Instituts für Bienenschutz im Julius Kühn-Institut)

Mess- und Auswerteparameter

LC-MS/MS 4000 QTRAP®

Methode BS positiv 01

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Geräte: LC-20A Prominence mit 2 Pumpen LC-20ADXR (Shimadzu)
Autosampler SIL-20ACXR (gekühlt)
Säulenofen CTO-20ACXR
Vacuum Degasser DGU-20A5
Controller CBM-20A

Säule: Phenomenex Synergi Hydro 150 x 3 mm; 4 µm; 80 Å

Vorsäule: Phenomenex Security Guard Cartridge AQ C18 4 x 2,0 mm

Ofentemperatur: 40 °C

Autosampler: 15 °C

Injektionsvolumen: 10 µl

Fluss 0,6 ml/min

Eluent A: Methanol / Wasser (90/10, V/V) mit 5 mM Ammoniumformiat und 0,1 % Essigsäure

Eluent B: Wasser mit 5 mM Ammoniumformiat und 0,1 % Essigsäure

Gradient:	Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
	0,0	10	90
	12,0	100	0
	18,0	100	0
	18,1	10	90
	22,0	10	90

Massenspektrometrie (MS-positiv)

Geräte: 4000 QTRAP® (Applied Biosystems/MDS SCIEX)

Quelle: Turbo Ion Source (ESI)

Software: Analyst 1.5.2 und MultiQuant 2.1.1

Scan Type: sMRM

Polarity: Positiv

Source-Temperature: 550°C

Ion Source Gas 1 (GS1) (Nebulizer Gas): 70 psi (~ 483 kPa)

Ion Source Gas 2 (GS2) (Turbo Gas): 50 psi (~ 345 kPa)

Spray voltage: + 5500 V

Collision Gas (CAD) (Stickstoff): High

ii)

Methode BS negativ 01

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Geräte: LC-20A Prominence mit 2 Pumpen LC-20ADXR (Shimadzu)
Autosampler SIL-20ACXR (gekühlt)
Säulenofen CTO-20ACXR
Vacuum Degasser DGU-20A5
Controller CBM-20A

Säule: Phenomenex Kinetex C₁₈ 50 x 3 mm; 2,6 µm; 100 Å

Vorsäule: Phenomenex KrudKatcher Ultra

Ofentemperatur: 40 °C

Autosampler: 15 °C

Injektionsvolumen: 5 µl

Fluss 0,7 ml/min

Eluent A: Methanol / Wasser (90/10, V/V) mit 5 mM Ammoniumformiat ,
0,1 % Essigsäure

Eluent B: Wasser mit 5 mM Ammoniumformiat und 0,1 % Essigsäure

Gradient:	Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
	0,0	10	90
	0,5	100	0
	3,8	100	0
	4,8	10	90
	6,0	10	90

Massenspektrometrie (MS-negativ)

Geräte: 4000 QTRAP® (Applied Biosystems/MDS SCIEX)

Quelle: Turbo Ion Source (ESI)

Software: Analyst 1.5.2 und MultiQuant 2.1.1

Scan Type: sMRM

Polarity: Negativ

Source-Temperature: 550°C

Ion Source Gas 1 (GS1) (Nebulizer Gas): 70 psi (~ 483 kPa)

Ion Source Gas 2 (GS2) (Turbo Gas): 50 psi (~ 345 kPa)

Spray voltage: - 4500 V

Collision Gas (CAD) (Stickstoff): High

ii)

Methode BS positiv 04

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Geräte: LC-20A Prominence mit 2 Pumpen LC-20ADXR (Shimadzu)
Autosampler SIL-20ACXR (gekühlt)
Säulenofen CTO-20ACXR
Vacuum Degasser DGU-20A5
Controller CBM-20A

Säule: Phenomenex Kinetex C₁₈ 50 x 3 mm; 2,6 µm; 100 Å

Vorsäule: Phenomenex KrudKatcher Ultra

Ofentemperatur: 40 °C

Autosampler: 15 °C

Injektionsvolumen: 5 µl

Fluss 0,9 ml/min

Eluent A: Methanol / Wasser (90/10, V/V) mit 5 mM Ammoniumformiat und 0,1 % Essigsäure

Eluent B: Wasser mit 5 mM Ammoniumformiat und 0,1 % Essigsäure

Gradient:	Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
	0,0	30	70
	3,0	100	0
	6,0	100	0
	6,1	30	70
	8,0	30	70

Massenspektrometrie (MS-positiv für Abamectin, Azadirachtin, Milbemectin)

Geräte: 4000 QTRAP® (Applied Biosystems/MDS SCIEX)

Quelle: Turbo Ion Source (ESI)

Software: Analyst 1.5.2 und MultiQuant 2.1.1

Scan Type: sMRM

Polarity: Positiv

Source-Temperature: 550°C

Ion Source Gas 1 (GS1) (Nebulizer Gas): 70 psi (~ 483 kPa)

Ion Source Gas 2 (GS2) (Turbo Gas): 50 psi (~ 345 kPa)

Spray voltage: + 5500 V

Collision Gas (CAD) (Stickstoff): High

ii)

Identifizierung und Quantifizierung

Identifizierung der Analyten: über 3 Massenübergänge (MRM)

Identifizierung der internen Standards: über 2 Massenübergänge (MRM)

Tabelle mit den Massenübergängen der identifizierten Wirkstoffe

Analyten (Positiv-Mode)	Monitoring-Ionen	Q1 Mass (u)	Q3 Mass (u)	Collision energy (V)
Boscalid	1. MRM	343	307	29
	2. MRM	343	140	29
	3. MRM	343	271	45
Dimethoat D6 (Interner Standard für die Quantifizierung von Boscalid)	1. MRM	236	205	15
	2. MRM	236	131	31
Cyproconazol	1. MRM	292	70	45
	2. MRM	292	125	45
	3. MRM	292	89	89
Tebuconazol D6 (Interner Standard für die Quantifizierung von Cyproconazol)	1. MRM	314	72	51
	2. MRM	314	125	59

Quantifizierung: relative Peakflächen

Interne Standards (ISTD): insgesamt 10 deuterierte Wirkstoffe

Kalibrierung: quadratisch, mit Referenzsubstanzen in Matrix
(oder Lösungsmittel nach Extrakt-Verdünnung)

Konzentrationen [pg/µl]: 1 – 10 – 100 – 500

ii)

Methode zur Bestimmung von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in Bienen und Bienen-relevanten Materialien mit GC-MS und LC-MS/MS
(des Instituts für Bienenschutz im Julius Kühn-Institut)

Mess- und Auswerteparameter

GC-MS DSQ II ®

GC/MS-Parameter	DSQ II (Thermo Electron Corporation)
Injektion <ul style="list-style-type: none">• Injektortyp• Injektionstechnik• Injektortemperatur• Injektionsart• Injektionsvolumen	"split/splitless"-Injektor Splitless: 0,0 bis 1,5 min 210 °C Autosampler (CTC CombiPAL), 10 °C 1 µl
Trennung <ul style="list-style-type: none">* Trennsäule* Trägergas* Temperatur-Programm	Fused-silica-Kapillare Phenomenex Zebron ZB-MultiResidue-1, 30 m, i.D.: 0,25 mm, Filmdicke: 0,25 µm Helium 5.0 / 1,2 ml/min (const. flow) 70°C, 2 min → 5°C/min → 320°C, 10 min
Detektion <ul style="list-style-type: none">* Detektortyp* Ionisierungsart EI (closed EI)* Ionisierungsart NCI* Identifizierung* Bibliotheken	Single Stage Quadrupol -70 eV, Full Scan 50-650 u Ion Source 225°C, Transferline 275°C -70 eV, Full Scan 20-650 u Reaktandgas Methan 1,7 ml/min Ion Source 180°C, Transferline 275°C über Full Scan Spektren NIST 05 (Apr 2005) Ehrenstorfer (Feb 2001) Semrau (Mai 2005, EI + NCI) eigene EI- + NCI-Bibliotheken
Software	XCalibur 1.4 SR 1

Quantifizierung: relative Peakflächen
interner Standard (ISTD): Trifluralin D14
Kalibrierung: quadratisch, mit Referenzsubstanzen in Matrix,
4 Messpunkte, Schnittpunkt = 0
Konzentrationen [pg/µl]: 1, 10, 100, 500

Wirkstoffliste der Rückstandsmultimethode

(Stand vom 09.11.2015)

Nr.	Wirkstoff	Mess-System (Quantifizierung)
1	Abamectin (Avermectin B1a und B1b)	LC-MS/MS
2	Acephat	LC-MS/MS
3	Acetamiprid	LC-MS/MS
4	Aclonifen	LC-MS/MS
5	Acrinathrin	LC-MS/MS
6	Alachlor	LC-MS/MS
7	Alanycarb	LC-MS/MS
8	Aldicarb	LC-MS/MS
9	Aldicarb-sulfon	LC-MS/MS
10	Aldicarb-sulfoxid	LC-MS/MS
11	Allethrin	GC-MS
12	Amisulbrom	LC-MS/MS
13	Amitraz	LC-MS/MS
14	Amitraz-Metabolit BTS 24868	GC-MS
15	Amitraz-Metabolit BTS 27271	LC-MS/MS
16	Amitraz-Metabolit BTS 27919	LC-MS/MS
17	Azadirachtin	LC-MS/MS
18	Azamethiphos	LC-MS/MS
19	Azinphos-ethyl	LC-MS/MS
20	Azinphos-methyl	LC-MS/MS
21	Azoxystrobin	LC-MS/MS
22	Bendiocarb	LC-MS/MS
23	Benfuracarb	LC-MS/MS
24	Benthiavalicarb-isopropyl	LC-MS/MS
25	Benzoximat	LC-MS/MS
26	Benzylbenzoat	GC-MS
27	Bifenazat	GC-MS
28	Bifenox	GC-MS
29	Bifenthrin	LC-MS/MS
30	Bioallethrin	GC-MS
31	Boscalid	LC-MS/MS
32	Bromacil	LC-MS/MS
33	Bromoxynil	LC-MS/MS
34	Brompropylat	GC-MS
35	Bromuconazol	LC-MS/MS

Nr.	Wirkstoff	Mess-System (Quantifizierung)
36	Buprofezin	LC-MS/MS
37	Butoxycarboxim	LC-MS/MS
38	Captan	GC-MS
39	Carbaryl	LC-MS/MS
40	Carbendazim	LC-MS/MS
41	Carbofuran	LC-MS/MS
42	Carbophenothion	GC-MS
43	Carbosulfan	LC-MS/MS
44	Carboxin	LC-MS/MS
45	Carfentrazone-ethyl	GC/MS
46	CEKAFIX	LC-MS/MS
47	Chlorantraniliprole	LC-MS/MS
48	Chlordimeform	LC-MS/MS
49	Chlorfenapyr	GC-MS
50	Chlorfenvinphos	GC-MS
51	Chlorpyrifos	GC-MS
52	Chlorpyrifos-methyl	GC-MS
53	Chlorthalonil	GC-MS
54	Chlorthiamid	GC-MS
55	Clofentezin	LC-MS/MS
56	Clomazone	LC-MS/MS
57	Clothianidin	LC-MS/MS
58	Clothianidin-Metabolit TZMU	LC-MS/MS
59	Clothianidin-Metabolit TZNG	LC-MS/MS
60	Coumaphos	GC-MS
61	Cyantraniliprole	LC-MS/MS
62	Cyflufenamid	LC-MS/MS
63	Cyfluthrin	GC-MS
64	Cyfluthrin-beta	GC-MS
65	Cyhalothrin	GC-MS
66	Cyhalothrin-gamma	GC-MS
67	Cyhalothrin-lambda	GC-MS
68	Cymiazol	LC-MS/MS
69	Cymoxanil	LC-MS/MS
70	Cypermethrin	GC-MS
71	Cypermethrin-alpha	GC-MS
72	Cypermethrin-zeta	GC-MS
73	Cyphenothrin	GC-MS
74	Cyproconazol	LC-MS/MS
75	Cyprodinil	LC-MS/MS
76	Cyromazine	LC-MS/MS
77	Deltamethrin	LC-MS/MS
78	Demeton-S-methylsulfon	LC-MS/MS
79	Diafenthiuron	LC-MS/MS
80	Dialifos	GC-MS

Nr.	Wirkstoff	Mess-System (Quantifizierung)
81	Diazinon	GC-MS
82	Dichlobenil	GC-MS
83	Dichlorvos	LC-MS/MS
84	Diethofencarb	LC-MS/MS
85	Difenoconazol	LC-MS/MS
86	Diflubenzuron	LC-MS/MS
87	Diflufenican	LC-MS/MS
88	Dimethachlor	LC-MS/MS
89	Dimethenamid-P	LC-MS/MS
90	Dimethoat	LC-MS/MS
91	Dimethomorph	LC-MS/MS
92	Dimoxystrobin	LC-MS/MS
93	Dinotefuran	LC-MS/MS
94	Dithiocarbamate	GC-MS
95	Diuron	LC-MS/MS
96	Empenthrin	GC-MS
97	Endosulfan-alpha	GC-MS
98	Endosulfan-beta	GC-MS
99	Endosulfansulfat	GC-MS
100	Epoxiconazol	LC-MS/MS
101	Esfenvalerat	GC-MS
102	Ethiofencarb	LC-MS/MS
103	Ethofumesat	GC-MS
104	Ethoprophos	LC-MS/MS
105	Etofenprox	LC-MS/MS
106	Etoxazol	LC-MS/MS
107	Famoxadone	LC-MS/MS
108	Fenamidone	LC-MS/MS
109	Fenamiphos	LC-MS/MS
110	Fenarimol	LC-MS/MS
111	Fenazaquin	LC-MS/MS
112	Fenhexamid	GC-MS
113	Fenitrothion	GC-MS
114	Fenoxaprop-ethyl	LC-MS/MS
115	Fenoxycarb	LC-MS/MS
116	Fenpropidin	LC-MS/MS
117	Fenpropimorph	LC-MS/MS
118	Fenpyroximat	LC-MS/MS
119	Fipronil	LC-MS/MS
120	Fipronil-carboxamid	GC-MS
121	Fipronil-desulfinyl	LC-MS/MS
122	Fipronil-sulfid	LC-MS/MS
123	Fipronil-sulfon	LC-MS/MS
124	Flonicamid	LC-MS/MS
125	Fluazifop	LC-MS/MS

Nr.	Wirkstoff	Mess-System (Quantifizierung)
126	Fluazifop-butyl	LC-MS/MS
127	Fluazinam	LC-MS/MS
128	Fludioxonil	LC-MS/MS
129	Flufenacet	LC-MS/MS
130	Flufenoxuron	LC-MS/MS
131	Flumethrin	GC-MS
132	Fluopicolide	LC-MS/MS
133	Fluoxastrobin	LC-MS/MS
134	Flupyradifurone	LC-MS/MS
135	Fluquinconazol	LC-MS/MS
136	Fluroxypyr-1-methylheptylester	LC-MS/MS
137	Flurtamone	LC-MS/MS
138	Flusilazol	LC-MS/MS
139	Flutriafol	LC-MS/MS
140	Fluvalinat-tau	GC-MS
141	Folpet	GC-MS
142	Fonofos	LC-MS/MS
143	Fosthiazat	LC-MS/MS
144	Fuberidazol	LC-MS/MS
145	Furathiocarb	LC-MS/MS
146	HCH-alpha	GC-MS
147	HCH-beta	GC-MS
148	Heptenophos	LC-MS/MS
149	Hexachlorbenzol	GC-MS
150	Hexaconazol	LC-MS/MS
151	Hexaflumuron	LC-MS/MS
152	Hexythiazox	LC-MS/MS
153	Imazalil	LC-MS/MS
154	Imidacloprid	LC-MS/MS
155	Imidacloprid-5-hydroxy	LC-MS/MS
156	Imidacloprid-olefin	LC-MS/MS
157	Imiprothrin	LC-MS/MS
158	Indoxacarb	LC-MS/MS
159	loxynil	LC-MS/MS
160	loxynil-octanoat	GC-MS
161	Iprodion	GC-MS
162	Iprovalicarb	LC-MS/MS
163	Isoproturon	LC-MS/MS
164	Isoxaben	LC-MS/MS
165	Kresoxim-methyl	GC-MS
166	Lindan	GC-MS
167	Lufenuron	LC-MS/MS
168	Malathion	LC-MS/MS
169	Mandipropamid	LC-MS/MS
170	MCPA	LC-MS/MS

Nr.	Wirkstoff	Mess-System (Quantifizierung)
171	Mecoprop	LC-MS/MS
172	Mepanipyrim	LC-MS/MS
173	Mepronil	LC-MS/MS
174	Metaflumizone	LC-MS/MS
175	Metalaxyl-M	LC-MS/MS
176	Metazachlor	LC-MS/MS
177	Metconazol	LC-MS/MS
178	Methamidophos	LC-MS/MS
179	Methidathion	GC-MS
180	Methiocarb	LC-MS/MS
181	Methiocarb-sulfon	LC-MS/MS
182	Methiocarb-sulfoxid	LC-MS/MS
183	Methomyl	LC-MS/MS
184	Methoxychlor	GC-MS
185	Methoxyfenozide	LC-MS/MS
186	Metofluthrin	GC-MS
187	Metrafenone	GC-MS
188	Metribuzin	GC-MS
189	Mevinphos	LC-MS/MS
190	Milbemectin	LC-MS/MS
191	Myclobutanil	LC-MS/MS
192	Naphthalin	GC-MS
193	Napropamid	LC-MS/MS
194	Nicotine	LC-MS/MS
195	Nitenpyram	LC-MS/MS
196	Novaluron	LC-MS/MS
197	Omethoat	LC-MS/MS
198	Oxydemeton-methyl	LC-MS/MS
199	Paclobutrazol	LC-MS/MS
200	Paraoxon	GC-MS
201	Parathion	GC-MS
202	Parathion-methyl	GC-MS
203	Penconazol	LC-MS/MS
204	Pencycuron	LC-MS/MS
205	Pendimethalin	GC-MS
206	Pentachlorbenzol	GC-MS
207	Pentachlorphenol	GC-MS
208	Permethrin	GC-MS
209	Phenothrin	GC-MS
210	Phosalon	LC-MS/MS
211	Phoxim	LC-MS/MS
212	Picoxystrobin	LC-MS/MS
213	Piperonylbutoxid	LC-MS/MS
214	Pirimicarb	LC-MS/MS
215	Pirimicarb-desmethyl	LC-MS/MS

Nr.	Wirkstoff	Mess-System (Quantifizierung)
216	Pirimicarb-desmethyl-formamid	LC-MS/MS
217	Pirimiphos-methyl	LC-MS/MS
218	Prallethrin	GC-MS
219	Prochloraz	LC-MS/MS
220	Procymidon	GC-MS
221	Profenofos	LC-MS/MS
222	Propachlor	LC-MS/MS
223	Propamocarb	LC-MS/MS
224	Propaquizafop	LC-MS/MS
225	Propiconazol	LC-MS/MS
226	Propoxur	LC-MS/MS
227	Propyzamid	LC-MS/MS
228	Proquinazid	LC-MS/MS
229	Prosulfocarb	LC-MS/MS
230	Prothioconazol	LC-MS/MS
231	Prothioconazol-desthio	LC-MS/MS
232	Pymetrozin	LC-MS/MS
233	Pyraclostrobin	LC-MS/MS
234	Pyrazophos	GC-MS
235	Pyrethrine (Pyrethrum)	GC-MS
236	Pyridaben	GC-MS
237	Pyridalyl	GC-MS
238	Pyrimethanil	LC-MS/MS
239	Pyriproxyfen	LC-MS/MS
240	Quinoclammin	LC-MS/MS
241	Quinoxifen	LC-MS/MS
242	Rotenone	LC-MS/MS
243	Schwefel	LC-MS/MS
244	Silthiofam	LC-MS/MS
245	Spinosad (Spinosyn A und Spinosyn D)	LC-MS/MS
246	Spirodiclofen	GC-MS
247	Spiromesifen	GC-MS
248	Spirotetramat	LC-MS/MS
249	Spiroxamin	LC-MS/MS
250	Sulfoxaflor	LC-MS/MS
251	Tebuconazol	LC-MS/MS
252	Tebufenozid	LC-MS/MS
253	Tebufenpyrad	LC-MS/MS
254	Teflubenzuron	LC-MS/MS
255	Tefluthrin	GC-MS
256	Terbufos	GC-MS
257	Tetrachlorvinphos	LC-MS/MS
258	Tetradifon	GC-MS
259	Tetramethrin	GC-MS
260	Thiabendazol	LC-MS/MS

Nr.	Wirkstoff	Mess-System (Quantifizierung)
261	Thiacloprid	LC-MS/MS
262	Thiacloprid-amid	LC-MS/MS
263	Thiamethoxam	LC-MS/MS
264	Thiocyclam-hydrogenoxalat	GC-MS
265	Thymol	GC-MS
266	Tolclofos-methyl	LC-MS/MS
267	Tolyfluanid	GC-MS
268	Transfluthrin	GC-MS
269	Triadimenol	LC-MS/MS
270	Triazamat	LC-MS/MS
271	Triazophos	LC-MS/MS
272	Triazoxid	LC-MS/MS
273	Tribenuron-methyl	LC-MS/MS
274	Trichlorfon	LC-MS/MS
275	Trifloxystrobin	LC-MS/MS
276	Triflumuron	LC-MS/MS
277	Trifluralin	GC-MS
278	Triforin	LC-MS/MS
279	Triticonazol	LC-MS/MS
280	Vamidothion	LC-MS/MS
281	Vinclozolin	GC-MS
282	Zoxamide	LC-MS/MS

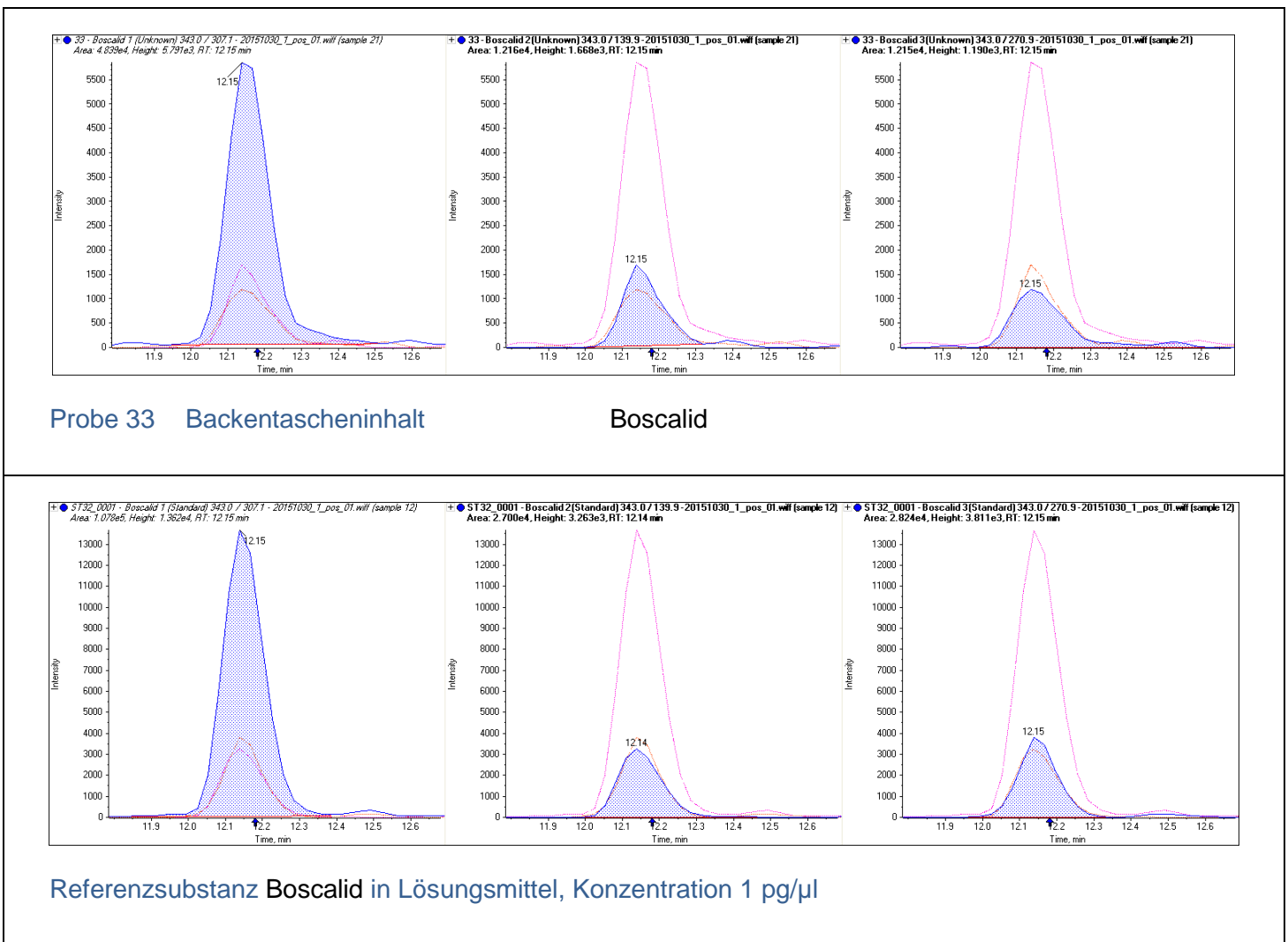
ii)

Bestimmung von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in Bienen und Bienen-relevanten Materialien mit LC-MS/MS (Instituts für Bienenschutz im Julius Kühn-Institut)

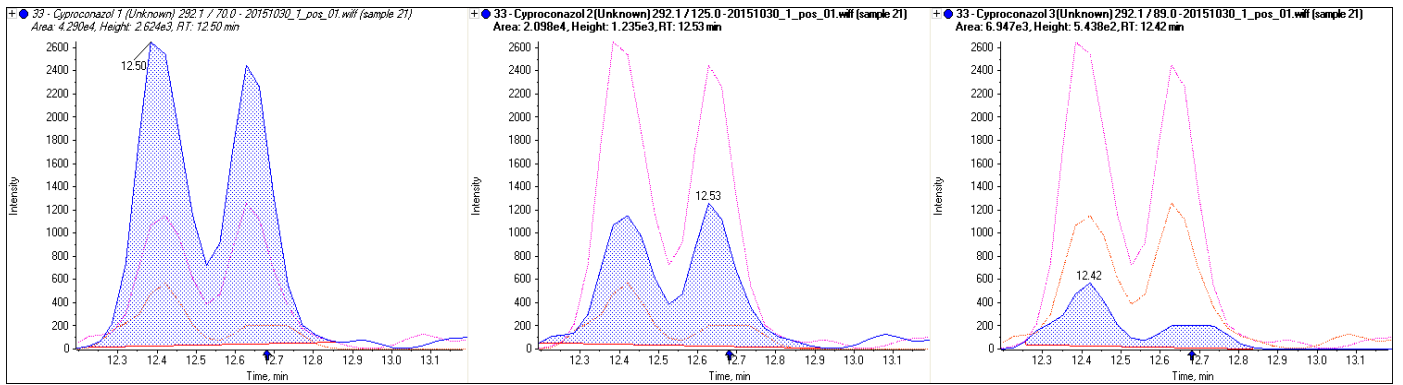
Identifizierung und Quantifizierung

Die Zielsubstanzen werden anhand ihrer Retentionszeit und drei charakteristischer MRM-Übergänge identifiziert (s. Abb.). Die Chromatogramme der drei Massenübergänge einer Probe sind im Zeitfenster von Boscalid bzw. Cyproconazol nebeneinander dargestellt. Der Verlauf der ausgewählten Masse wird im entsprechenden Fenster durch die blaue Linie dargestellt, die anderen beiden Massen sind dann durch die rote bzw. magenta Linie repräsentiert. Die Fläche unter dem Signal/Peak der jeweiligen Masse ist blau ausgefüllt, wenn die Kriterien für die automatische Integration erfüllt sind.

Die Quantifizierung erfolgt über die relativen Peakflächen nach der Methode des internen Standards. Hier wird in der Regel die Fläche des Haupt-MRM (der linke Peak in der Abb.) herangezogen. Cyproconazol ist eine chirale Verbindung und liegt daher als Gemisch von stereoisomeren Molekülen vor, die nur bedingt trennbar sind. Für die Quantifizierung wird die Summe der Fläche der beiden Isomere verwendet.

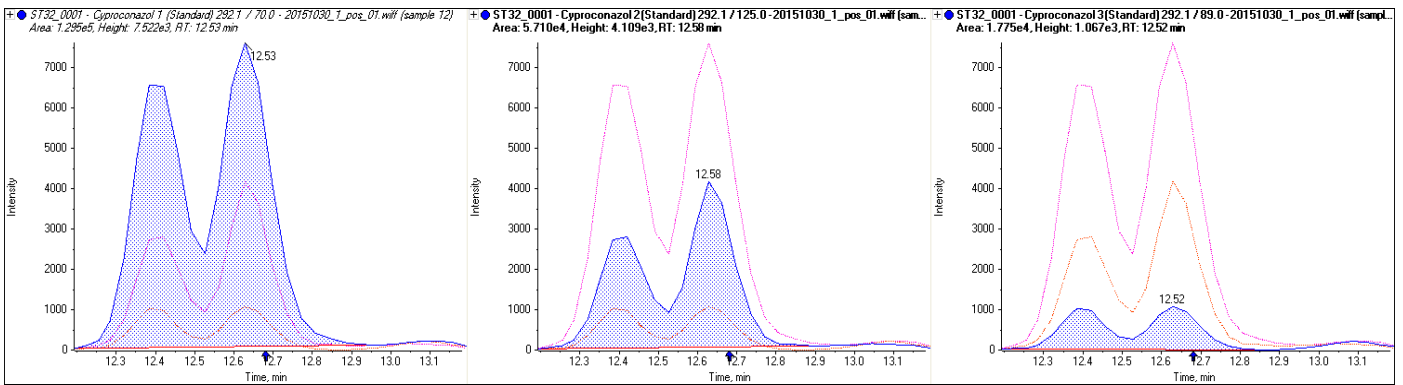


ii)



Probe 33 Backentascheninhalt

Cyproconazol



Referenzsubstanz Cyproconazol in Lösungsmittel, Konzentration 1 pg/μl

iii)

System	Infinity 1290 UHPLC-System (Agilent) – 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS-System (Agilent)
Säule	Zorbax RRHD Eclipse Plus C18, 100 × 2,1 mm × 1,8 µm (Agilent), 40°C
Injektion	5 µl, 8 °C
Eluenten	A = H ₂ O + 0,1 % HCOOH, B = CH ₃ CN + 0,1 % HCOOH
Gradient	0-20 min linear von 5 auf 95 % B; 20-25 min isokratisch 95 % B, 25-27 min isokratisch 5 % B, Flussrate 400 µl/min
Ionenquelle	Dual Agilent Jet Stream Elektrospray-Ionenquelle
Ionenmodus	ESI(+), ESI(-)
Parameter Ionenquelle	Nebulizergas Stickstoff, Nebulizergasdruck 35 psig, Trockengas Stickstoff, Trockengastemperatur 200°C, Trockengasfluss 18 l/min, Sheathgastemperatur 300 °C, Sheathgasfluss 12 l/min, Kapillarspannung 3000 V, Nozzlespannung 0 V
Parameter MS	Fragmentorspannung 300 V, Octopole RF 750 V, high pressure funnel: voltage drop 150 V, RF voltage 100 V, low pressure funnel: voltage drop 100 V, RF voltage 60 V, funnel exit DC 40 V; octopole RF voltage 750 V, Stossgas Stickstoff, Stossenergie 0 V
Datenakquisition	Akquisitionsbereich <i>m/z</i> 100-1000, Akquisitionsrate 2 Spektren/s, Akquisitionsmodus „extended dynamic range“ (2 GHz), spektrale Auflösung bei <i>m/z</i> 922: $R_{FWHM} \approx 25000$, Referenzmassenkorrektur mittels Purin und Hexakis-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxy)phosphazin, Massengenauigkeit $\Delta m \leq 5$ ppm
Datenextraktion	MassHunter Qualitative Analysis B.07.00 (Agilent), Nicht-zielgerichtete Extraktion von putativen Verbindungen über den Algorithmus „Find Compounds by Molecular Feature“, Retentionszeitbereich 0-20 min, <i>m/z</i> -Bereich 100-700, Intensitätsfilter absolute height ≥ 2000 counts, Quality Score ≥ 60 %, Anzahl der gefundenen Ionen ≥ 2
Datenauswertung	MassHunter Forensics and Toxicology Personal Compound Database Library Rev. B.04.02 (Agilent) mit 1669 Verbindungen, die als Pestizid klassifiziert wurden, Massentoleranz ≤ 7 ppm, Mass Score 100, Isotope Abundance Score 60, Isotope Spacing Score 50
MS/MS	Targeted MS/MS-Modus, Isolationsbreite 1.3 <i>m/z</i> , Stoßenergie 10, 20, 30 V, Stoßgas N ₂ , Retentionszeitfenster ± 20 s

iii)

Von der nichtzielgerichteten Analyse der Proben vorgeschlagenen mögliche Substanzen, die in der MassHunter database als "pesticide..." deklariert und in der EU-Pesticide database gelistet sind.

	eu pesticide database enthalten	EC 1107/2009 approved aktuell	LD50 oral ratte mg/kg KGW
2,4-DB / 2,4-Dichlorophenoxybutyric acid	+	4-16	877
2,4-DP / Dichloroprop	+	7-18	825
8-Hydroxychinolin	+	12-21	790
Acetochlor	+		1929
Aldimorph	+		>3000
AMPA	+Parent		>2000
Ancymidol (Ancimidol)	+		1721
Anthraquinone	+		>5000
Aramite	+		3900
Asulam	+		>5000
Atrazine	+		1869
Azimsulfuron	+	12-21	>5000
Azocyclotin	+		80
Beflubutamid	+	7-18	>5000
Benalaxyl	+	5-17	680 (maus)
Benfuresate	+		>4000
Bentazone-8-Hydroxy	+Parent	1-17	500 Par
Binapacryl	+		58
Bitertanol	+		>5000
Boscalid (Nicobifen)	+	8-18	>5000
Butralin (Sutralin)	+		1049
Cadusafos	+		30
Captafol artifact	+		>5000
Chlorbenside	+		>2000
Chloridazon (PAC)	+	7-18	2140
Chloropropylate	+		>5000
Chloroxuron	+		>3700
Clethodim	+	11-21	1133
Clodinafop	+	7-18	>1400
Clofencet	+		3150
Cloquintocet-mexyl	+		>2000
Cyanazine (Fortrol)	+		>2000
Cycluron	+		1500
Cyhexatin	+		265
Demeton-S-sulfoxide	+Parent		40 Par
Desmedipham	+	5-17	>5000
Dicamba	+	9-18	1581
Dicyclopentadiene	+		750
Difenoxuron	+		>1000
Dimefuron	+		>2000
Dimepiperate	+		946
Dimethirimol	+		2350
Dinocap(II)	+		1212
Dinoseb (Subitex)	+		25
Diphenadione (Diphacinone)	+		2,3
Diphenamid	+		970
Diphenylamine	+		>15000
Disulfoton (Ethylthiometon)	+		2,6
DNOC / 2,4-Dinitro-o-kresol	+		25
Esprocarb	+		>2000
Etacelasil	+		2066
Ethephon	+	7-18	1564
Etrimfos	+		>1800
Fenbuconazole	+	11-21	>2000
Fenpropathrin	+		870
Fenthion-oxon-sulfoxide	+Parent		250par
Fenuron (N,N-Dimethyl-N-phenylurea)	+		6400
Fenvalerate	+		451
Flucythrinate	+		67
Flumioxazin	+	3-17	>5000
Fluridone	+		>10000
Flurochloridone	+	11-21	>2150
Flurprimidol	+		700
Flutolanil	+	9-19	>10000
Fosetyl	+	7-18	>2000
Furathiocarb	+		53
Guazatine (Iminoctadine)	+		308

iii)

Hydramethylnon	+		>1130
Imazamethabenz	+		>5000
Imazapic	+		>5000
Imazapyr	+		>2000
Imazethapyr	+		>5000
Iprobenfos	+		680
Isofenphos	+		>28
Isofenphos-oxone	-		met
Isolan	+		>10,8
Karbutilate	+		>3000
Kasugamycin	+		11400
Lenacil	+	9-18	>5000
Maleic hydrazide	+	4-16	>5000
MBC / Benomyl	+		125
MCPB (4-(MCB))	+	6-17	4300
Mefenacet (Rancho)	+		>5000
Merphos	+		>910
Metaldehyde	+	11-21	>10
Methacrifos	+		678
Methomyl-sulfoxide	+Parent	9-19	30 par
Methoprene	+		>34600
Metolachlor CGA 357704	+	5-17	>5050
Metominostrobin, Z- (SSF-126)	+		708
Metoxuron	+		>3200
Metribuzin-desamino	+Parent	7-18	322par
Metsulfovax	+		>3929
Monocrotophos (Azodrin)	+		14
Nicosulfuron	+	9-18	>5000
Norflurazon	+		>5000
Orbencarb	+		>5000
Oxamyl	+	6-18	2,5
Oxasulfuron	+	3-16	>5000
Oxytetracycline	+		
Pentanochlor (Sloan)	+		>1000
Phenmedipham	+	5-17	>8000
Phorate oxon	+Parent		2 par
Phosmet oxon (Imidoxon) (Oxoimidan)	+Parent	7-18	113 par
Picolinafen	+	2-17	>5000
Pinoxaden	+	16-26	>5000
Piprotal	+		4400
Probenazole	+		2030
Prohexadione	+	12-21	>5000
Prohydrojasmon	+		>5000
Propargite	+		2639
Pyroquilon	+		321
Quassin	+		Bitterstoff
Simeconazole(I)	+		611
Streptomycin	+		>300
Tebutam	+		6210
Tepraloxydim (BAS 620H)	+		5000
Terbufos oxon	+Parent		1,3 par
Terbutylazine-2-hydroxy (Terbutmenton-deses)	+Parent	12-21	>1000 par
Tetrasul	+		3960
Thiodicarb	+		50
Thiofanox-sulfone	+Parent		8,5 par
Thiophanate-methyl	+	6-17	>5000
Triazophos oxon	+Parent		66 par
Tribenuron	+	6-17	>5000
Tridemorph	+		500
Triflumizol	+	10-20	1057
Triflursulfuron-methyl	+Parent		5000
Trinexapac-ethyl	+	7-18	4210
Uniconazole-P(II)	+		430

<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database>

<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

www.nepis.epa.gov

www3.epa.gov

1978 Alleva FR: Toxicology and Pharmacology 45, 855-859

Zugriff Mai 2016

iii)

Von der nichtzielgerichteten Analyse der Proben vorgeschlagene mögliche Substanzen, die in der MassHunter database als "pesticide..." deklariert und in der EU-Pesticide database gelistet sind, mit einer **oralen LD50 für Ratten < 200 mg/kg KGW**. Keine dieser 24 Substanzen konnte durch einen Spektrenvergleich nach weiteren MSMS-Experimenten bestätigt werden.

	eu pesticide database enthalten ¹⁾	EC 1107/2009 approved aktuell ¹⁾	LD50 oral ratte mg/kg KGW ³⁾
Azocyclotin	+		80
Binapacryl	+		58
Cadusafos	+		30
Demeton-S-sulfoxide	+ par		40 par
Dinoseb (Subitex)	+		25
Diphenadione (Diphacinone)	+		2,3
Disulfoton (Ethylthiometon)	+		2,6
DNOC / 2,4-Dinitro-o-kresol	+		25
Flucythrinate	+		67
Furathiocarb	+		53
Isofenphos	+		>28
Isofenphos-oxone	-		met
Isolan	+		>10,8
MBC / Benomyl	+		125
Metaldehyde	+	11-21	>10
Methomyl-sulfoxide	+ par	9-19	30 par
Monocrotophos (Azodrin)	+		14
Oxamyl	+	6-18	2,5
Phorate oxon	+ par		2 par
Phosmet oxon (Imidoxon) (Oxoimidan)	+ par	7-18	113 par
Terbufos oxon	+ par		1,3 par
Thiodicarb	+		50
Thiofanox-sulfone	+ par		8,5 par
Triazophos oxon	+ par		66 par

1) EU-Pesticide database: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/>. Zugriff Mai 2016.

2) <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>. Zugriff Mai 2016.

par: parent