

„Anreicherungsfreie Bestimmung von organischen Spurenstoffen“

Wolfram Seitz, Wolfgang Schulz und Walter H. Weber

Einleitung

Die Bestimmung von polaren organischen Spurenstoffen, beispielsweise Pflanzenschutzmitteln, deren Metaboliten, pharmazeutischen Wirkstoffen, Röntgenkontrastmitteln sowie Haushalts- und Industriechemikalien oder Transformationsprodukten, in Wasser erfolgt mittels Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und tandem-massenspektrometrischer Detektion (MS/MS). Um diese Substanzen im ng/L-Bereich quantifizieren zu können, ist eine Anreicherung der Analyte durch Festphasen- oder Flüssig/flüssig-Extraktion häufig unumgänglich. Alternativ zu derartigen Verbundverfahren kommen zunehmend anreicherungsfreie Bestimmungsmethoden [1], d.h. so genannte Direktverfahren, bei der Überwachung von Abwasser, Oberflächen-, Grund und Trinkwasser zum Einsatz. Die Weiterentwicklung der anreicherungsfreien Bestimmungsmethoden hat zu deren Verbreitung und inzwischen zur Normung der Direktverfahren für Pflanzenschutzmittel und andere Spurenstoffe geführt [2].

Direkt- und Verbundverfahren

Da die Anreicherung der Spurenstoffe aus Wasser zeit- und kostenintensiv ist und sich zudem bei sehr wasserlöslichen Verbindungen wie beispielsweise im Falle des Pflanzenschutzmittel-Metaboliten Desphenyl-chloridazon [3] als schwierig erweist, wurden

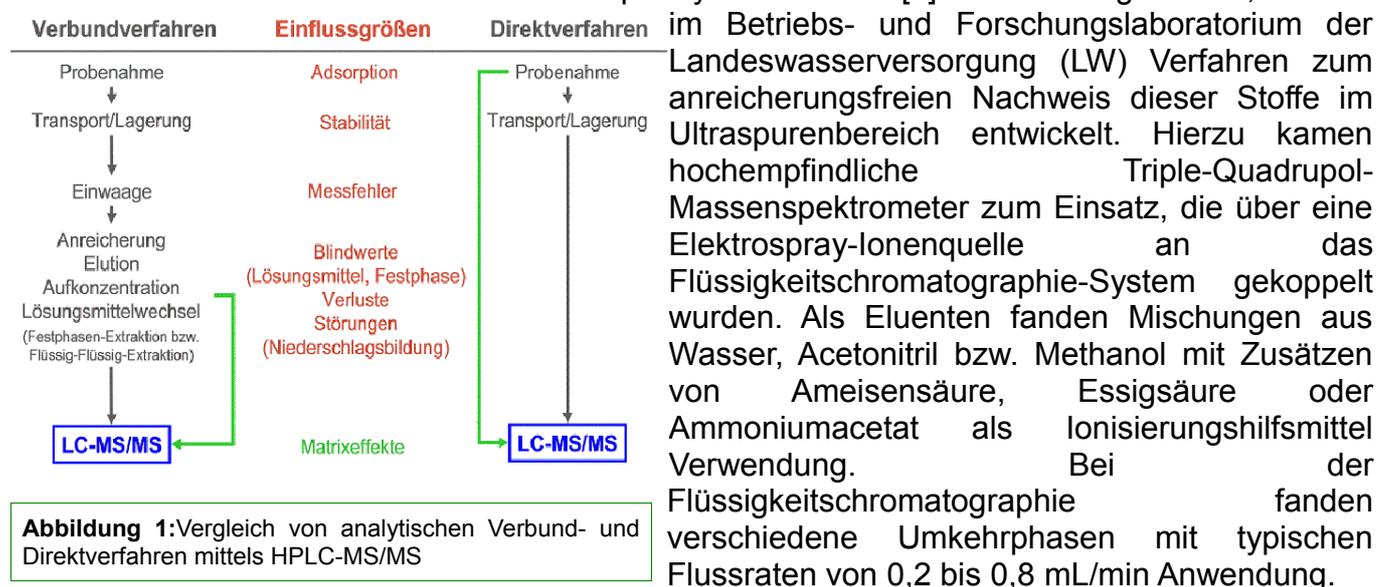


Abbildung 1: Vergleich von analytischen Verbund- und Direktverfahren mittels HPLC-MS/MS

Zur selektiven Detektion der Substanzen wurden sogenannte Massenübergänge (MS/MS) genutzt, bei denen bestimmte Vorläufer- und Fragmentionen gemessen wurden. Als allgemein anerkannt gilt, dass eine Substanz unter Verwendung von zwei Massenübergängen als sicher identifiziert angenommen werden kann.

Beim Direktverfahren kommen für eine Injektion typischerweise 100 µL Wasserprobe zum Einsatz. Bild 1 zeigt die Gegenüberstellung des Verbundverfahrens mit dem

Direktverfahren. Die Vorteile des Direktverfahrens sind:

1. Verkürzte Analysenzeit durch Wegfallen des Anreicherungs-schrittes
2. Analyse von schwierig zu extrahierenden Substanzen, d.h. von sehr gut wasserlöslichen Substanzen, möglich
3. Verbesserte Robustheit aufgrund von weniger notwendigen Analysenschritten
4. Verringerte Transportkosten aufgrund von geringen erforderlichen Probenvolumina
5. Eigenständiges Verfahren ermöglicht die analytische Absicherung von positiven Befunden

Bei Bestimmungen mittels HPLC-MS/MS-Verfahren können Matrixeffekte auftreten. Es handelt sich hierbei um multiplikative Effekte, wobei koeluiierende Probenbestandteile die Empfindlichkeit der Ionisation der HPLC-MS/MS-Messung beeinflussen können. Es sind signalverstärkende oder signalunterdrückende Effekte möglich. Die Konzentrationen der Substanzen, die in ihren chemischen Eigenschaften den Analyten sehr ähnlich sind, sind in angereicherten Wasserproben meist größer. Die Wahrscheinlichkeit einer gegenseitigen Beeinflussung dieser Probenbestandteile bei der Ionisation ist somit erhöht. Beim Direktverfahren wird im Unterschied hierzu die gering konzentrierte Wasserprobe untersucht.

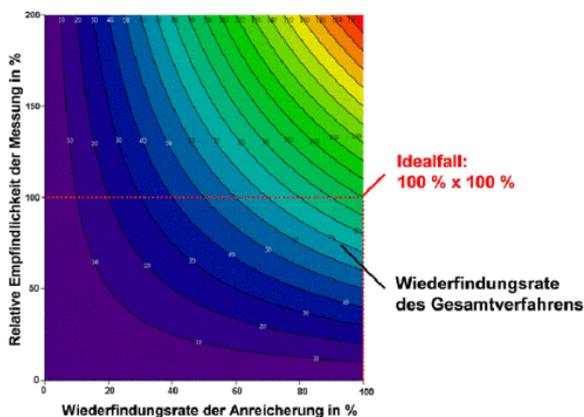


Abbildung 2: Abhängigkeit der Wiederfindungsrate des Verbundverfahrens HPLC-MS/MS nach Festphasen-Extraktion von der Wiederfindungsrate der Anreicherung und der relativen Empfindlichkeit der Messung

Je nach Wassermatrix können jedoch bei der anreicherungs-freien HPLC-MS/MS-Analytik ebenfalls Matrixeffekte auftreten, die neben organischen Bestandteilen auch auf die in der Probe enthaltenen Salze zurückgeführt werden können [5]. Es ist somit empfehlenswert, die Quantifizierung mit einer Aufstockung zu kontrollieren, interne Standardsubstanzen einzusetzen oder eine matrixangepasste Kalibrierung durchzuführen. Bei ausreichender Empfindlichkeit des Messsystems und abhängig von den zu erreichenden Bestimmungsgrenzen ist eine Verdünnung der Probe durch matrix- und analytfreies Wasser möglich, wodurch in der Regel eine wirksame Reduzierung der Matrixeffekte erreicht wird.

Die Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens ergibt sich im Fall von Verbundverfahren aus dem Produkt der Wiederfindungsrate der Anreicherung und der relativen Empfindlichkeit der Messung (Bild 2). Die Ursache für eine niedrige Wiederfindungsrate kann wie oben beschrieben auch ein signalunterdrückender Effekt bedingt durch die Probenmatrix sein.

Anwendungen der anreicherungs-freien Analytik

- Verbesserung der Messempfindlichkeit

Bestimmungsgrenzen von 10 bis 25 ng/L sind bei Direktverfahren häufig möglich, wobei diese stark von der Ionisierbarkeit der Substanzen abhängig sind. In Einzelfällen lassen sich selbst Konzentrationen im einstelligen ng/L-Bereich anreicherungs-frei detektieren. Weiterhin sind mit Hilfe sehr empfindlicher HPLC-MS/MS-Systeme und einem zusätzlichen Anreicherungs-schritt Bestimmungsgrenzen unterhalb von 1 ng/L prinzipiell möglich. Die Steigerung der Messempfindlichkeit durch die Geräteentwicklung, die in einem Zeitraum von ca. 10 Jahren erreicht werden konnte, ist anhand der Bestimmung

von jeweils 100 ng/L des Schmerzmittels Diclofenac bzw. des Herbizids Isoproturon in Bild 3 gezeigt. Die Signalintensität in den gezeigten Beispielen hat um mehr als eine Größenordnung zugenommen.

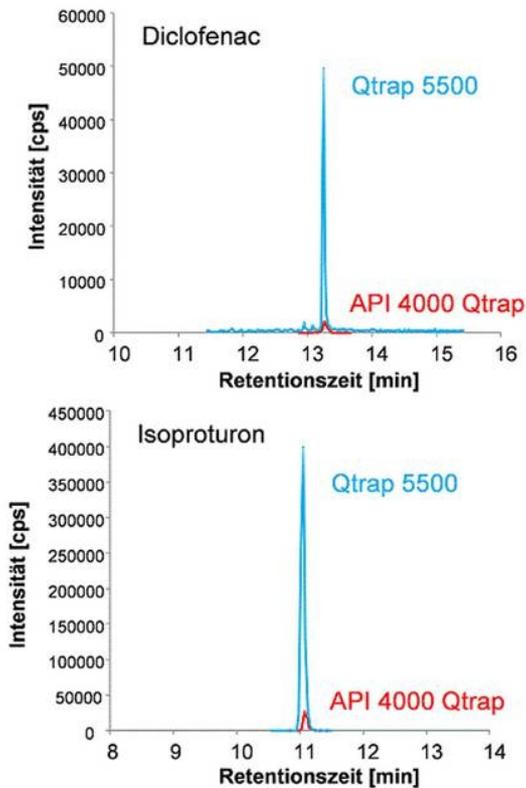


Abbildung 3: Anreicherungsfreie Detektion von jeweils 100 ng/L des Schmerzmittels Diclofenac und des Herbizids Isoproturon mittels HPLC-MS/MS: Vergleich zweier Massenspektrometer-Generationen

- Vergleich des Direktverfahrens mit einem Verbundverfahren

Die anreicherungsfreie Analytik wurde zur Bestimmung von Atrazin und seinen Hauptabbauprodukten Desethyl- und Desisopropylatrazin sowie den hydroxylierten Abbauprodukten in verschiedenen Grundwasserproben eingesetzt. Parallel hierzu konnten im Falle der nicht-hydroxylierten Substanzen die ermittelten Analysenresultate mit Hilfe des klassischen Verfahrens unter Verwendung der GC-MS-Technik nach Anreicherung bestätigt werden. Die Ergebnisse des Direktverfahrens und des Verbundverfahrens sind in Bild 4 gegenübergestellt. Die Punkte liegen dicht an der Winkelhalbierenden und zeigen damit eine sehr gute Übereinstimmung der Verfahren.

- Anwendung zur Rohwasserüberwachung

Rückstände von Arznei- und Röntgenkontrastmitteln gelangen über die kommunalen Kläranlagen in die als Vorfluter genutzten Gewässer. Beispielsweise erfolgte mit Hilfe der anreicherungsfreien Analytik die Ermittlung des Vorkommens von iodierten Röntgenkontrastmitteln in der Donau bei Leipheim (im Abstrom der Städte Ulm und Neu-Ulm). Die Summe der bestimmten Konzentrationen für Amidotrizoesäure, Iopamidol, Iohexol, Iomeprol und Iopromid in der Donau über einen Zeitraum von zwei Jahren ist als Ganglinie in Bild 5 dargestellt. Daraus lässt sich über die Abflusswerte der Donau eine Fracht für Röntgenkontrastmittel von 0,3 kg/d bis 20,8 kg/d mit einem Mittelwert von 4,3 kg/d ermitteln, wobei dies ca. 1,5 t pro Jahr entspricht.

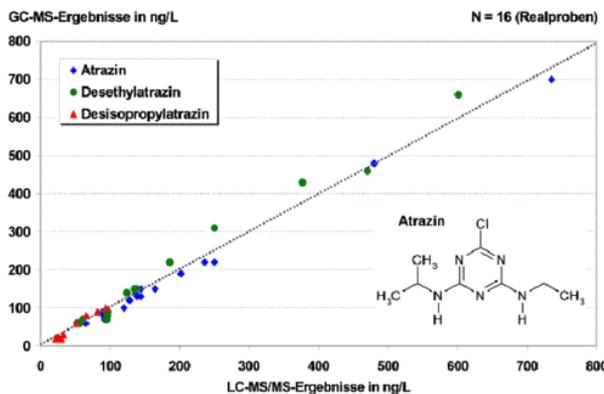


Abbildung 4: Vergleich des Direktverfahrens mittels HPLC-MS/MS mit dem Verbundverfahren GC-MS nach Festphasen-Extraktion anhand verschiedener Grundwasserproben

Ausblick

Die Analytik von polaren organischen Spurenstoffen mittels HPLC-MS/MS hat in den letzten Jahren deutlich an Bedeutung gewonnen. Es wird die

Tendenz beobachtet, dass beim Vorhandensein entsprechend empfindlicher Analysensysteme die Direktverfahren den bisher eingesetzten Verbundverfahren mit einem Anreicherungsschritt vorgezogen werden. Bei der quantitativen Auswertung kann jedoch je nach Analyt und zu untersuchendem Wasser die Kompensation von Matrixeffekten eine Herausforderung darstellen.

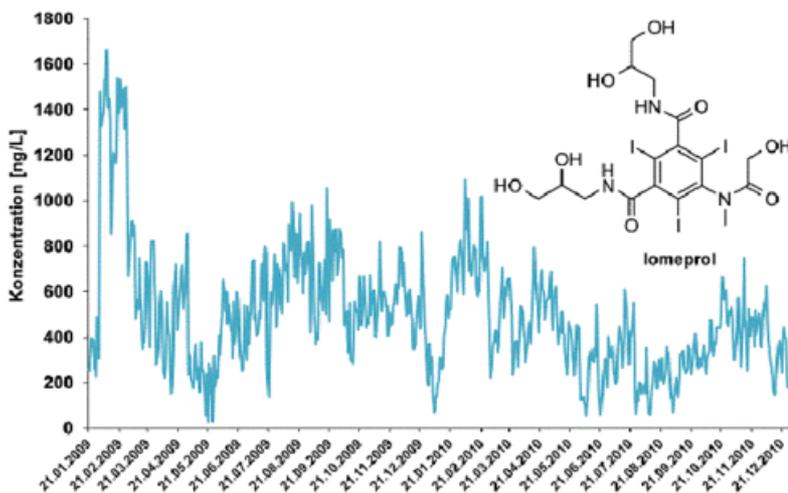


Abbildung 5: Ganglinie zum Vorkommen verschiedener Röntgenkontrastmittel (Summe für Amidotrizoesäure, Iopamidol, Iohexol, Iomeprol und Iopromid) in der Donau bei Leipheim (24 h-Mischproben, 2009 und 2010, N = 708)

Kontakt:	Schlauer Fuchs
 <p>Dr. Wolfram Seitz Zweckverband Landeswasserversorgung Betriebs- und Forschungslaboratorium Am Spitzigen Berg 1 89129 Langenau Tel.: +49 (0)7345 9638-2266 Fax: +49 (0)7345 9638-2290 E-Mail: seitz.w@lw-online.de</p>	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Was versteht man unter Matrixeffekten bei den beschriebenen HPLC-MS/MS-Verfahren?</p>
 <p>Dr. Wolfgang Schulz Zweckverband Landeswasserversorgung Betriebs- und Forschungslaboratorium Am Spitzigen Berg 1 89129 Langenau Tel.: +49 (0)7345 9638-2266 Fax: +49 (0)7345 9638-2290</p>	
 <p>Dr. Walter H. Weber Zweckverband Landeswasserversorgung Betriebs- und Forschungslaboratorium Am Spitzigen Berg 1 89129 Langenau Tel.: +49 (0)7345 9638-2266 Fax: +49 (0)7345 9638-2290</p>	
	http://www.lw-online.de/

Originalveröffentlichung:

Beim vorliegenden Manuskript handelt es sich um eine aktualisierte Fassung des Beitrags von Seitz, W., Schulz, W., Weber, W.H. (2010): HPLC-MS/MS in der Wasseranalytik - Anreicherungsfreie LC-MS-Analytik im Ultra-Spuren-Bereich, GIT Labor-Fachzeitschrift 1, 22-25.