

LC-MS/MS: Target-Analytik und LC-MS-Screenings

Substanzen	PEST max	WOMV max	WOMV GSchV	Substanzen	PEST max	WOMV max	WOMV GSchV
Preis in Fr.	600.–	700.–	350.–	Preis in Fr.	600.–	700.–	350.–
Arzneimittel				Weitere Pestizid-Wirkstoffe und -Metaboliten			
Acetyl-Sulfamethoxazol ²				Desethyl-Terbutylazin			
Amisulprid				Desisopropyl-Atrazin			
Atenolol				Desmetryn			
Azithromycin				Desphenylchloridazon			
Bezafibrat				Diazinon			
Candesartan				Dichlorprop			
Carbamazepin				Diflubenzuron			
Citalopram				Dimethachlor-ESA			
Clarithromycin ²				Dimethachlor-OXA			
Diclofenac				Dimethenamid-ESA			
Hydrochlorothiazid				Dimethoat			
Irbesartan				Diuron			
Mefenaminsäure				Epoxiconazol			
Metoprolol				Ethofumesat ²			
Naproxen				Fluometuron			
Sotalol				Imidacloprid			
Sulfamethazin				Iprovalicarb			
Sulfamethoxazol				Irgarol			
Trimethoprim				Isochloridazon			
Venlafaxin				Isoproturon			
Kontrastmittel				Isoproturon-desmethyl			
Diatrizoat (Amidotrizoesäure)				Linuron			
Iohexol ²				MCPA			
Iomeprol				Mecoprop			
Iopamidol				Mesotrion			
Iopromid				Metalaxyl			
Industriechemikalie				Metamitron			
Benzotriazol ²				Metamitron-desamino			
Estron				Metazachlor			
Tolyltriazol				Metazachlor-ESA			
Triclosan				Metazachlor-OXA			
5,6-Dimethylbenzotriazol				Methoxyfenozid			
Künstlicher Süsstoff				Methyl-desphenylchloridazon			
Acesulfam				Metolachlor			
Cyclamat				Metolachlor-ESA			
Saccharin				Metolachlor-NOA			
Sucralose ³				Metolachlor-OXA			
Pestizid-Wirkstoffe und -Metaboliten				Metrribuzin			
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)				Monuron			
2,6-Dichlorbenzamid				Napropamid			
Alachlor				Nicosulfuron ¹			
Alachlor-ESA				Norflurazon			
Alachlor-OXA				Oxadixyl			
Ametryn				Penconazol			
Atrazin				Pirimicarb			
Azoxystrobin				Prometryn			
Bentazon				Propamocarb			
Boscalid				Propazin			
Bromacil				Propazin-2-hydroxy			
Carbendazim				Propiconazol			
Chloridazon				Pyrimethanil			
Chlorpyrifos ¹				Simazin			
Chlorpyrifos-methyl				Sulcotrion			
Chlorthalonil Metabolit R417888				Tebuconazol			
Chlorthalonil Metabolit R471811				Terbutryn			
Chlorthalonil Metabolit SYN507900				Terbutylazin			
Chlortoluron				Terbutylazin SYN 545666 (LM6)			
Cyanazin				Terbutylazin-2-hydroxy			
Cyproconazol				Terbutylazin-desethyl-2-hydroxy			
Cyprodinil				Thiacloprid			
DEET				Thiacloprid-amid			
Desethylatrazin				Thiamethoxam			

Die Bestimmungsgrenze (BG) liegt beim Prüfumfang **PESTmax** bei 0.02 µg/L.
 Die BG liegt bei den Prüfumfängen **WOMVmax** und **WOMVGSchV** bei 0.01 µg/L.
 Bei dieser Substanz * liegt die BG über dem spezifischen Anforderungswert der GSchV.
 Weitere spezifische BG: ¹0.005 µg/L, ²0.02 µg/L, ³0.05 µg/L.

«Mikroverunreinigungen» im Grund- oder Oberflächenwasser: damit bezeichnet man organische und anorganische Verunreinigungen anthropogener Herkunft, die in Konzentrationen von Mikro- bis Nanogramm pro Liter vorkommen. Aus der Humanmedizin und aus Haushalten stammen beispielsweise Antibiotika, Schmerzmittel (z.B. Diclofenac) oder Süsstoffe (z.B. Acesulfam). Aus Industrie und Gewerbe stammen Oberflächenbehandlungsmittel (perfluorierte Verbindungen), Flammschutzmittel oder Schwermetalle. Aus der Landwirtschaft stammen hauptsächlich Pflanzenschutzmittel (Pestizide).

Analytik von Mikroverunreinigungen

Organische Mikroverunreinigungen sind meistens polar und somit gut wasserlöslich. Um sie im Spurenbereich im Wasser nachzuweisen, ist die Kopplung der Massenspektrometrie (MS) an die Flüssigchromatographie (LC, liquid chromatography) die Methode der Wahl. Bei der LC-MS/MS-Technik werden zwei Massenspektrometer nacheinander geschaltet. Damit kann eine sehr hohe Empfindlichkeit erreicht werden.

Prüfumfänge mit Target-Analytik

Bei der Suche nach Zielsubstanzen und deren Quantifizierung – der Target-Analytik – ist die Voraussetzung, dass es die Reinstanz gibt, aus der die Verdünnungsreihen für die Quantifizierung hergestellt werden können.

Die Bachema AG hat diverse Programme für die quantitative Bestimmung von Mikroverunreinigungen im Wasser zusammengestellt. Im Prüfumfang **PESTMax** sind die in unserem Labor validierten grundwasserrelevanten Pestizidsubstanzen und Transformationsprodukte enthalten (inkl. 3 Chlorthalonil-Metaboliten). In nebenstehender Tabelle sind die aktuell vertretenen Substanzen aufgelistet.

Die beiden Prüfumfänge **WOMVMax** und **WOMVGSchV** enthalten Mikroverunreinigungen, die für Oberflächengewässer relevant sind. Der Prüfumfang **WOMVGSchV** enthält die organischen Mikroverunreinigungs-Substanzen, die gemäss Gewässerschutzverordnung, (GSchV) Anhang 2 einen Anforderungswert für Oberflächengewässer haben.



LC-MS-Screenings

Ergänzend zur Target-Analytik von Mikroverunreinigungen bietet die Bachema AG ausserhalb des akkreditierten Bereichs auch LC-MS-Screenings an. Dazu wird ein hochauflösendes Massenspektrometer genutzt, das durch die Bestimmung exakter Molekülmassen dazu in der Lage ist, nebst einer Vielzahl bekannter Verbindungen auch bislang unbekannte Substanzen zu erfassen. Durch die gleichzeitige Messung von MS/MS-Fragmentspektren erhält man die Möglichkeit, unbekannte Substanzen zu identifizieren.

Bei LC-MS-Screenings können Proben grundsätzlich nach Verdachtssubstanzen (Suspect-Screening) oder unbekannten Substanzen (Non-Target-Screening) durchsucht werden. Beide Methoden sind im Vergleich zur Target-Analytik nicht quantitativ, erweitern aber die Anzahl der untersuchbaren Substanzen um ein Vielfaches. Die Möglichkeiten für Suspect- und Non-Target-Screenings sind sehr vielfältig. Damit man sich nicht im «Substanzendschubel» verliert, sollte die individuelle Fragestellung klar definiert sein, bevor an die Analyse herangegangen wird. Beispielsweise können Proben miteinander verglichen werden. Ohne jede einzelne Substanz kennen zu wollen, kann man sich ein «Bild» der generellen Belastung machen. Falls man einzelne Substanzen identifizieren möchte, muss man vorgängig Kriterien für die Auswahl der Signale treffen, denn aufgrund des hohen Auswerteaufwandes können nie alle Signale innert nützlicher Frist ausgewertet werden. Beispiele von Auswahlkriterien:

- die intensivsten Signale in einem Chromatogramm
- Signale, die in einer Probe aber nicht in einer anderen Probe vorkommen
- nur halogenierte Verbindungen

Anwendungsbereich von LC-MS-Screenings

In verschiedensten Wasserproben (z.B. Grundwasser, Oberflächenwasser, gereinigtem Abwasser), aber auch in wässrigen Extrakten aus Feststoffen kann mittels LC-MS-Screenings nach polaren, ionisierbaren Substanzen gesucht werden. Dabei können üblicherweise Substanzen erfasst werden, die:

Target-Analytik	Suspect-Screening	Non-Target-Screening
Suche nach Zielsubstanzen und Quantifizierung	Suche nach Substanzen, die in der Probe vermutet werden	Suche nach unbekannten Substanzen
Konzentrationsbestimmung von Mikroverunreinigungen (z.B. Pflanzenschutzmitteln) in Grund-, Oberflächen- oder Abwasser (mittels Referenzstandards)	Wasserproben können aufgrund exakt bestimmbarer Molekülmassen auf viele Substanzen durchsucht werden (auch nachträglich noch, wenn die Messung bereits erfolgt ist). Dabei können je nach Fragestellung Substanzlisten mit dutzenden bis hunderten Substanzen verwendet werden. Positive Befunde können durch nachträgliche Messung von Referenzstandards bestätigt und quantifiziert werden.	Welche Substanzen stecken hinter den grössten Signalen? Vergleichende Analyse: Welche Substanzen kommen in der einen, aber nicht in der anderen Probe vor (z.B. vor und nach der Einleitung von Abwasser)? Wiederholte Analysen über längeren Zeitraum: Wie verändert sich die Zusammensetzung der Schadstoffe?

- ein Molekulargewicht zwischen 100 und 1000 g/mol aufweisen,
- polar bis mittelpolar sind (ca. $-2 < \log K_{ow} < 5$),
- nicht flüchtig sind,
- ionisierbar mit der Elektrospray-Ionisation sind, das heisst mindestens ein Heteroatom N, O, S, P in der Struktur aufweisen (dazu gibt es jedoch Ausnahmen).

Auswertung Suspect-Screening

Bei einem Suspect-Screening werden die gemessenen Proben nach Verdachtssubstanzen durchsucht. Werden in den Proben gewisse Substanzen oder Substanzgruppen erwartet, können diese mittels ihrer chemischen Summenformel über ihre exakten Masse gesucht werden. Dies ist mit bis zu mehreren hundert Substanzen möglich. Werden Verdachtssubstanzen in diesem ersten Schritt gefunden, gelten sie als noch nicht sicher identifiziert und erhalten den Identifikationslevel 3 (siehe Identifikationschema). Ziel der weiteren Auswertung ist es, das Identifikationslevel jeder Verdachtssubstanz zu verbessern bis hin zur eindeutigen Identifikation einer Substanz (Level 1), welche nur mittels eines Referenzstandards erreichbar ist.

Auswertung Non-Target-Screening

Bei einem Non-Target-Screening wird im HRMS-Fullscan automatisiert nach Signalen gesucht, die in einem vorher definierten

Retentionszeitenfenster auftreten. In einer belasteten Probe können hunderte bis tausende Signale entstehen, die entsprechend viele Substanzen repräsentieren. Für jede Probe entsteht so eine Liste von Signalen, die jeweils durch eine exakte Masse, eine Retentionszeit und eine Intensität charakterisiert sind. Um diese Liste zu erstellen ist eine aufwändige Auswertung eines erfahrenen Analytikers notwendig, da sie nur teilweise automatisiert stattfinden kann. Die Auswertung beruht auf vielen Schritten, die sicherstellen, dass eine gute Datenqualität entsteht, so dass möglichst wenige falsch positive und falsch negative Resultate rapportiert werden.

Grundsätzlich erhält jedes Signal in dieser Liste das Identifikationslevel 5, das aber durch weitere Auswerteschritte immer noch verbessert werden kann. Zu diesem Zweck können für beide Screening-Varianten alle Peaks mit einer MS/MS-Spektren-Datenbank abgeglichen werden. Der Bachema AG steht dafür eine Datenbank mit mehreren tausend Substanzen zur Verfügung. Bei einem positiven Datenbankabgleich kann so für einen kleinen Teil der Peaks Identifikationslevel 2 erreicht werden, was einer sehr guten, aber noch nicht eindeutigen Identifikation einer Substanz entspricht.

	Preis in Fr.
LC-MS-Screening	200.– / Std. Aufwand

Identifikationsschema für Target-, Suspect- und Non-Target-Screenings (abgeleitet von Schymanski et al. 2015 Anal Bioanal Chem)

			Level	Identifikation	zu erreichendes Resultat	wird erreicht durch
Target-Screening	Suspect-Screening	Non-Target-Screening	1	maximal	bestätigte Struktur	Abgleich mit Referenzstandard
			2		wahrscheinliche Struktur	Abgleich mit MSMS-Datenbanken
			3		mögliche Struktur	Abgleich mit Chemikaliendatenbanken bzw. -listen
			4		Summenformel	Analyse von HRMS- & MS/MS-Massenspektren
			5	minimal	Masse	HRMS-Fullscan-Messung