

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

Substanzen	Prüfumfänge	PEST Max	WOMV Max	WOMV GSchV	Substanzen	Prüfumfänge	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-Terbuthylazin				
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 (Amidotrizoessäure)					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					Terbuthylazin				
Chlortoluron					Terbuthylazin SYN 545666 (LM6)				
Cyanazin					Terbuthylazin-2-hydroxy				
Cyproconazol					Terbuthylazin-desethyl-2-hydroxy				
Cyprodinil					Thiacloprid				
DEET					Thiacloprid-amid				
Desethylatrazin					Thiamethoxam				

Die Bestimmungsgrenze (BG) beim Prüfumfang **PESTMax** liegt bei 0.02 µg/L
 Bei den Prüfumfängen **WOMVMax** und **WOMVGSchV** liegt die BG bei 0.01 µg/L.
 Bei dieser Substanz * liegt die BG über dem spezifischen Anforderungswert der GSchV.
 Weitere spezifische BGs: 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 (MV) 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.

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 MV 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 MV, die für Oberflächengewässer relevant sind. Der Prüfumfang **WOMVGSchV** enthält die organischen MV-Substanzen, die gemäss Gewässerschutzverordnung (GSchV) Anhang 2 einen Anforderungswert für Oberflächengewässer haben. Der Prüfumfang **WOMVMax** enthält noch weitere für Oberflächengewässer relevante MV-Substanzen. Die ganze nebenstehende Liste mit 120 Substanzen kann ebenfalls in einem Prüfumfang gemessen werden: **MVMax** für CHF 1000.–.

Es kommen laufend weitere Substanzen in Diskussion, deren Analysenverfahren wir bei Nachfrage entwickeln und in die entsprechenden Prüfumfänge integrieren, oder in neuen Prüfumfängen anbieten. Zurzeit befinden sich folgende Substanzen im Validierungsprozess: Clothianidin, Diflufenican, Dimethachlor, Dimethenamid, Propyzamid, Foramsulfuron, Methomyl, Propyzamid, Spiroxamin, die auf Anfrage jetzt schon ausserhalb des Geltungsbereichs der Akkreditierung nach SN EN ISO/IEC 17025 gemessen werden können.

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 unbekanntem 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

Retentionszeitfenster 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																					
<table border="1"> <tr> <td>Target-Screening</td> <td rowspan="5">Suspect-Screening</td> <td rowspan="5">Non-Target-Screening</td> <td>1</td> <td>maximal</td> <td>bestätigte Struktur</td> <td>Abgleich mit Referenzstandard</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td rowspan="4"></td> <td>wahrscheinliche Struktur</td> <td>Abgleich mit MSMS-Datenbanken</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>mögliche Struktur</td> <td>Abgleich mit Chemikaliendatenbanken bzw. -listen</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Summenformel</td> <td>Analyse von HRMS- & MS/MS-Massenspektren</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>minimal</td> <td>Masse</td> <td>HRMS-Fullscan-Messung</td> </tr> </table>	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				
	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																						