



# LUBW - Zeitnahe Rheinintensivüberwachung

Diane Fügel

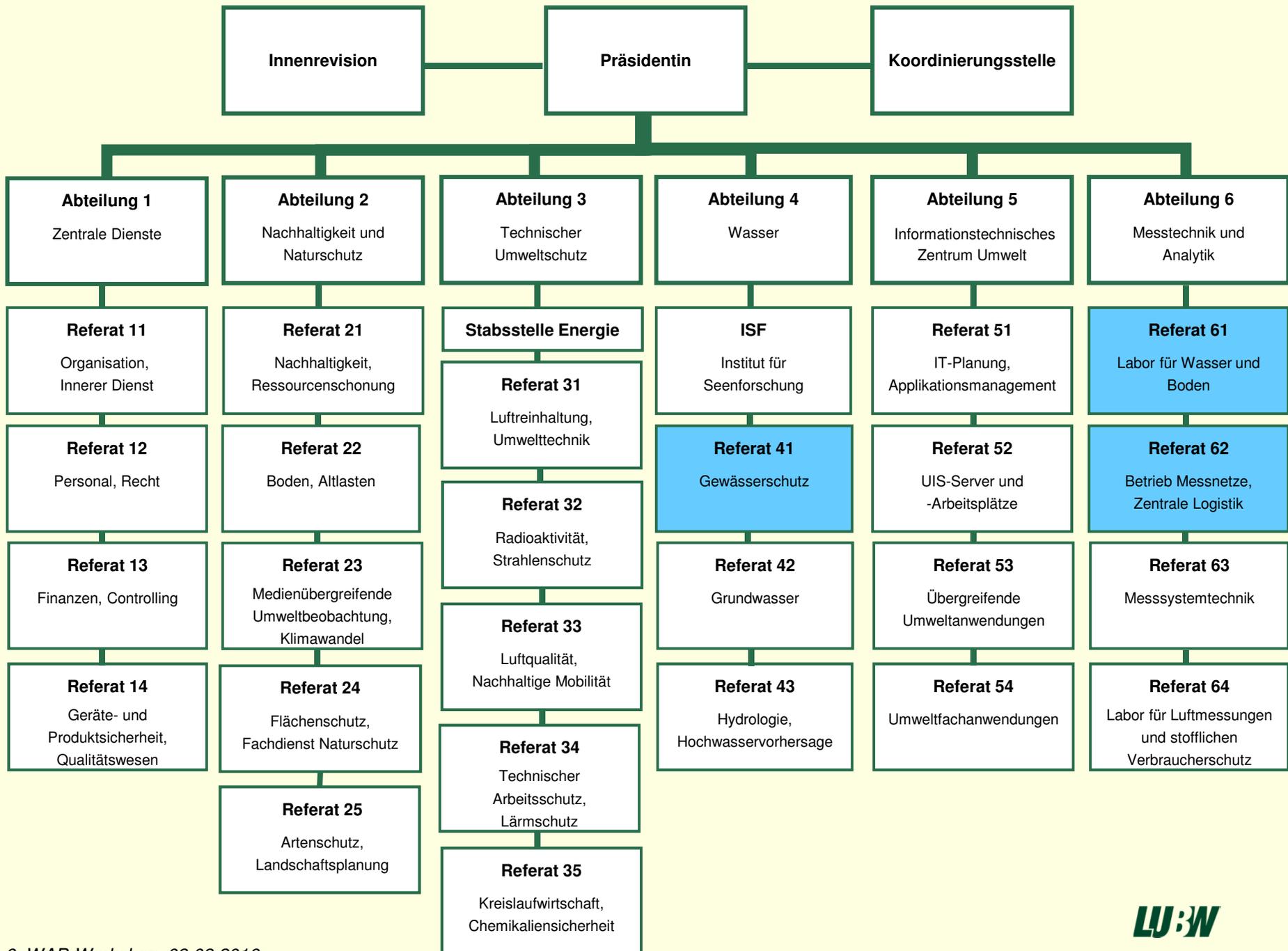
Labor für Wasser und Boden (LWB)



Baden-Württemberg

# Inhalt

- Organisation der Rheinintensivüberwachung an der LUBW: Aufgabenverteilung, Personalressourcen etc.
- Messstellen, Probenahme, Probenzahlen für die Rheinintensivüberwachung in Karlsruhe (BW)
- Geräteausstattung des Labor für Wasser und Boden
- GC-/LC-Analytik: Probenaufarbeitung, Messung und Auswertung
- Fazit und Ausblick



# Labor für Wasser und Boden (LWB) - Organik

- **Personal:** 8 CTA/Laboranten (7,6 VZÄ), 2 Chemieingenieurinnen (2,0 VZÄ), 1 Chemikerin (1 VZÄ)
- **Aufgaben:** Untersuchung von Wasser (Oberflächen-, Grund-) und Feststoffproben (Boden, Sedimente, Schwebstoffe) auf org. Spurenstoffe, Methodenentwicklung, Qualitätssicherung, Labordatenmanagement, Beratung bei analytischen Fragestellungen
- **Probenzahlen:** ~ 3000 Proben pro Jahr (inkl. Rheinintensivüberwachung)
- **Stoffespektrum:** Phenole, PAK, PCB, CLP, LHKW, Pestizide, Arzneimittel, Industriechemikalien → ca. 300 Stoffe (quantitativ)

# Rheinintensivüberwachung - Personalressourcen

- **1,2 VZÄ** (Vollzeitäquivalente) **chemisch-technische Assistentin** für Probenaufarbeitung und Messung sowie der Auswertung der GC-/DGC-/LC-Proben
- **0,2 VZÄ Chemieingenieurin** für Betreuung des GC-MS-Screening und der Analytik der leichtflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffe (LHKW)
- **0,2 VZÄ Lebensmittelchemikerin** für Betreuung des LC-MS-Screening (einschließlich Auswertung)

# Rheinintensivüberwachung – Probenahme u. -zahlen

- **Messstellen:**



Rhein – Karlsruhe (359 km)



**Hochwasser:** Rhein – Iffezheim (334 km)

- **Probensammler:** Tagesmischprobe von 06:00 Uhr bis 06:00 Uhr (GC-/LC-Screening, ETBE/MTBE)
- **Stichprobe für LHKW:** täglich um 06:00 Uhr
- **Untersuchungsumfang:**
  - GC-Screening täglich Mo-Fr. (365 Proben pro Jahr)
  - LHKW täglich Mo-Fr. (365 Proben pro Jahr)
  - LC-Screening 2 x pro Woche, 3- u. 4-Tagesmischprobe (104 Proben pro Jahr)
- **Untersuchungsergebnis i.d.R. bis 15:00 Uhr**



# Rheinintensivüberwachung - Geräteausstattung

## Rheinintensivüberwachung

2 x GC-MS (Redundanz)  
2 x DGC-MS (Redundanz)  
1 x GC-QTOF-MS  
1 x LC-QTOF-MS (auch f. Routine)

Agilent

## Routineanalytik

2 x GC-MS (Agilent)  
1 x GC-MS-MS (Agilent)  
1 x LC-MS-MS (Waters)  
1 x HPLC-DAD (Dionex)



### Software

Mass Hunter  
MassLynx  
Chromeleon

### Datenspeicherung

Regelmäßige Sicherung  
mind. 10 Jahre



# GC-MS-Screening

1000 ml Probe (OW)

Probenvorbereitung/SPE/Konzentration

## Filtration

**Konditionieren** 2 ml Hexan, 2 x 2 ml Aceton, 2 ml MeOH

Zugabe von **ISTD 1,4-DBB-D4** auf die Kartusche

**Laden** der Kartusche (Phase: C18)

Zugabe von **ISTD Coffein-13C3** auf die Kartusche

**Trocknung** mit Stickstoff (30 min)

**Elution:** 2 x 2 ml Aceton

Zugabe von **ISTD Fluazifopbutyl** in das Eluat

**Eindampfen** mit Stickstoff (4 ml → 100 µl → 200 µl)

ca. 4 h

GC-MS

**Säule:** HP-Ultra 2 (5%Phenyl-methylpolysiloxan), ID 0,2mm, Film 0,11 µm, Länge 50 m

**Trägergas:** Helium, **Inj.vol.:** 2 µl

**Laufzeit:** 40 min, **Massenbereich:** m/z 40 - 550

**Auswertung:** ChemStation (Target-Substanzen), AMDIS/NIST (Unbekannte), LIMS

ca. 1,5 h

# LC-MS-Screening

550 ml Probe (OW)

Probenvorbereitung

## Filtration

Zugabe von Ammoniumacetat-Puffer

pH-Wert-Prüfung, evt. Einstellung (6,5-7,0)

Zugabe von **isotopenmarkierten Standards** (~ 50 Stoffe)

ca. 0,5 h

SPE/Konzentrierung

**Konditionieren** mit je 6 ml MeOH und H<sub>2</sub>O

**Laden** der Kartusche (Phase: WAX/WCX/ENV+/HLB)

**Trocknung** mit Stickstoff

**Elution:** 1) 4 ml Ethylacetat/Methanol 1/1 + 2 vol% NH<sub>3</sub>,  
2) 2 ml Ethylacetat/Methanol 1/1 + 2 vol% HCOOH

**Eindampfen** mit Stickstoff (6 ml → 50 µl → 500 µl)

ca. 5,5 h

LC-QTOF-MS

**Säule:** Atlantis T3 3 µm, 150 x 2.1 mm von Waters, **Inj.vol.:** 10 µl

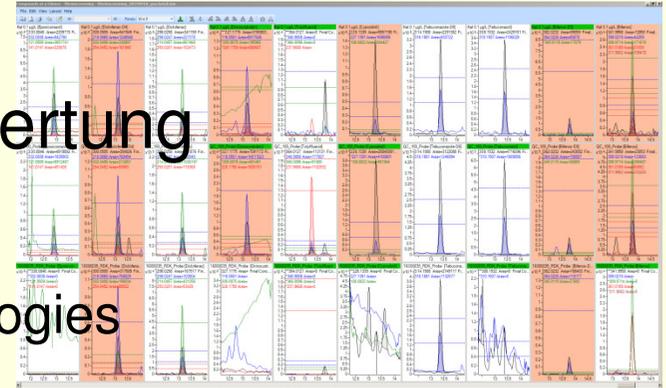
**Eluent:** **A** 0,1 % HCOOH (+ 5 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Formiatlsg.) in H<sub>2</sub>O, **B** 0,1 % HCOOH (+ 5 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Formiatlsg.) in MeOH

**Laufzeit:** jeweils 20 min (pos./neg.), **Massenbereich:** m/z 50 - 1200

ca. 1 h



# Rheinintensivüberwachung – LC-Auswertung



- **Software:** MassHunter von Fa. Agilent Technologies
- **Qualitätskontrolle:** Kalibration über Gesamtverfahren (i.d.R. alle 2 Monate), Blindwert (Evian), Kontrollstandard (Reinstwasser), Wiederfindung (Rheinwasser)
- **Quantitative Analysis:** Target-Screening von ~ 330 Stoffen (PSM, Arzneimittel, Süßstoffe, Industriechemikalien, Watch-List etc.) mit halbquantitativer Bestimmung (Standard-Mix bzw. bez. auf Atrazin-D5)
- **Qualitative Analysis:** Datenbanksuche, Spektrenvergleich
- **Dauer (pro Tag):** 2 h bis  $\infty$
- **Datenaufbereitung:** MassHunter → Excel / LIMS (Macros, Schnittstellen)
- **Mass Profiler Professional:** Non-Target-Analytik, Erstellen von Datenreihen (in Arbeit)

# Rheinintensivüberwachung – Datenbank für LC-Stoffe

- Suche über PCDL-Datenbank mit ~ **9300 Einträgen** (~ **500 eigene**)
- Davon ~ **420 Einträge mit Spektren und RT** (CE 10, 20 und 40), **389 selbst aufgenommene Spektren**

MassHunter PCDL Manager for Forensics and Toxicology - D:\MassHunter\PCDL\LUBW ForTox\_AM\_Pesticides\_PCDL.cdb

File Edit View PCDL Links Help

Find Spectra

Single Search Batch Search Batch Summary Edit Compounds Spectral Search Browse Spectra Edit Spectra

Acquired spectra

Compound Name	Ion Species	Precursor Ion	CE (V)	Polarity	Ionization	Instrument

Library spectra

Compound Name	Ion Species	Precursor Ion	CE (V)	Polarity	Ionization	Instrument
Erythromycin	(M+H)+	734.47054	40	Positive	ESI	QTOF
Erythromycin	(M+H)+	734.47054	20	Positive	ESI	QTOF
Erythromycin	(M+H)+	734.47054	10	Positive	ESI	QTOF

Graphics Mass Lists

Acquired spectrum

Library spectrum

Single Search Results: 9267 hits

Compound Name	Formula	Mass	Anion	Cation	RT (min)	CAS	ChemSpider	IUPAC Name	Spectra	Notes
Trimethoprim	C14H18N4O3	290.13789	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5.361	<a href="#">738-70-5</a>	<a href="#">5376</a>	5-(3,4,5-Trimethoxybenzyl)-2,4-pyrimidinediamine	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antibiotic
Clindamycin	C18H33ClN2O5S	424.17987	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	9.139	<a href="#">18323-44-9</a>	<a href="#">393915</a>	Methyl 7-chloro-6,7,8-trideoxy-6-[[4(R)-1-methyl-4...	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antibiotic
Erythromycin	C37H67NO13	733.46124	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10.480	<a href="#">114-07-8</a>	<a href="#">12041</a>		3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antibiotic
Clarithromycin	C38H69NO13	747.47689	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11.580	<a href="#">81103-11-9</a>	<a href="#">10342604</a>		3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antibiotic
Azithromycin	C38H72N2O12	748.50853	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	9.519	<a href="#">83905-01-5</a>	<a href="#">10482163</a>	(2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-2-ethy...	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antibiotic
Roxithromycin	C41H76N2O15	836.52457	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11.751	<a href="#">80214-83-1</a>	<a href="#">392060</a>	(3R,4S,5S,6R,7R,9R,11S,12R,13S,14R)-6-[(2S...	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antibiotic
Tylosin	C46H77NO17	915.51915	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10.501	<a href="#">1401-69-0</a>	<a href="#">4444097</a>	[(2R,4E,6E,9R,11R,12S,13S,14R)-12-[[3,6-Dideo...	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antibiotic
Levamisol	C11H12N2S	204.07212	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5.792	<a href="#">14769-73-4</a>	<a href="#">25037</a>	(6S)-6-Phenyl-2,3,5,6-tetrahydroimidazo[2,1-b][1,3...	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Antirheumatic
Sulfadiazin	C10H10N4O2S	250.05245	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4.219	<a href="#">68-35-9</a>	<a href="#">5026</a>	4-Amino-N-(2-pyrimidinyl)benzenesulfonamide	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Chemotherapeutic
Paracetamol (Acetaminophen)	C8H9NO2	151.06333	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4.219	<a href="#">103-90-2</a>	<a href="#">1906</a>	N-(4-Hydroxyphenyl)acetamide	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Analgesic
Phenazon	C11H12N2O	188.09496	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	6.882	<a href="#">60-80-0</a>	<a href="#">2121</a>	1,5-Dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydro-3H-pyrazol-3-one	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Equine drug; Analgesic
4-Aminopyrin (Ampyrone)	C11H13N3O	203.10586	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5.183	<a href="#">83-07-8</a>	<a href="#">2066</a>	4-Amino-1,5-dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydro-3H-pyr...	0	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Equine drug; Analgesic
Ibuprofen_pos	C13H18O2	206.13068	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	13.448	<a href="#">15687-27-1</a>	<a href="#">3544</a>	2-(4-Isobutylphenyl)propanoic acid	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Equine drug; Analgesic
Naproxen	C14H14O3	230.09429	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11.880	<a href="#">22204-53-1</a>	<a href="#">137720</a>	(2S)-2-(6-Methoxy-2-naphthyl)propanoic acid	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Equine drug; Analgesic...
Tofenamic acid	C14H12ClNO2	261.05566	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	14.390	<a href="#">13710-19-5</a>	<a href="#">530683</a>	2-[(3-chloro-2-methylphenyl)amino]benzoic acid	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Equine drug; Antiplogi...
Mefenaminsäure	C15H15NO2	241.11028	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	14.067	<a href="#">61-68-7</a>	<a href="#">3904</a>	2-[(2,3-Dimethylphenyl)amino]benzoic acid	6	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Equine drug; Antiplogi...
Ketoprofen	C16H14O3	254.09429	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11.550	<a href="#">22071-15-4</a>	<a href="#">3693</a>	2-(3-Benzoylphenyl)propanoic acid	3	LUBW eigener Datenbankeintrag; Veterinary drug; Equine drug; Antirheum...

# Fazit und Ausblick

- Einführung des **GC-Screening mit GC-QTOF-MS**
- **Kein Ersatzgerät** für LC-Screening ( $\neq$  GC-Screening)  $\rightarrow$  Ausfälle!?
- **Non-Target-Analytik mit Mass Profiler Professional** in Arbeit
- **Personalaufstockung**  $\rightarrow$  tägl. LC-MS-Screening, Non-Target-Analytik
- **Standardsubstanzen:** Einzelstoffe  $\leftrightarrow$  Mischungen
  - Kosten: ~ **23 000 €** für ca. 330 Stoffe (1 Jahr Haltbarkeit, ohne ISTD)
  - Verfügbarkeit: z.B. Valsartansäure (verbindlich lt. Rheinmessprogramm Chemie 2015-2020), 2,7-Naphthalindisulfonsäure, Acetylsulfamethazin, Acetylsulfamethoxazol (substance list survey 2013), Galaxolidon
- **Vollautomatisierte Probearbeitung**
- **Festlegung von Qualitätskriterien, Laborvergleichsuntersuchungen!?**