



Was kann die moderne massenspektrometrische in-situ-Analytik in der Umwelt- und Lebensmittelforschung leisten?

Sabine Schulz (sabine.schulz@anorg.chemie.uni-giessen.de),
Stefanie Gerbig (stefanie.gerbig@anorg.chemie.uni-giessen.de),
Bernhard Spengler (bernhard.spengler@anorg.chemie.uni-giessen.de)

Zusammenfassung

Biologische und umweltrelevante Proben stellen aufgrund ihrer Komplexität hohe Anforderungen an die Analytik. Meist ist eine aufwändige Probenvorbereitung notwendig um die enthaltenen Stoffe umfassend qualitativ und quantitativ zu charakterisieren. Da durch verbesserte instrumentelle Voraussetzungen eine immer größere Zahl von Verbindungen in immer kleineren Konzentrationen analysiert werden kann, reicht in einer umfassenden Qualitätssicherung die Zeit oft nur für stichprobenartige Kontrollen aus. Im Gegensatz dazu bietet die massenspektrometrische in-situ-Analytik verschiedene methodische Ansätze, um Proben ohne aufwendige Vorbereitung und sehr schnell qualitativ und teilweise auch quantitativ zu untersuchen. Anhand einiger Anwendungsbeispiele aus Umwelt- und Lebensmittelforschung soll die Leistungsfähigkeit unterschiedlicher Methoden aufgezeigt werden.

Einleitung

Die Umweltanalytik stellt sich seit jeher herausfordernden Aufgaben, da die verschiedenen Teilbereiche des Ökosystems immer in Verbindung miteinander stehen und wechselwirken. So ist es zum Beispiel nicht ausreichend, einen Schadstoff nur im Boden zu untersuchen, da er durch Regen ins Grundwasser und durch Verwehungen in die Luft gelangen kann. Weiterhin gelangen Schadstoffe durch die Aufnahme in Pflanzen auch in die Nahrungskette und von dort aus wieder zurück in den Boden. Hieraus ergibt sich eine Vielzahl an komplexen Fragestellungen, die wegen der unterschiedlichen Beschaffenheit der Proben eine ausgereifte Analytik erfordern.

In den letzten Jahrzehnten hat sich die Massenspektrometrie (MS) von einer komplizierten Spezialmethode zu einer vielseitigen Routinetechnik entwickelt. Durch die stetige Verbesserung der Massenanalytoren sind heute sehr sensitive und hochgenaue Bestimmungen von Molekülmassen und sichere Identifizierungen von Analyten möglich (Makarov 2000). Gleichzeitig kann eine Vielzahl von Stoffen parallel mit nur einer Messung erfasst werden, was eine immense Zeitersparnis mit sich bringt. Durch diese Eigenschaften hat die Massenspektrometrie einen wichtigen Platz in vielen Anwendungsbereichen wie zum Beispiel der Lebensmittel- und Umweltanalytik eingenommen. Wird diese Technik mit chromatographischen Methoden gekoppelt, kann eine große Zahl von verschiedenen Inhaltsstoffen einer Probe hoch-

empfindlich quantifiziert werden. Hierfür müssen die meisten Proben mehr oder weniger aufwändig vorbereitet werden, was einen Eingriff in deren ursprüngliche Beschaffenheit darstellt und Informationen zur räumlichen Verteilung der unterschiedlichen Moleküle unzugänglich macht.

Durch die Entwicklung von ambienten Ionisierungstechniken, die bei Umgebungsbedingungen und unter Atmosphärendruck angewendet werden können, sind Untersuchungen an der unbehandelten Oberfläche von Proben möglich geworden. Hierbei werden unterschiedliche Prinzipien zur Erzeugung der Ionen genutzt. Ein Beispiel sind Plasmen, die bei Raumtemperatur erzeugt werden (Low Temperature Plasma, LTP, Harper 2008) und deshalb auch zur Untersuchung z.B. der Hautoberfläche angewendet werden können. Andere Verfahren machen sich die Ionisierung mittels Laserstrahlung zunutze, wie zum Beispiel die Laser-Desorptions-Ionisation (LDI, Fenner 1966) oder ermöglichen die direkte Analyse der Probenoberfläche durch geschickte Ausrichtung eines Elektrosprays (Desorption Electrospray Ionization, DESI, Takats 2004). Mittlerweile gibt es über 50 verschiedene Methoden, die genutzt werden können, um einen Analyten zu ionisieren und in die Gasphase zu überführen.

Die beschriebenen Methoden bieten in ihrer Gesamtheit ein breites Anwendungsspektrum für die Analyse von polaren, flüchtigen bis hin zu unpolaren, wenig flüchtigen Analyten. Durch die direkte in-situ-Analyse fallen aufwändige Schritte zur Probenvorbereitung weitestgehend weg und es können sowohl gasförmige als auch flüssige und feste Proben untersucht werden. Zusätzlich kann bei festen Proben auch eine Analyse der räumlichen Verteilung der Komponenten durchgeführt werden. Dies sorgt zum einen für anschauliche Ergebnisse in diesem eher komplexen Themenfeld, zum anderen liefert es aber auch ergänzende Informationen zur reinen Massenbestimmung. Um einen generellen Überblick über die zahlreichen Möglichkeiten dieser in-situ-Techniken zu vermitteln, werden im Folgenden drei Methoden anhand ausgewählter Beispiele aus der Lebensmittel- und Umweltforschung vorgestellt.

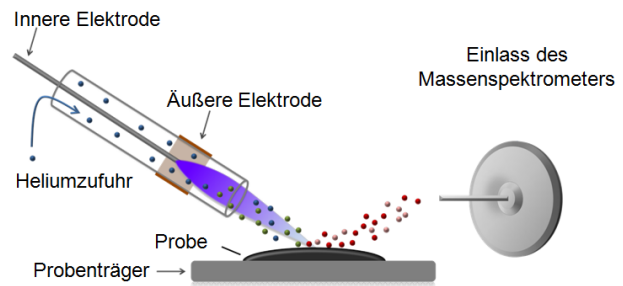
Methodik

Zur Gruppe der plasmabasierten Methoden gehört die Niedrigtemperaturplasma-Ionisation (LTP). Sie ist besonders für die Analytik von flüchtigen bis semiflüchtigen Verbindungen mit niedriger Polarität geeignet. Hierbei wird durch ein elektrisches Feld eine Gasentladung verursacht, welche ein Edelgas (meist Helium oder Argon) in einen plasmaartigen Zustand versetzt. Dieses Plasma wird dann auf die flüssige oder feste Probe gerichtet (Abbildung 1a). Die Ionisation der Analyten erfolgt über Protonen- oder Ladungstransfer, Ionen- oder Elektroneneinfang oder Penning-Ionisierung. Nicht selten handelt es sich bei den Ionisationsprodukten um Radikale. Ein großer Vorteil dieser Methode ist, dass das Plasma bei Raumtemperatur arbeitet und es auch auf empfindlichen Oberflächen, zum Beispiel der Haut, angewendet werden kann.

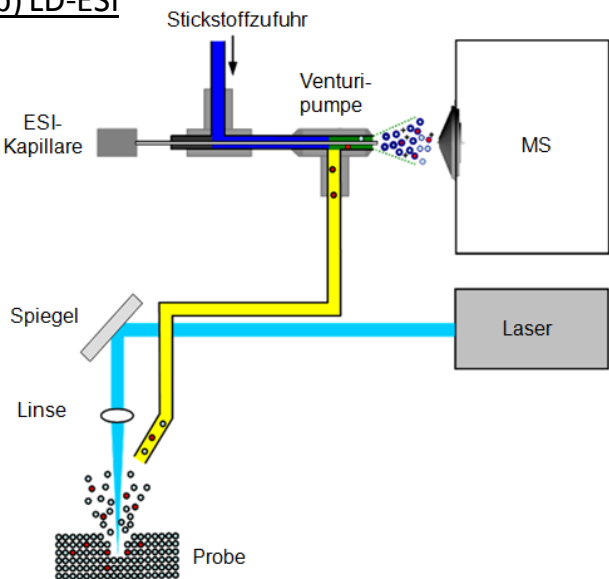
Zu den laserbasierten Methoden gehört die Laser-Desorptions-Elektrospray-Ionisation (LD-ESI, Berisha 2014). Sie erfasst insbesondere polare und semi-polare Analyten. Hierbei sind feste und flüssige Proben zugänglich. Bei der LD-ESI wird die Probe zunächst mit einem gepulsten Laser bestrahlt. Das desorbierte und teilweise ionisierte Material wird anschließend über eine Venturipumpe zum Massenspektrometer transportiert, wo mithilfe eines Elektrosprays ein weiterer Ionisierungsschritt stattfindet, der die Ionenausbeute deutlich erhöht (Abbildung 1b). Die Ionisation der Analyten erfolgt vornehmlich über Protonentransfer oder Ioneneinfang. Der experimentelle Aufbau ermöglicht vor allem eine flexible Beprobung auch großer unebener Proben.

Zur Gruppe der spraybasierten Techniken zählt die Desorptions-Elektrospray-Ionisation (DESI). Analog zur klassischen Elektrospray-Ionisation wird ein Lösungsmittel durch einen Gasstrom vernebelt und durch das Anlegen einer Hochspannung ein Strahl von geladenen Primärtröpfchen erzeugt. Diese Tröpfchen werden jedoch nicht direkt in den Einlass des Massenspektrometers gelenkt, sondern auf die Probenoberfläche gerichtet, um Interaktion zwischen den geladenen Spraytröpfchen und den Analyten auf der Probe zu ermöglichen (Abbildung 1c). Die Ionisation der Analyten erfolgt über Protonentransfer oder Ioneneinfang. Es werden bevorzugt polare Moleküle mit kleinem bis mittlerem Molekulargewicht aus festen sowie flüssigen Proben desorbiert und ionisiert. Über die Wahl des Lösungsmittels kann man die Extraktion bestimmter Analyten optimieren.

a) LTP



b) LD-ESI



c) DESI

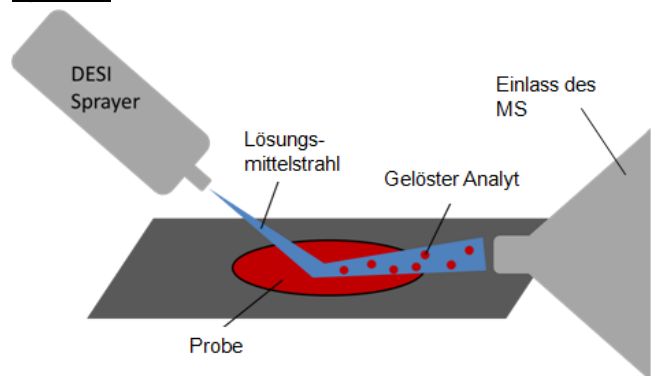


Abb. 1: Schematische Zeichnungen der Ionisierungstechniken LTP (Benassi 2013), LD-ESI (Berisha 2014) und DESI

Ergebnisse

Um die generelle Tauglichkeit der in-situ-Massenspektrometrie für die Umwelt- und Lebensmittelanalytik darzustellen, werden im Folgenden einige Beispiele wie die Analyse von Ölverunreinigungen im Boden, die Untersuchung von Mykotoxinen in Getreide und die räumlich aufgelöste Detektion von Pflanzenschutzmitteln in Blättern vorgestellt.

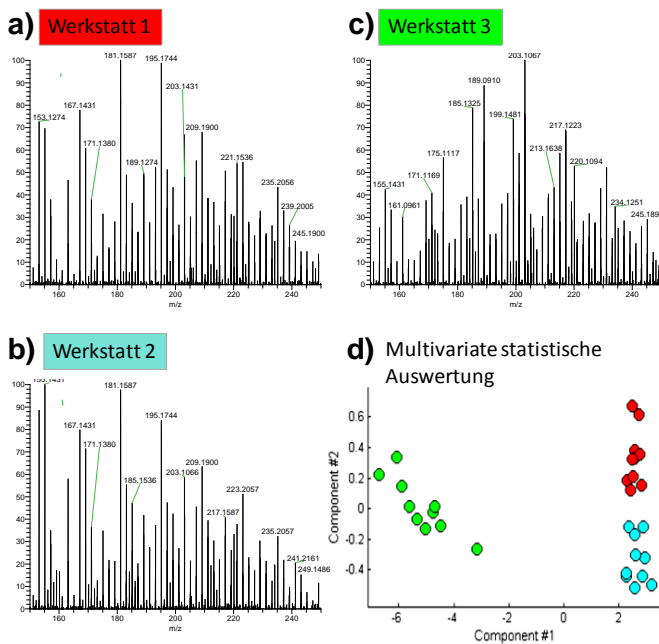


Abb. 2: LTP-Massenspektren von Bodenproben dreier Autowerkstätten in Ghana (a-c), (d) multivariate statistische Auswertung der Ähnlichkeit der Spektrenmuster

Erdöl und Erdölprodukte führen immer wieder zu Verschmutzungen von Gewässern und Böden, und nicht immer sind die Ursprünge der Verschmutzungen offensichtlich. Erdöle und deren Produkte sind Stoffgemische, die bis zu 50.000 verschiedene Kohlenwasserstoffverbindungen beinhalten können, was deren vollständige Analyse sehr schwierig macht. Oftmals werden deshalb lediglich Stoffklassen oder das Spektrenmuster für eine Charakterisierung herangezogen. So lässt sich der Ursprungsort verschiedener Ölproben mit Hilfe der durch die Niedrigtemperaturplasmalysation erhaltenen spezifischen Muster in den Massenspektren mit guter Signifikanz feststellen (Benassi 2013). Die experimentelle Probenvorbereitung beschränkt sich dabei auf das Auftragen der Ölprobe auf einen Objektträger, welcher dann mit dem Plasma in Kontakt gebracht wird. Die hochauflösende hochakurate massenspektrometrische Messung benötigt nur wenige Sekunden. Die Daten erlauben sowohl die Auswertung von charakteristischen Mustern als auch die Bestimmung der chemischen Zusammensetzung einzelne Signale im Massenspektrum anhand der genauen Masse. In ähnlicher Weise lassen sich auch mit Erdöl- und Erdölprodukten verschmutzte Bodenproben charakterisieren. Abbildung 2 zeigt die Spektrenmuster von drei Bodenproben, die in Ghana in Autowerkstätten genommen wurden und deren multivariate statistische Auswertung nach Musterähnlichkeit. Anhand der Muster lassen sich Proben eindeutig unterscheiden und ihrem Ursprungsort zuordnen.

Mykotoxine entstehen in Lebens- und Futtermitteln durch Schimmelfall und können schon in geringen Mengen gesundheitsschädliche Auswirkungen haben. Routinemäßig werden Mykotoxine über chromatographische Methoden wie GC-MS und HPLC-MS bestimmt. Die Untersuchung von

Weizenkörnern im Hinblick auf Deoxynivalenol mittels LD-ESI MS ist ein Beispiel für die Detektion von Mykotoxinen in Nahrungsmitteln (Abbildung 3). Hierbei wurden ein mit *Fusarium graminearum* infiziertes Weizenkorn sowie eine Kontrollprobe gemessen (Berisha 2014). Das Signal des Mykotoxins Deoxynivalenol konnte direkt nach dem Einschalten des Lasers in den Massenspektren des infizierten Korns beobachtet werden, während die Kontrollmessung unauffällig war. Dieses Beispiel zeigt die schnelle und unkomplizierte Anwendung der in-situ-Massenspektrometrie in der Lebensmittelanalytik. Basierend auf hochakuratere Massenbestimmung kann die Zuordnung der Verbindungen schnell und mit hoher Sicherheit erfolgen.

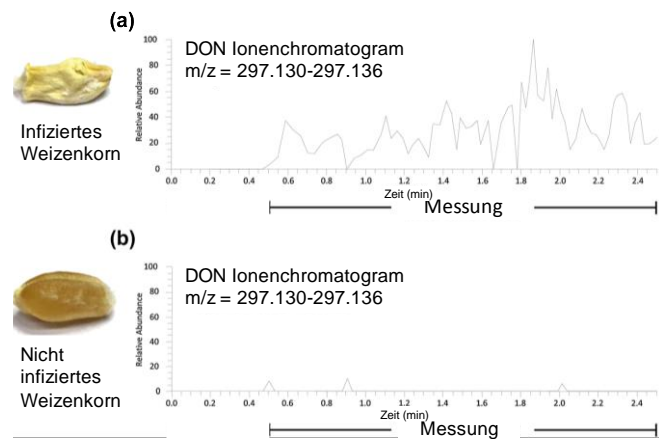


Abb. 3: a) Nachweis von Deoxynivalenol (DON) auf einem pilzbefallenen Weizenkorn mittels LD-ESI MS, b) auf dem Kontrollweizenkorn konnte DON nicht nachgewiesen werden (Berisha 2014).

Zusätzlich zur rein qualitativen Messung auf Probenoberflächen ist die Möglichkeit zur räumlich aufgelösten Analyse bei einigen in-situ-Methoden gegeben. Dies ist sowohl mit laserbasierten Techniken als auch mit spraybasierten Methoden mit einer räumlichen Auflösung $\leq 100 \mu\text{m}$ möglich, wie bereits an vielen Beispielen gezeigt wurde. Speziell der Nachweis von Pflanzenschutzmitteln ist für die Umwelt- und Lebensmittelforschung von hohem Interesse und wird seit langem intensiv betrieben.

Die Desorptions-Elektrospray-Ionisation kann hier durch den Nachweis von Pestiziden einen Beitrag zum besseren Verständnis der Aufnahme dieser Stoffe in die Pflanze leisten. Abbildung 4 zeigt das optische Bild eines Blattquerschnitts, der im Bereich des roten Rahmens mit DESI MS untersucht wurde, nachdem der Pflanze ein Pestizid über die Wurzeln verabreicht worden war. Die Verteilung des Pestizids ist im Abbildung 4c zu erkennen, es scheint innerhalb des Blattes eine ortsunabhängige Verteilung zu existieren. Außer dem gezeigten Pestizid wurden noch verschiedene andere Stoffe detektiert, wie zum Beispiel Aminosäuren (Abbildung 4b) und Zuckerbausteine.

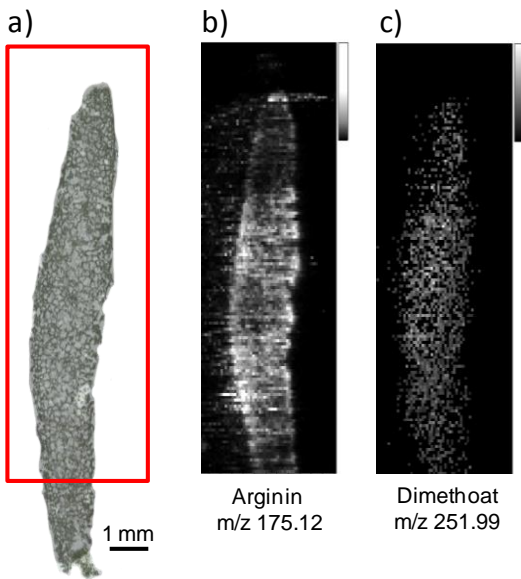


Abb. 4: a) Optisches Bild des Blattquerschnitts und DESI MS Verteilungsbilder einer Aminosäure b) und des Pestizids c).

Fazit

Die Entwicklung vieler verschiedener MS-basierter in-situ-Methoden bietet Zugang zu einer großen Anzahl sehr unterschiedlicher Analyten, gleichzeitig ist keine aufwendige Probenvorbereitung erforderlich. Dies vereinfacht und beschleunigt die Untersuchung und macht den potentiellen Einsatz der in-situ-Methoden für das Probenscreening deutlich. Allerdings sind die vorgestellten Methoden kein genereller Ersatz für die bisherige Analytik, da durch die fehlende Vorbehandlung der Probe insbesondere die Nachweisempfindlichkeit etablierter Verfahren nicht erreicht werden kann. Dennoch bietet die in-situ-Massenspektrometrie viele Vorteile und ist ein vielseitiges Werkzeug für die Untersuchung komplexer biologischer und umweltrelevanter Proben.

Danksagung

Die Autoren danken dem Landesbetrieb Hessisches Landeslabor für die Bereitstellung der Lebensmittelproben und Bedarfsgegenstände, sowie dem Hessischen Ministerium für Wissenschaft und Kunst (LOEWE Focus Ambiprobe) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SP314/13-1) für die Finanzierung.

Literatur

- Benassi, M., A. Berisha, W. Romao, E. Babayev, A. Roempp, and B. Spengler. 2013. "Petroleum crude oil analysis using low-temperature plasma mass spectrometry." *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 27(7):825-834.
- Berisha, A., S. Dold, S. Guenther, N. Desbenoit, Z. Takats, B. Spengler, and A. Roempp. 2014. "A comprehensive high-resolution mass spectrometry approach for characterization of metabolites by combination of ambient ionization, chromatography and imaging methods." *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 28(16):1779-1791.
- Fenner, N.C. and N.R. Daly. 1966. "Laser used for mass analysis." *Review of Scientific Instruments* 37(8):1068-1070.
- Harper, J.D., N.A. Charipar, C.C. Mulligan, X.R. Zhang, R.G. Cooks, and Z. Ouyang. 2008. "Low-temperature plasma probe for ambient desorption ionization." *Analytical Chemistry* 80(23):9097-9104.
- Makarov, A. 2000. "Electrostatic axially harmonic orbital trapping: A high-performance technique of mass analysis." *Analytical Chemistry* 72(6):1156-1162.
- Takats, Z., J.M. Wiseman, B. Gologan, and R.G. Cooks. 2004. "Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization." *Science* 306(5695):471-473.

Korrespondenzadresse

Dr. Sabine Schulz
 Institut für anorganische und analytische Chemie
 Justus-Liebig-Universität Gießen
 Schuberstrasse 60, Haus 16
 35392 Gießen
 E-Mail: sabine.schulz@anorg.chemie.uni-giessen.de