



Amidosulfonsäure - Quantifizierung eines kleinen, hochpolaren Moleküls mit Reversed-Phase-LC-MS-MS

J. Funke (j.funke@iww-online.de)¹, V. Valkov (v.valkov@iww-online.de)¹, P. Balsaa (p.balsaa@iww-online.de)¹, T. C. Schmidt (torsten.schmidt@uni-due.de)^{1,2}

¹ IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH Mülheim a. d. Ruhr

² Universität Duisburg-Essen, Instrumentelle Analytische Chemie und Zentrum für Wasser- und Umweltforschung, Essen

Abstract

Die Quantifizierung von hochpolaren, kleinen Molekülen in Wässern stellt Auftragslabore immer wieder vor große Herausforderungen. Dazu zählt auch das Amid der Schwefelsäure, die Amidosulfonsäure (ASA). Diese wurde bisher hauptsächlich mit IC- und HILIC-MS-Verfahren bestimmt. Mit dieser Arbeit konnte erstmals eine Reversed-Phase-LC-MS-MS-Methode entwickelt werden, welche den analytischen Anforderungen (empfindlich, robust, präzise) gerecht wurde. Die verwendete LC-Säule ist eine Waters XSelect CSH Fluoro-Phenyl, welche Ionentauscher-artige Wechselwirkungen mit den Analyten hat. Der Arbeitsbereich reicht von 0,1 - 50 µg/L bei einem RSD von 2,6%. In Realproben wurden Konzentrationen bis in den dreistelligen µg/L-Bereich gemessen.

1. Einleitung

Seit der Identifizierung von Amidosulfonsäure (ASA) oder Sulfaminsäure als biologisches Transformationsprodukt des Acesulfams in Kläranlagen (2017) ist sie in den Fokus der Gewässeranalytik gelangt [1]. In Kläranlagenabläufen wurden Konzentrationen von mehr als 2 mg/L gemessen, dementsprechend wurden auch hohe Konzentrationen in verschiedenen Wassermatrizes bestimmt [2].

ASA ist eine starke Säure ($pK_s = 1$), welche als Baustein in der chemischen Synthese (Cyclamat, Acesulfam, etc), als Flamm- schutzmittel, hauptsächlich aber als Entkalkungs- und Desinfektionsmittel sowohl im privaten als auch im industriellen Bereich eingesetzt wird. Insbesondere im Veterinärbereich dient ASA als Biozid zur Desinfektion der Ställe [3]. In der EU werden bis zu 100000 t/a produziert und/oder importiert [4]. Aufgrund der Polarität ist ASA ein Analyt, der bisher mit ionenchromatographischen oder HILIC (Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography) Methoden analysiert wurde. In Kombination mit einem massenspektrometrischen Detektor sind kleine Moleküle ($M < 100$ g/mol) schwierig nachzuweisen, da für den empfindlichen MRM-Modus kleinere Fragmentionen nötig sind.

Da die bisherigen Methoden aufgrund des benötigten Geräte- equipments und der chromatographischen Instabilität nur sehr versierten Analytikern vorbehalten waren, sollte als Alternative eine schnelle und empfindliche Reversed-Phase-LC-MS-MS-Methode zur Bestimmung von ASA entwickelt werden. Die analytische Methode sollte robust, auf der direkten Probeninjektion basierend und über einen großen Arbeitsbereich linear

sein. Dazu wurden die Probenvorbereitung, LC-MS-Parameter und Quantifizierung aus verschiedenen Matrizes optimiert.

2. Methodik

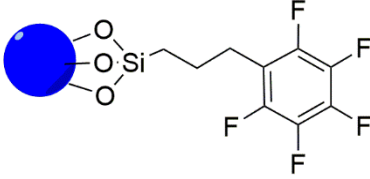
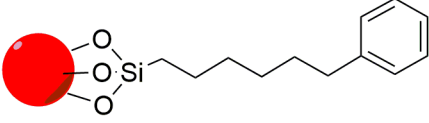
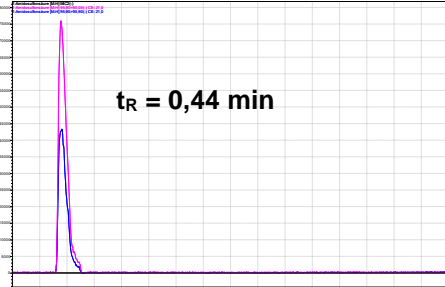
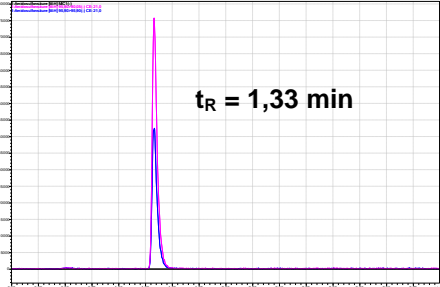
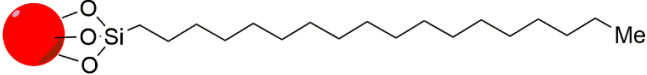
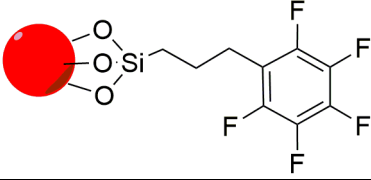
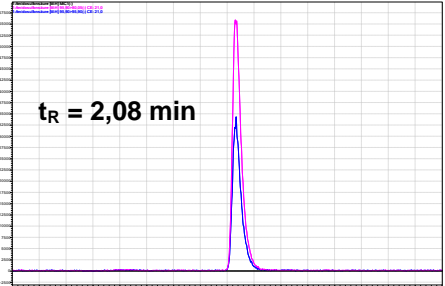
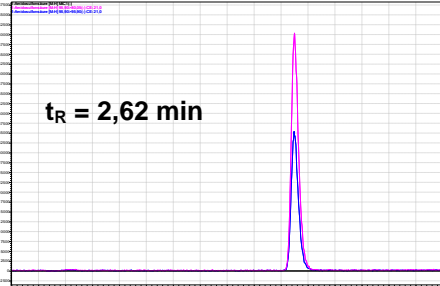
Für die chromatographische Trennung wurden verschiedene Reversed-Phase-Säulen (Tabelle 1) untersucht. Das HSS-Material (High-Silica-Strength) (Säule A) zeichnet sich durch freie Silanol-Gruppen aus, während beim CSH-Material (Charged Surface Hybrid) (Säulen B, C, D) durch Aufbringen einer kontrollierten Oberflächenladung die Trenneigenschaft für polare Analyten verbessert werden soll. Mit diesen Tests sollte der Einfluss des Silica-Backbone bzw. des Liganden auf die Trennung überprüft werden.

Als Eluenten wurden Reinstwasser + 0,1% Ameisensäure (A) und Methanol + 0,1% Ameisensäure (B), bei einer Säulens- temperatur von 40 °C und einer Flussrate von 0,6 mL/min (bei C: 0,3 mL/min) eingesetzt. Das Injektionsvolumen betrug 50 µL und wurde direkt in ein LCMS-8060-System von Shimadzu injiziert. Die Messung der ASA erfolgte mit negativer Electro- spray-Ionisierung im MRM-Modus. Als MRM- bzw. Pseudo- Übergang wurden 96 → 80 (Quantifier) und 96 → 96 (Qualifier) verwendet. Die Quantifizierung wurde extern mit einer Auf- stockung der Probe zur Bestimmung der Wiederfindungsrate durchgeführt. Alle Proben werden nativ und verdünnt ge- messen.

3. Ergebnisse

Tabelle 1 zeigt, dass ASA mit unterschiedlichen RP-Phasen unter gleichen Bedingungen unterschiedlich retardiert wurde. Die Retention hing dabei nicht nur vom Liganden des Phasen- materials ab, sondern essentiell vom Silica-Grundgerüst und dessen Eigenschaften. So wurde mit dem HSS-PFP-Material (A) keine Retention erreicht, während mit dem CSH-Fluoro- Phenyl-Material (D) eine gute Retention erzielt wurde. Obwohl die Liganden in beiden Fällen identisch waren, betrug die Retentionszeitdifferenz mehr als 2 min. Hinsichtlich der Reten- tionszeit war der Einfluss der Ladungen auf dem CSH-Material somit größer als die Wechselwirkung mit dem Liganden. Die Retention war im Vergleich der unterschiedlichen Liganden mit gleichem Silica-Backbone (CSH) beim Fluoro-Phenyl-Material am stärksten.

Tabelle 1 Getestete Säulenmaterialien [5] und die entsprechenden Chromatogramme.

<p>A) Waters XSelect HSS PFP (2,1 x 100 mm; 2,5 µm)</p> 	<p>B) Waters XSelect CSH Phenyl-Hexyl (2,1 x 100 mm; 2,5 µm)</p> 
 <p>$t_R = 0,44 \text{ min}$</p>	 <p>$t_R = 1,33 \text{ min}$</p>
<p>C) Waters XSelect CSH C18 (2,1 x 100 mm; 1,7 µm)</p> 	<p>D) Waters XSelect CSH Fluoro-Phenyl (2,1 x 100 mm; 2,5 µm)</p> 
 <p>$t_R = 2,08 \text{ min}$</p>	 <p>$t_R = 2,62 \text{ min}$</p>

Es zeigte sich, dass bei der Verwendung des LCMS-8060-Systems die Empfindlichkeit der Direktinjektion von 50 µL ausreicht, um eine Bestimmungsgrenze von 100 ng/L zu erreichen. Dementsprechend war ein Anreicherungsschritt nicht nötig. Die RP-Methode ist im Arbeitsbereich von 0,1 bis 50 µg/L linear ($r^2 = 0,99$) (Abb. 1). Die Wiederfindungsraten lagen bei 100% ± 20%.

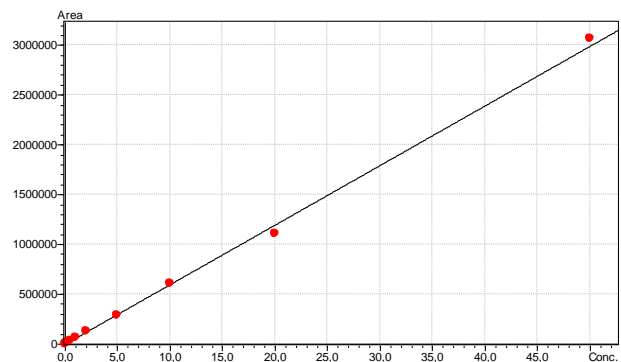


Abb. 1: Kalibrierreihe von ASA in Reinstwasser im Arbeitsbereich von 0,1 - 50 µg/L.

Die Robustheit der Methode wurde mit Hilfe unterschiedlicher Wassermatrices untersucht. Insbesondere landwirtschaftlich-beeinflusste Grundwässer zeigten Befunde von bis zu 180 µg/L

(Abb. 2). Diese hohen Konzentrationen ließen sich darüber erklären, dass ASA als Stalldesinfektionsmittel eingesetzt wird und über die Gülle und ihrer anschließenden Ausbringung ins Grundwasser gelangt.

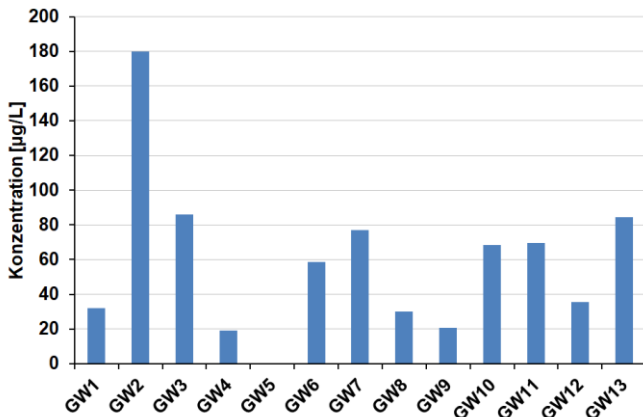


Abb. 2: Ermittelte ASA-Konzentrationen in ausgewählten landwirtschaftlich-beeinflussten Grundwässern.

Die internationale Relevanz dieses Stoffes konnte am Beispiel einer Trinkwasseraufbereitung in China dargestellt werden (Abb. 3). Trotz unterschiedlicher Aufbereitungsstufen betrug die mittlere Konzentration ca. 30 µg/L. Eine Eliminierung wurde nicht identifiziert. Es bleibt festzuhalten, dass eine Entfernung der Amidosulfonsäure mit aktuell verfügbaren Trinkwasseraufbereitungsmethoden nicht möglich ist.

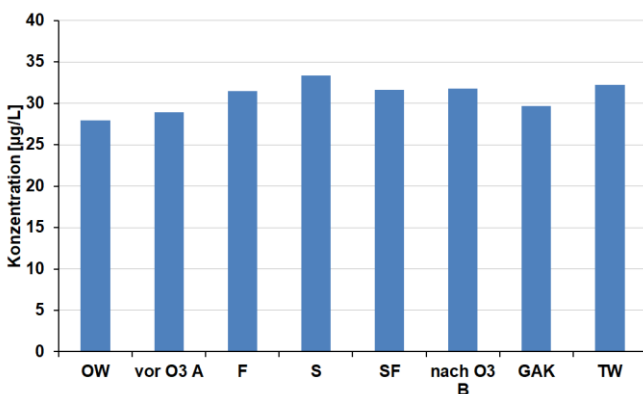


Abb. 3: Ermittelte ASA-Konzentration aus einem Wasserwerk in China. OW: (Roh) Oberflächenwasser; vor O₃ A: vor 1. Ozonung; F: Flockung; S: Sedimentierung; SF: Sandfilter; nach O₃ B: nach 2. Ozonung; GAK: nach granuliertem Aktivkohlefilter; TW: Trinkwasser.

4. Fazit

Mit dieser LC-MS-MS-Methode ist es gelungen ein kleines, polares Molekül mit hoher Wasserlöslichkeit mit Hilfe von Reversed-Phase-Materialien zu retardieren. Nicht nur die Liganden des RP-Materials, sondern auch der Silica-Backbone erwies sich als relevant für die Trennung. In der Validierung konnte die Präzision und Reproduzierbarkeit, sowie die Robustheit belegt werden, so dass sie in der Routinebearbeitung von Wasserproben erfolgreich zum Einsatz kommt. Die im Rahmen von Monitoringprogrammen gemessenen Befunde sind vergleichbar mit bisher publizierten Ergebnissen in ähnlichen Wassermatrizes. Die Ergebnisse aus China zeigen, dass ASA durchaus als internationaler Problemstoff betrachtet werden muss.

senen Befunde sind vergleichbar mit bisher publizierten Ergebnissen in ähnlichen Wassermatrizes. Die Ergebnisse aus China zeigen, dass ASA durchaus als internationaler Problemstoff betrachtet werden muss.

Referenzen

- [1] Castronovo, S., Wick, A., Scheurer, M., Nödler, K., Schulz, M., Ternes, T. A., Biodegradation of the artificial sweetener acesulfame in biological wastewater treatment and sandfilters. *Water Res.*, 2017, 110, 342 - 353.
- [2] Arbeitsgemeinschaft Wasserwerke Bodensee-Rhein, 49. Bericht., 2017, S. 40.
- [3] Abschlussbericht zum UBA-Projekt FKZ 36004036, Vorbereitung eines Monitoring-Konzepts für Biozide in der Umwelt, 2012, S. 32.
- [4] Sulphadimic Acid, ECHA-Infocard 226-218-8, <https://echa.europa.eu/de/substance-information/-/substanceinfo/100.023.835>, abgerufen am 14.11.2018.
- [5] Waters Columns, Analytical Standards & Reagents Selection Guide Wall Chart, Stand: 23.02.2018.

Korrespondenz-Adresse:

Jan Funke
 IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser
 Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH
 Moritzstr. 26
 D-45476 Mülheim an der Ruhr
 Internet: <http://www.iww-online.de/>
 E-Mail: j.funke@iww-online.de
 Phone: +49 (0)208 40303 -385; Fax: -80