

Verifizierung der Analytik von Microcystinen mittels HPLC-DAD

C. Spangardt¹, J. Schüler¹

Hintergrund

Microcystine (MC) sind eine Klasse **cyclischer Heptapeptide** mit über 200 bekannten Verbindungen. Charakteristisch ist die nicht-proteinogene Aminosäure **Adda**. Sie werden von **Cyanobakterien**, auch als Blau- und Grünalgen bezeichnet, produziert. MC stellen eine Bedrohung für die Gesundheit dar. Sie **hemmen** **Proteinphosphatasen (PP1 & PP2A)**, **schädigen** damit die **Leber** und sind **reproduktionstoxisch**. MC-LR wird durch die novellierte EU-Trinkwasserrichtlinie 2020/2184 reguliert.



Abb. 1: Gewässer mit Algenblüte.

Struktur & toxische Effekte

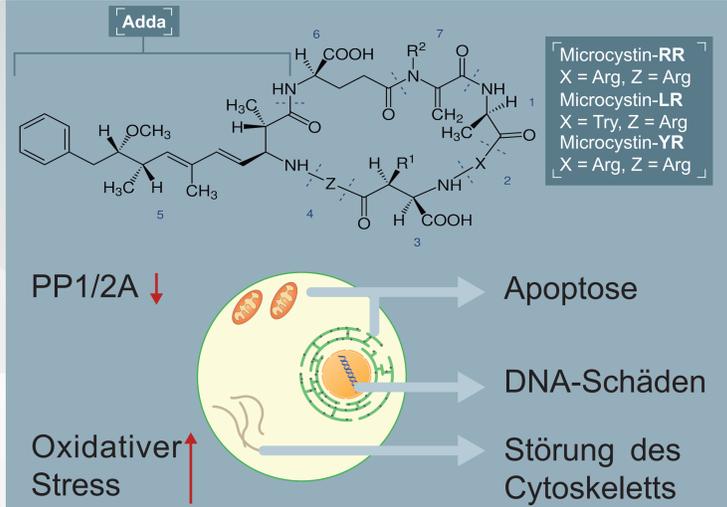


Abb. 2: Struktur der untersuchten MC und zelluläre toxische Effekte.

Automatisierung der Extraktion und 85% schnellere Chromatographie von Microcystinen mit HPLC-DAD



Aufarbeitung

Entstören mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Festphasenextraktion (SPE) auf automatisiertem System mit Styren-Divinylbenzol Kartusche (Bond Elut)



Verdampfen bei 40° C unter Stickstoffstrom

Auflösen, behandeln im Ultraschallbad

HPLC-Analytik

Abb. 3: Optimierte Aufarbeitung auf Grundlage der DIN 20179.

Methodenoptimierung

Zweistufige Optimierung für die **Analytik** und die **Anreicherung**, um hinsichtlich des zeitlichen Aufwands und der Resultate bestmögliche Ergebnisse zu erzielen.

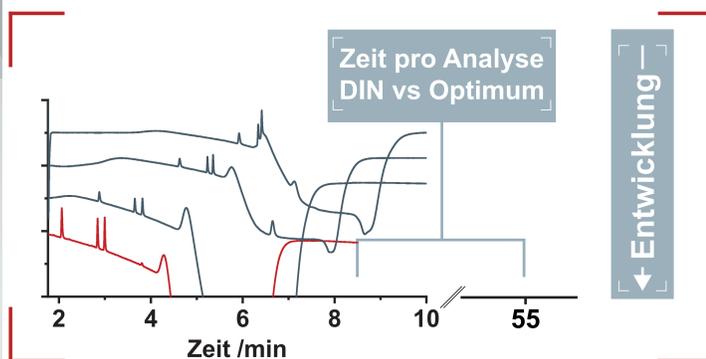
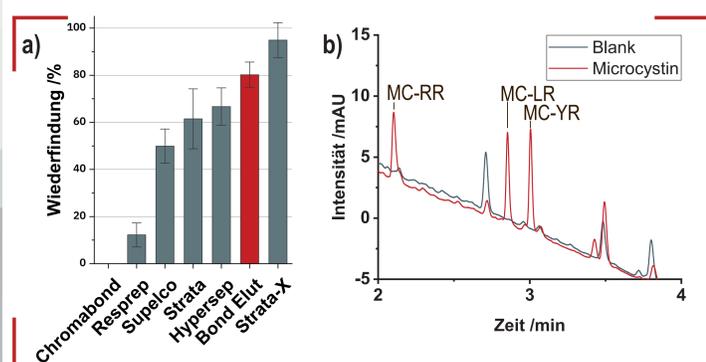
Abb. 4: Vergleich der Chromatogramme (MC = 0,4 $\mu\text{g ml}^{-1}$) im Verlauf der Methodenentwicklung, bis hin zur finalen Methode (rot) mit Verkürzung der Laufzeit um 85%.

Abb. 5: a) Vergleich der Wiederfindung der sieben getesteten SPE-Kartuschen nach Optimierung und b) Chromatogramm mit Störung bei MC-RR und MC-YR, die zum Abschluss der Strata-X führte.

Verifizierung

Sechsfache Aufarbeitung von am Grenzwert der RL-EU 2020/2184 dotiertem Trinkwasser (1,0 $\mu\text{g/l}$). Abdecken des **Arbeitsbereichs von 0,2 - 3,0 $\mu\text{g/l}$** durch äquidistante externe Kalibrierung.

Ermittlung von Nachweis- und Bestimmungsgrenze (**LOD/LOQ**) über eine gesonderte Kalibriergerade.

Auswertung

Die **Anforderungen** hinsichtlich Linearität und Präzision, sowie LOD und LOQ wurden **erfüllt**. Die Methode ist zur Übernahme in die Routine im **In- und Ausland bereit**.

Tab. 1: Ergebniszusammenfassung der Verifizierung der HPLC-Analytik für MCs.

	MC-LR	MC-RR	MC-YR
	$R^2 = 0,998$	$R^2 = 0,999$	$R^2 = 0,999$
	1,29% rSD	8,25% rSD	4,03% rSD
	LOD = 0,05 $\mu\text{g/l}$ LOQ = 0,17 $\mu\text{g/l}$	0,02 $\mu\text{g/l}$ 0,06 $\mu\text{g/l}$	0,04 $\mu\text{g/l}$ 0,15 $\mu\text{g/l}$

Daten & Quellen

