

Bepaling van pesticiden in water met LC-MS

INHOUD

1	Toepassingsgebied	3
2	Principe	4
3	Apparatuur en materiaal	4
4	Reagentia en standaarden	5
5	Monsterbewaring	6
6	Extractie	7
7	LC-MS analyse	7
7.1	<i>Meting</i>	7
7.2	<i>Identificatie en integratie</i>	7
7.3	<i>Kalibratie</i>	8
7.4	<i>Gehalte van de pesticiden in het watermonster</i>	9
8	Kwaliteitscontrole	11
8.1	<i>Responslineariteit</i>	11
8.2	<i>Chromatografische scheiding</i>	11
8.3	<i>Instrumentele detectielimieten</i>	11
8.4	<i>Terugvinding van de surrogaatverbindingen/interne standaarden</i>	12
8.5	<i>Matrixadditie</i>	12
9	Veiligheid	12
10	Referenties	12
BIJLAGE 1	Voorbeelden van kalibratiereeksen (in µg/l)	14
BIJLAGE 2	Typische LC-MS werkvoorwaarden voor de bepaling van polaire pesticiden	16
BIJLAGE 3	Typische instrumentele detectielimieten in µg/l	24

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure **vervangt procedure WAC/IV/A/027 van november 2018** en beschrijft een methode voor de extractie, zuivering en analyse van polaire pesticiden in water. De methode is toepasbaar op grondwater, oppervlaktewater en drinkwater vanaf een concentratie van 20 ng/l en op afvalwater vanaf 50 ng/l. Onderstaande tabel toont de verbindingen waarop de methode van toepassing is. Voor de componenten gemerkt met een * is de bepaling minder reproduceerbaar, de bekomen gehalten dienen als indicatief beschouwd te worden.

Triazines

- atrazine
- cyanazine
- desethylatrazine
- hexazinon
- prometryn
- propazine
- sebuthylazine
- simazine
- terbutryn
- terbuthylazine

Uronen, anilides, carbamaten

- chlorotoluron
- diuron
- isoproturon
- linuron
- metobromuron
- monolinuron
- metoxuron
- methabenzthiazuron
- alachlor
- metazachlor
- metolachlor
- propachlor
- carbendazim
- carbetamide*

Zure herbiciden

- (2,4,5-trichloorfenoxy)azijnzuur (2,4,5-T)
- (2,4-dichloorfenoxy)azijnzuur (2,4-D)
- (2,4-dichloorfenoxy)boterzuur (2,4-DB)
- bentazon
- dichlorprop
- fenoprop
- dicamba*
- fluroxypyr
- MCPA
- MCPB
- mecoprop (MCP)

Andere

desisopropylatrazine
desethylterbutylazine
BAM (2,6-dichlorobenzamide)
pentachloorfenol
bromacil
propanil
ethofumesate
metamitron*
chloridazon
chlorpropham

Opmerkingen:

- De methode kan uitgebreid worden met andere pesticiden, bijvoorbeeld organofosforpesticiden.
- Sommige van bovenstaande pesticiden (bv. chlorpropham) zijn ook bepaalbaar met GC en kunnen desgewenst met GC bepaald worden i.p.v. LC (voor de toestelinstellingen wordt verwezen naar WAC/A/IV/028).

2 PRINCIPE

Aan waterstalen worden gekende hoeveelheden isotoop gemerkte pesticiden toegevoegd, als interne standaarden of als surrogaten. De waterstalen worden vervolgens geëxtraheerd met vaste fase extractie (SPE). De vaste fase wordt geëluëerd met bv. methanol en het methanolextract wordt ingedampt. Het residu wordt opgenomen in een gekend volume mobiele fase en geanalyseerd met vloeistofchromatografie met tandem massaspectrometrische detectie (LC-MS/MS). Het gehalte van de verschillende pesticiden wordt berekend met de interne standaard, externe standaard of standaardadditie methode. T.a.v. de isotoop gemerkte pesticideverbindingen geldt een terugvindingseis

Opmerkingen:

- In de methode is een offline SPE methode beschreven. De vaste fase extractie kan evenwel ook aan de hand van een online SPE module gebeuren.
- De meting gebeurt in positieve resp. negatieve ionisatiemodus (ES+ resp. ES-) afhankelijk van de aard van de pesticideverbinding.
- Voor drinkwater, grondwater en in vele gevallen ook oppervlaktewater kan de bepaling gebeuren zonder voorafgaandelijke concentrering, al dan niet door groot-volume injectie afhankelijk van de gevoeligheid van het apparaat

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- Gebruikelijk laboratoriumglaswerk
- Injectiespuiten van 25 µl voor het doperen van isotoop gemerkte pesticideverbindingen
- Maatcilinder (100 ml)
- Pipetpomp en glazen wegwerppipetten voor het overbrengen van extracten en het afspoelen van de glaswand gedurende het indampen
- Glazen monsterflesjes (bv. 1.5 ml)
- Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg

- Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
- SPE extractietoestel
- SPE patronen: bv. OASIS HLB 6cc, 200mg
- Opmerking:
 - o Andere SPE fasen zijn mogelijk; validatie-experimenten dienen aan te tonen dat voldoende terugvinding en reproduceerbaarheid wordt bekomen.
 - o Ook online SPE kan toegepast worden; hierbij gelden specifieke fasen geschikt voor de SPE module.
- Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- LC-MS bestaande uit:
 - o een LC-systeem (hoge druk of ultra hoge druk) met injectie-automaat, vloeistofpomp, gethermostatiseerde kolom en ontgassingseenheid
 - o een tandem quadrupool massa spectrometer met electrospray en ev. APCI interface
Opm.: Alternatief kan gebruik gemaakt worden van een ion trap of een accurate massa (time-of-flight (TOF) of Fourier Transform) massaspectrometer
 - o een datastation voor de instelling van de instrumentele settings, de data-acquisitie en de data-analyse
- LC-kolom: een reversed phase kolom, bv. *Waters Xterra RP C18, 3.5µm, 2.1 x 100 mm* voor HPLC meting of *Waters Acquity UPLC BEH C18, 1.7 µm, 2.1 x 150 mm* voor UPLC-meting of gelijkwaardig

4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

- Methanol: LC-grade
- Acetonitrile (ACN): LC-grade
- Water: LC-grade
- Isopropanol p.a.
- Ammoniumacetaat p.a.
- Stockstandaarden van pesticiden: vaste en vloeibare producten van diverse leveranciers
- Individuele stockstandaardoplossingen van natieve pesticiden: deze zijn aangemaakt in bv. isopropanol in een concentratie van +/- 1000 mg/l (zie bijlage 1)
- Stockstandaardoplossingen van isotoop gemerkte pesticiden, al dan niet bereid uit zuivere producten. Voorbeelden van geschikte interne standaarden/surrogaatverbindingen zijn:
 - ES+:
 - D₅-terbutylazine
 - D₆-propazine
 - D₅-terbutryn
 - D₅-sebutylazine
 - D₅-simazine
 - D₆-prometryn
 - **D₆-metolachlor**
 - **D₆-diuron**
 - **D₆-desethylatrazine**
 - D₅-desisopropylazine
 - D₆-desethylazine
 - **D₅-atrazine /¹³C-atrazine**
 - **D₃-BAM**
 - D₄-carbendazim
 - D₆-isoproturon

- ES-:
 - D₂-2,4,5-T
 - D₃-2,4-D
 - ¹³C₆-2,4-D
 - D₆-2,4-DP
 - **D₇-bentazon**
 - D₆-dichlorprop
 - D₅-DNOC
 - D₃-MCPA
 - D₆-MCPB
 - ¹³C₆-PCP
 - D₃-MCPB
 - **D₃-dicamba**

Opmerkingen :

- De isotoop gemerkte verbindingen in vet zijn typische vertegenwoordigers van verschillende pesticidefamilies. Eén of meerdere van deze verbindingen kunnen met het oog op de controle van het goede verloop van de analyse toegevoegd worden aan het watermonster. Van deze verbindingen worden de terugvindingen bepaald (zie 8.6).
- Het gebruik van D₇-bentazon laat toe te controleren of de aanwezige actieve chloor voldoende werd gereduceerd (zie verder) aangezien bentazon gemakkelijk met chloor reageert.
- Doperingsoplossing van natieve pesticiden, geschikt voor detectie in positieve ionisatiemodus (zie verder), van ca 500 µg/l in bv. isopropanol voor de aanmaak van controlemonsters of voor matrixadditie.
- Doperingsoplossing van natieve pesticiden, geschikt voor detectie in negatieve ionisatiemodus (zie verder), van ca 500 µg/l in bv. isopropanol voor de aanmaak van controlemonsters of voor matrixadditie.
- Doperingsoplossing van isotoop gemerkte pesticiden, geschikt voor detectie in positieve ionisatiemodus (zie verder), van ca 500 µg/l in bv. isopropanol.
- Doperingsoplossing van isotoop gemerkte pesticiden, geschikt voor detectie in negatieve ionisatiemodus (zie verder), van ca 500 µg/l in bv. isopropanol.
- Kalibratiestandaardoplossingen van natieve pesticiden, geschikt voor detectie in positieve ionisatiemodus (zie verder): maak uitgaande van de stockstandaardoplossingen van natieve pesticiden een mengsel aan van de natieve pesticiden en hieruit een reeks verdunningen met wisselende concentraties aan, lopende van ca 0,5 tot 500 µg/l; de oplossingen worden aangemaakt in acetonitril/water 10/90; addeer hieraan de isotoop gemerkte verbindingen in een constante concentratie van ca 50 µg/l (zie voorbeeld in bijlage)
Opmerking : gezien de beperkte houdbaarheid van een aantal pesticiden in water worden de kalibratieoplossingen aangemaakt voor elke meetreeks.
- Kalibratiestandaardoplossingen van natieve pesticiden, geschikt voor detectie in negatieve ionisatiemodus (zie verder): idem (zie voorbeeld in bijlage 1)

5 MONSTERBEWARING

Voor de monsterconservering en –bewaring wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

6 EXTRACTIE

Het watermonster wordt gehomogeniseerd door opschudden en hiervan wordt een representatief deelmonster genomen van bv. 100 ml. Aan dit deelmonster worden de surrogaat standaarden geaddeerd (ca 10 ng). Desgevallend wordt het watermonster gefiltreerd over een glasvezelfilter of gecentrifugeerd voorafgaand aan de extractie.

Een voorbeeld van extractiewijze is hieronder opgenomen.

Voor de extractie wordt bv. gebruik gemaakt van een 6-ml patroon met 200 mg OASIS HLB of andere geschikte fase.

De procedure omvat volgende stappen:

- conditioneer het SPE-patroon met 6 ml MeOH
- spoel het SPE-patroon met 6 ml water
- zuig het 100 ml deelmonster doorheen het patroon
- spoel met 2 ml water van pH 7
- elueer met 3 maal 2 ml MeOH
- damp het extract in onder een N₂ stroom tot bijna of volledig droog
- breng over in een meetvial van 1,5 ml
- leng dit aan tot een eindvolume van 0.5 ml acetonitrille/water

De houdbaarheid van preparaten, bij bewaring in de koelkast, bedraagt 2 weken.

7 LC-MS ANALYSE

7.1 METING

Van de monsterextracten wordt typisch 25 tot 100 µl in de LC-MS geïnjecteerd.

De LC-analyse gebeurt typisch op een C18 kolom met gradiëntelutie.

Alle opnames worden met Multiple Reaction Monitoring (MRM) uitgevoerd, met ionisatie via electrospray in positieve (ES+), resp. negatieve modus (ES-). Hetzelfde extract wordt gebruikt voor de meting in ES+ en ES- modus.

Typische LC-MS instellingen zijn gegeven in bijlage 2. Tegelijk zijn de te registreren ionentransities aangegeven en de met de gekozen LC-MS instellingen bekomen retentietijden.

Opmerking :

- voor sommige pesticiden kan een opname via APCI ionisatie tot betere responsen leiden

7.2 IDENTIFICATIE EN INTEGRATIE

De pesticiden en de interne standaarden worden geïdentificeerd op basis van de criteria voor retentietijden en ionenratio's zoals vermeld in WAC/VI/A/003.

De geïdentificeerde pieken worden geïntegreerd met de software van het apparaat en manueel geverifieerd.

7.3 KALIBRATIE

De wijze waarop de kalibratie en de daarop volgende kwantificatie gebeurt is afhankelijk van de aard van de monsters. Het laboratorium dient zich bewust te zijn van het optreden van matrixinvloeden bij de ionisatie, waarbij door coëlutie met interfererende stoffen het signaal van de te bepalen pesticiden onderdrukt en in sommige gevallen zelfs versterkt kan worden. Het laboratorium dient op basis van validatie-experimenten te oordelen welke kwantificatiemethode het meest geschikt is voor zijn type monsters. Matrixeffecten kunnen grotendeels opgevangen worden met de interne standaardmethode, mits gebruikmaking van een voldoende groot aantal inwendige standaarden, gekozen over het volledige retentietijdsgebied. De meest accurate (maar meest omslachtige) bepaling gebeurt echter met de standaard additie methode: hierbij worden aan het monster of het monsterextract gekende concentraties pesticide toegevoegd waarna op een grafische manier of door berekening de oorspronkelijke concentratie kan bepaald worden.

De kalibratie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren (voor de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt verwezen naar WAC/VI/A/003) :

- aan de hand van de responsfactor (RF, bij externe standaard kalibratie) of de relatieve responsfactor (RRF, bij interne standaard kalibratie), bepaald met minstens één kalibratieoplossing. Deze werkwijze kan gevolgd worden indien de Rfen of RRFen binnen bepaalde grenzen constant zijn over het meetgebied. De Rfen of RRFen voor elke te bepalen component worden vervolgens bepaald uit de verhouding van de oppervlakten en concentraties van de natieve componenten en (bij interne standaard methode) de overeenkomstige interne standaarden :

$$RF_i = A_i / C_i$$

$$RRF_i = (A_i \times C_{IS}) / (A_{IS} \times C_i)$$

met

RRF _i	=	relatieve responsfactor van component i
A _i	=	piekoppervlakte van component i bij injectie van de kalibratieoplossing
C _i	=	concentratie (in ng/μl) van PAK-component i in de kalibratieoplossing
C _{IS}	=	concentratie (in ng/μl) van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratieoplossing
A _{IS}	=	piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard bij injectie van de kalibratieoplossing

De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RF of RRF van de 2 kalibratieoplossingen waartussen het staal geïnjecteerd werd.

- aan de hand van 'bracketing'. De kalibratiereeks wordt geïnjecteerd minstens bij het begin en bij het einde van de meetreeks. De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RF of RRF van de 2 injecties van de 2 punten waartussen het staal begrepen is.
- aan de hand van kalibratierechten. In dit geval worden aan het begin van de analysereeks minimaal 4 kalibratieoplossingen geanalyseerd met concentraties groter dan 0 en verspreid over het lineair gebied. Vervolgens wordt dmv lineaire regressie de vergelijking van de kalibratierechte berekend.

De kalibratievergelijking heeft gewoonlijk een lineair verloop:

$$A_i = aC_i + b \quad (\text{externe standaard methode, standaard additie methode})$$

$$\frac{A_i}{A_{IS}} = a \frac{C_i}{C_{IS}} + b \quad (\text{interne standaard methode})$$

met

A_i	=	de gemeten piekoppervlakte voor de pesticide i in de resp. standaardoplossing
C_i	=	de concentratie van de pesticide i in ng/ml in de resp. standaardoplossing
A_{IS}	=	de gemeten piekoppervlakte voor de overeenkomstige inwendige standaard in de resp. standaardoplossing
C_{IS}	=	de concentratie van de overeenkomstige inwendige standaard in ng/ml in de resp. standaardoplossing
a, b	=	de coëfficiënten van de kalibratievergelijking voor pesticide i

De gemeten piekoppervlakten worden voor elke te bepalen pesticide uitgezet i.f.v. van de concentratie. De coëfficiënten a (helling of reponsfactor) en b (afgesneden stuk) worden bepaald door lineaire regressie met $1/X$ weging.

De berekening van de kalibratiecurve gebeurt bij elke analysereeks.

Opmerkingen:

- In geval van de standaard additie methode kan gekozen worden voor een beperkter aantal kalibratiepunten
- In sommige gevallen kan het gebruik van een kwadratische functie meer aangewezen zijn.

7.4 GEHALTE VAN DE PESTICIDEN IN HET WATERMONSTER

Externe standaard methode:

De concentraties in het monster worden berekend als volgt:

$$C_i = \left(\frac{A_i - b}{a} \right) \times \frac{V_e}{V}$$

met

C_i	=	de concentratie van de pesticideverbinding i in het monster in ng/l
A_i	=	de gemeten piekoppervlakte voor de pesticideverbinding i in het monsterextract
V_e	=	het volume van het eindextract in ml
V	=	het ingenomen volume van het monster in l
a en b	=	de coëfficiënten van de kalibratievergelijking

Interne standaard methode:

De concentratie van een pesticide in het staal wordt berekend als volgt :

$$C_i = \left[\frac{\left(\frac{A_i}{A_{IS}} \right) - b}{a} \right] \times \frac{g_{IS}}{V}$$

met

C_i = de concentratie van de pesticide i in het watermonster in ng/l

A_i = de piekoppervlakte van de pesticide i in het monster

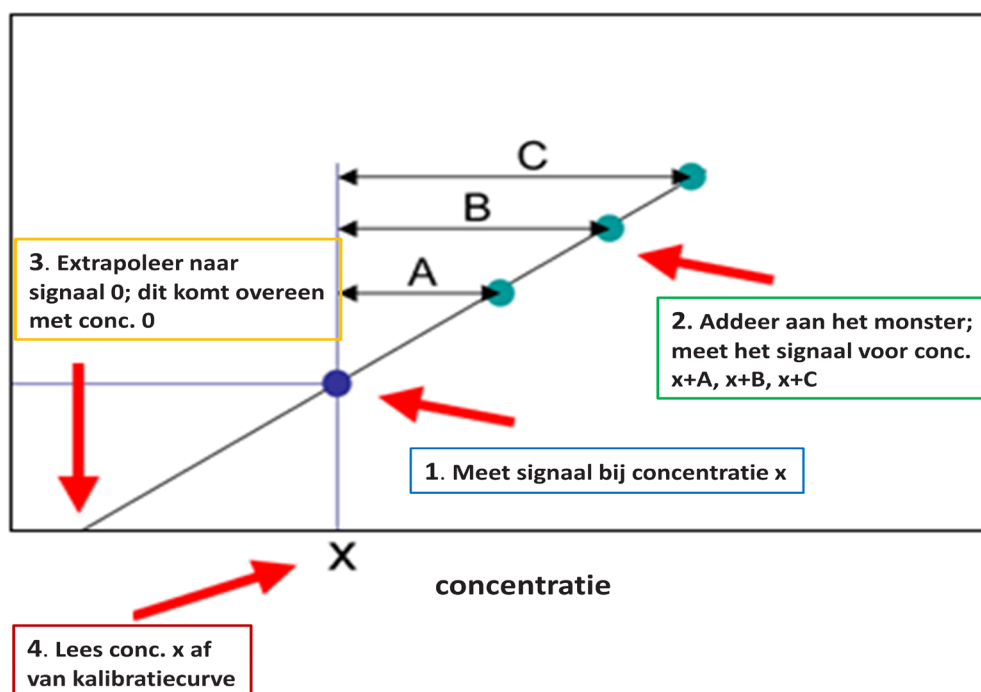
A_{IS} = de piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard in het monster

g_{IS} = de hoeveelheid interne standaard toegevoegd aan het monster in ng

V = het ingenomen volume water waaraan de inwendige standaard werd toegevoegd in l

Standaard additie methode

Het oorspronkelijke pesticide gehalte in het eindextract kan grafisch bepaald worden of berekend worden als het geëxtrapolerde stuk op de X-as van het diagram van de oppervlakte i.f.v. de geaddeerde concentratie zoals aangegeven in de onderstaande figuur:



Opmerkingen:

- Het eindextract bedraagt typisch 0.5 ml, het monstervolume 100 ml.
- Bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied dient voor de bepaling van de betrokken pesticideverbinding het extract verdund te worden met mobiele fase en opnieuw gemeten.
- Voor sommige pesticideverbindingen kan uit validatie-experimenten blijken dat de terugvinding onvoldoende is (door niet-kwantitatieve extractie of a.g.v. typische matrixeffecten voor het onderzochte type water), maar wel reproduceerbaar. In dat geval kan het gehalte gecorrigeerd

worden voor de gemiddelde terugvinding bekomen bij de validatie. In plaats van gebruik te maken van deze gemiddelde terugvinding kan alternatief de kalibratie gebeuren met geaddeerde blanco watermonsters die de volledige procedure doorlopen. Deze werkwijze is in elk geval van toepassing bij online SPE opwerking.

8 KWALITEITSCONTROLE

Voor de kwaliteitseisen ivm kalibratie, procedureblanco, terugvinding van de surrogaatverbindingen en/of interne standaarden, controle op gevoeligheid, controlestaal en controlestandaard wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

8.1 RESPONSLINEARITEIT

Voor de werkwijze voor de bepaling van de lineariteit wordt verwezen naar de validatieprocedure van het Compendium voor Monsterneming en Analyse (CMA/6/A). Een controle van de lineariteit wordt uitgevoerd bij elke ernstige instrumentele ingreep. Indien niet aan lineariteit is voldaan mag overgeschakeld worden op een andere (bv. kwadratische) functie. Stelt men bij de monsteranalyse een overschrijding van de bovenste lineaire grens vast, d.i. de hoogst geregistreeerde oppervlakte in het lineaire gebied, dan moet de analyse hernomen worden startend van een verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de interne standaard nog voldoende intens is, of startend van een geringere hoeveelheid monster.

8.2 CHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

De kolomkwaliteit wordt opgevolgd aan de hand van een voor een pesticidenpaar berekend scheidingsgetal of aan de hand van het plaatgetal.

8.3 INSTRUMENTELE DETECTIELIMIETEN

De instrumentele detectielimiet is een maat voor de gevoeligheid van het apparaat. Aan de hand van het chromatogram van de laagste kalibratie-oplossing wordt voor elke pesticideverbinding de kleinst meetbare concentratie bepaald, gedefinieerd als:

$$DL(instr) = 3 * RG \times C/PH$$

met

DL(instr) = de instrumentele detectielimiet in ng/ml

RG = de "peak-to-peak" ruishoogte aan de voet van de chromatogrampijk van de pesticideverbinding

PH = de piekhoogte van de pesticideverbinding

C = concentratie van de pesticideverbinding in de kalibratie-oplossing in ng/ml

De instrumentele detectielimieten moeten van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrenzen kunnen gehaald worden. In bijlage 3 zijn bij wijze van voorbeeld instrumentele detectielimieten gegeven bekomen met de LC-MS condities van bijlage 2.

8.4 TERUGVINDING VAN DE SURROGAATVERBINDINGEN/INTERNE STANDAARDEN

De terugvindingen van de surrogaatverbindingen/interne standaarden worden bepaald op basis van de verhoudingen van de gemeten oppervlakten voor het monster en de oppervlakten bekomen bij de kalibratiereeks (eindextract en kalibratieoplossingen bevatten theoretisch dezelfde concentraties surrogaatverbindingen) en rekening houdend met de terugvinding bekomen bij de validatie voor de overeenkomstige natieve component:

$$R_s(\%) = \frac{A_s(\text{monster})}{<A_s(\text{kalibratie})>} \times \frac{100}{R_i}$$

met

$R_s(\%)$	=	de terugvinding van de surrogaat/interne standaard in %
$A_s(\text{monster})$	=	de oppervlakte gemeten voor de surrogaat/interne standaard in het monster
$<A_s(\text{kalibratie})>$	=	de gemiddelde oppervlakte gemeten voor de surrogaat/interne standaard in de kalibratieoplossingen
R_i	=	de terugvinding bij de validatie van de overeenkomstige natieve verbinding in %

De terugvindingen dienen te voldoen aan de criteria vermeld in WAC/VI/A/003.

Opmerking:

Afwijkende terugvindingen, bv. in oppervlakte- en afvalwater, zijn mogelijk een gevolg van van coëlutie met matrixcomponenten waardoor ionisatiesuppressie en soms ook ionisatieversterking optreedt. In dat geval gebeurt de kwantificatie van de natieve verbindingen aan de hand van standaardadditie (zie boven), m.u.v. van die pesticiden waarvoor analoge gemerkte verbindingen aanwezig zijn.

8.5 MATRIXADDITIE

In elke meetreeks wordt aan een deel van een watermonster een gekende hoeveelheid van een aantal pesticiden toegevoegd. De monsters worden opgewerkt en de terugvindingen worden bepaald, rekening houdend met het oorspronkelijk aanwezige gehalte. De terugvindingen worden genoteerd op een controlekaart.

9 VEILIGHEID

De scheikundige producten die bij deze analysemethode gebruikt worden, zijn ondergebracht bij de potentieel giftige en kankerverwekkende stoffen. Dit maakt het noodzakelijk de voorziene maatregelen in het laboratorium toe te passen om blootstelling aan of contact met deze producten tot een minimum te herleiden.

10 REFERENTIES

ISO 10695:2000, Water quality – determination of selected organic nitrogen and phosphorus compounds – Gas chromatographic methods

ISO 11369:1997, Water quality – determination of selected plant treatment agents –Method using high performance liquid chromatography with UV detection after solid-liquid extraction.

ISO 15913:2000, Water quality -- Determination of selected phenoxyalkanoic herbicides, including bentazones and hydroxybenzonitriles by gas chromatography and mass spectrometry after solid phase extraction and derivatization

BIJLAGE 1 VOORBEELDEN VAN KALIBRATIEREEKSEN (IN µG/L)ES+ modus

atrazine	0,193	1,61	5,50	28	54	109	217	545
cyanazine	0,189	1,58	5,39	28	53	107	212	534
desethylatrazine	0,19	1,58	5,41	28	53	108	213	536
desisopropylatrazine	0,187	1,55	5,32	27	52	106	210	527
hexazinone	0,191	1,59	5,44	28	53	108	214	538
prometryn	0,188	1,56	5,35	27	53	106	211	530
propazine	0,189	1,58	5,39	28	53	107	212	534
sebuthylazine	0,188	1,56	5,35	27	53	106	211	530
simazine	0,19	1,58	5,42	28	53	108	214	537
terbutryn	0,193	1,60	5,49	28	54	109	216	543
terbuthylazine	0,18	1,50	5,14	26	50	102	202	509
alachlor	0,162	1,35	4,61	24	45	92	182	457
chlorotoluron	0,166	1,38	4,74	24	47	94	187	469
diuron	0,171	1,42	4,88	25	48	97	192	483
isoproturon	0,165	1,37	4,69	24	46	93	185	465
linuron	0,153	1,27	4,35	22	43	86	171	431
metobromuron	0,171	1,42	4,86	25	48	97	191	481
metazachlor	0,159	1,32	4,53	23	45	90	179	449
metolachlor	0,15	1,25	4,29	22	42	85	169	425
metoxuron	0,166	1,38	4,73	24	46	94	186	469
monolinuron	0,172	1,43	4,91	25	48	98	193	486
propachlor	0,17	1,41	4,84	25	48	96	191	479
chlolidazon	0,17	1,41	4,84	25	48	96	191	480
carbendazim	0,147	1,23	4,20	21	41	83	165	416
carbetamide	0,149	1,24	4,24	22	42	84	167	419
chloorprofam	0,171	1,43	4,88	25	48	97	192	483
ethofumesate	0,157	1,31	4,48	23	44	89	176	443
metamitron	0,171	1,43	4,88	25	48	97	192	483
methabenzthiazuron	0,539	4,48	15,35	78	151	305	605	1520
desethylterbutylazine	0,185	1,76	6,07	24	47	95	189	470
BAM (2,6-dichlorobenzamide)	0,221	2,09	7,23	28	56	114	225	560
azinfos-ethyl	0,18	1,50	5,14	26	50	102	202	509
azinfos-methyl	0,181	1,51	5,16	26	51	103	203	511
chlorfenvinphos	0,177	1,48	5,05	26	50	100	199	500
chlorpyrifos	0,178	1,48	5,06	26	50	101	199	501
chlorpyrifos-methyl	0,176	1,46	5,01	26	49	100	197	496
diazinon	0,178	1,48	5,08	26	50	101	200	503
dimethoaat	0,176	1,46	5,01	26	49	100	197	496
malathion	0,175	1,46	4,99	25	49	99	196	494
methidathion	0,178	1,48	5,08	26	50	101	200	503
mevinfos	0,175	1,46	4,99	25	49	99	197	494
pirimiphos-methyl	0,181	1,51	5,16	26	51	102	203	511
demeton	0,259	2,15	7,37	38	72	147	290	730

cumafos	0,162	1,35	4,61	24	45	92	182	456
triazophos	0,158	1,31	4,49	23	44	89	177	445
omethoaat	0,267	2,53	8,74	34	68	137	272	677
oxydemeton-methyl	0,206	1,95	6,74	27	52	106	210	522
foxim	0,305	2,89	9,99	39	77	157	311	774
D ₆ -diuron	23	23	23	23	23	23	23	23
D ₆ -metolachlor	25	25	25	25	25	25	25	25
D ₆ -desethylatrazine	22	22	22	22	22	22	22	22
¹³ C-atrazine	22	22	22	22	22	22	22	22
D ₃ -BAM	22	22	22	22	22	22	22	22

ES- modus

2,4,5-T	0,59	0,59	1,15	5,05	15,9	33,6	70,4	146
2,4-D	0,59	0,59	1,15	5,06	15,9	33,6	70,5	146
2,4-DB	0,58	0,58	1,13	4,96	15,6	33,0	69,1	143
bentazon	0,57	0,57	1,12	4,89	15,4	32,5	68,2	141
dichlorprop	0,58	0,58	1,14	4,98	15,6	33,1	69,4	144
fenoprop	0,59	0,59	1,15	5,06	15,9	33,6	70,5	146
fluroxypyr	0,6	0,6	1,18	5,19	16,3	34,5	72,3	150
MCPA	0,58	0,58	1,13	4,97	15,6	33,0	69,2	144
MCPB	0,58	0,58	1,14	5,02	15,8	33,3	69,9	145
mecoprop (MCP)	0,59	0,59	1,17	5,12	16,1	34,0	71,3	148
pentachloorfenol	0,64	0,64	1,27	5,55	17,4	36,9	77,3	160
bromacil	0,6	0,6	1,18	5,17	16,2	34,4	72,1	149
propanil	0,6	0,6	1,18	5,19	16,3	34,5	72,3	150
D ₇ -bentazon	22	22	22	22	22	22	22	22
D ₃ -dicamba	22	22	22	22	22	22	22	22

BIJLAGE 2 TYPISCHE LC-MS WERKVOORWAARDEN VOOR DE BEPALING VAN POLAIRE PESTICIDEN

De onderstaande LC-MS werkvoorwaarden gelden voor een HPLC-Quattro II (Micromass) en een UPLC-Quattro Premier (Waters)

HPLC-condities

ES+ modus:

Kolom: Waters Xterra RP C18, 3.5µm, 2.1 x 100 mm

Kolomtemperatuur: 35°C

Injectievolume: 25 µl.

Mobiele fase:

Samenstelling: A= acetonitrille,

B= water + 5 mM ammoniumacetaat

Debiet: 0.25 ml/min.

Gradiënt:

Tijd	A	B
min	%	%
0,00	20	80
2,00	20	80
20	100	0
25	100	0
26	20	80
31	20	80

ES- modus:

Kolom: Waters Xterra RP C18, 3.5µm, 2.1 x 100 mm

Kolomtemperatuur: 35°C

Injectievolume: 100 µl.

Mobiele fase:

Samenstelling: A= acetonitrille + 0.1% azijnzuur

B= water + 1 mM ammoniumacetaat

(de pH dient exact 3.6 te bedragen)

Debiet: 0.20 ml/min.

Gradiënt:

Time	A	B
min	%	%
0	10	90
8	90	10
10	98	2
15	98	2
16	10	90
22	10	90

UPLC-conditiesES+ modus:

Kolom: *Waters Acquity BEH C18, 1.7 μ m, 2.1 x 150 mm*

Kolomtemperatuur: 40°C

Injectievolume: 10 μ l.

Mobiele fase:

Samenstelling: A= acetonitrille + 4 mM ammoniumformaat + 0.1 % mierzuur

B= water + 4 mM ammoniumformaat + 0.1 % mierzuur

Debiet: 0.40 ml/min.

Gradiënt:

Tijd	A	B
min	%	%
0,00	10	90
12,00	100	0
13	100	0
13.1	10	90
15	10	90

ES- modus:

Kolom: *Waters Acquity BEH C18, 1.7 μ m, 2.1 x 150 mm*

Kolomtemperatuur: 40°C

Injectievolume: 10 μ l.

Mobiele fase:

Samenstelling: A= acetonitrille + 4 mM ammoniumformaat + 0.1 % mierzuur

B= water + 4 mM ammoniumformaat + 0.1 % mierzuur

Debiet: 0.40 ml/min.

Gradiënt:

Time	A	B
min	%	%
0	10	90
7	100	0
8	100	0
8.1	10	90
10	10	90

MS-condities

HPLC-MS (ES+ modus):

Polarity	ES+
Capillary (kV)	4.00
Cone (V)	Afhankelijk van de component
Extractor (V)	2.00
RF Lens (V)	0.0
Source Temperature (°C)	120
Desolvation Temperature (°C)	250
Drying gas (L/Hr)	350
Nebulising Gas Flow (L/Hr)	25
LM 1 Resolution	15.0
HM 1 Resolution	15.0
Ion Energy 1	2.0
Collision	20
LM 2 Resolution	15.0
HM 2 Resolution	15.0
Ion Energy 2	2.1
Multiplier (V)	650

Ionentransities:

	mode		Parent ion	Daughter ion	rt	dwell time	cone V	Collision E
atrazine	ES +	MRM	216	174	11,09	0,2	40	20
cyanazine	ES +	MRM	241	214	8,14	0,2	40	20
desethylatrazine	ES +	MRM	188	146	3,36	0,2	40	20
desisopropylatrazine	ES +	MRM	174	104	2,05	0,2	40	20
hexazinone	ES +	MRM	253	171	7,63	0,2	30	15
prometryn	ES +	MRM	242	200	15,27	0,2	40	20
propazine	ES +	MRM	230	146	13,44	0,2	30	20
sebuthylazine	ES +	MRM	230	174	13,34	0,2	40	20
simazine	ES +	MRM	202	132	7,52	0,2	40	20
terbutryn	ES +	MRM	242	186	15,61	0,2	35	15
terbuthylazine	ES +	MRM	230	174	13,98	0,2	40	20
alachlor	ES +	MRM	270	238	16,37	0,2	25	10
chlorotoluron	ES +	MRM	213	72	10,88	0,2	40	18
diuron	ES +	MRM	233	72	11,82	0,2	40	20
isoproturon	ES +	MRM	207	72	11,94	0,2	35	15
linuron	ES +	MRM	249	182	14,15	0,2	35	15
methabenzthiazuron	ES +	MRM	222	165	10,58	0,2	25	15
metobromuron	ES +	MRM	259	170	11,98	0,2	35	15
metazachlor	ES +	MRM	278	210	12,67	0,2	20	10
metolachlor	ES +	MRM	284	252	16,33	0,2	25	10
metoxuron	ES +	MRM	229	72	5,85	0,2	40	15

monolinuron	ES +	MRM	215	126	11,16	0,2	35	15
propachlor	ES +	MRM	212	170	12,63	0,2	25	20
chlorldazon	ES +	MRM	222	104	2,98	0,2	35	20
carbendazim	ES +	MRM	192	160	3,16	0,2	25	15
carbetamide	ES +	MRM	237	192	6,77	0,2	20	10
chloorprofam	ES +	MRM	214	172	15,39	0,2	20	10
ethofumesate	ES +	MRM	304 287	287 121,259, 162	15,52	0,2	20	10
metamitron	ES +	MRM	203	175	2,77	0,2	35	20
methabenzthiazuron	ES +	MRM	222	165	10,58	0,2	25	15
desethylterbutylazine	ES +	MRM	202	146	8,88	0,2	30	15
BAM (2,6-dichlorobenzamide)	ES +	MRM	190	173	2,48	0,2	40	20
azinfos-ethyl	ES +	MRM	346	132	16,49	0,2	20	15
azinfos-methyl	ES +	MRM	318	160	14,04	0,2	15	10
chlorfenvinphos	ES +	MRM	359	155	17,43	0,2	30	15
chlorpyrifos	ES +	MRM	350	198	20,94	0,2	25	15
chlorpyrifos-methyl	ES +	MRM	322	125	18,74	0,2	35	15
diazinon	ES +	MRM	305	169	18,14	0,2	35	15
dichloorvos	ES +	MRM	221	127	8,84	0,2	35	20
dimethoat	ES +	MRM	230	171	3,4	0,2	20	20
ethoprosfos	ES +	MRM	243	173	15,56	0,2	30	15
fenthion	ES +	MRM	279	169	17,78	0,2	35	20
fonofos	ES +	MRM	247	137	18,24	0,2	25	15
malathion	ES +	MRM	331	127	16,07	0,2	25	10
methidathion	ES +	MRM	303	145	13,82	0,2	25	10
mevinfos	ES +	MRM	225	127	2,88	0,2	20	10
pirimiphos-methyl	ES +	MRM	306	164	19,04	0,2	50	25
terbufos	ES +	MRM	289	103	20,49	0,2	15	10
disulfoton	ES +	MRM	275	89	18,94	0,2	15	15
demeton	ES +	MRM	259	89	13,18	0,2	20	10
cumafos	ES +	MRM	363	227	18,24	0,2	50	25
triazophos	ES +	MRM	314	162	16,24	0,2	50	25
omethoat	ES +	MRM	214	183	1,45	0,2	20	10
oxydemeton-methyl	ES +	MRM	247	169	1,56	0,2	25	15
foxim	ES +	MRM	299	129	17,55	0,2	25	10
D ₆ -diuron	ES +	MRM	239	78	11,74	0,2	40	15
D ₆ -metolachlor	ES +	MRM	290		16,33	0,2	25	10
D ₆ -desethylatrazine	ES +	MRM	194		3,36	0,2	40	20
¹³ C-atrazine	ES +	MRM	219	177	11,09	0,2	40	20
D ₃ -BAM	ES +	MRM	193		2,48	0,2	40	20

HPLC-MS (ES- modus):

Polarity	ES-
Capillary (kV)	4.00
Cone (V)	Afhankelijk van de component
Extractor (V)	2.00
RF Lens (V)	0.0
Source Temperature (°C)	120
Desolvation Temperature (°C)	250
Drying gas (L/Hr)	350
Nebulising Gas Flow (L/Hr)	25
LM 1 Resolution	15.0
HM 1 Resolution	15.0
Ion Energy 1	1.3
Collision	20
LM 2 Resolution	0
HM 2 Resolution	15.0
Ion Energy 2	5.1
Multiplier (V)	650

Ionentransities

	mode		Parent ion	Daughter ion	rt	dwell time	cone V	Collision E
2,4,5-T	ES -	MRM	253	195	10,48	0,2	25	10
2,4-D	ES -	MRM	219	161	9,88	0,2	20	12
2,4-DB	ES -	MRM	247	161	11,85	0,2	20	13
bentazon	ES -	MRM	239	132	9,4	0,2	55	25
dichlorprop	ES -	MRM	233	161	10,62	0,2	20	10
fenoprop	ES -	MRM	267	195	11,18	0,2	20	6
dicamba	ES -	MRM	219	175				
fluroxypyr	ES -	MRM	253	195	10,51	0,2	20	12
MCPA	ES -	MRM	199	141	10,16	0,2	20	12
MCPB	ES -	MRM	227	141	11,89	0,2	20	5
mecoprop (MCP)	ES -	MRM	213	141	10,93	0,2	25	15
pentachloorfenol	ES -	SIM	265		13,56	0,2	40	
bromacil	ES -	MRM	261	205	10,02	0,2	30	20
propanil	ES -	MRM	218	162				
D ₇ -bentazon	ES -	MRM	249		9,4	0,2	55	25
D ₃ -dicamba	ES -	MRM	222					

UPLC-MS (ES+ modus):

Polarity	ES+
Capillary (kV)	3.00
Cone (V)	Afh. van de component
Extractor (V)	3.00
RF Lens (V)	0.1
Source Temperature (°C)	120
Desolvation Temperature (°C)	250
Drying gas (L/Hr)	800
Nebulising Gas Flow (L/Hr)	50
LM 1 Resolution	13.0
HM 1 Resolution	13.0
Ion Energy 1	0.3
Collision	20
LM 2 Resolution	14.0
HM 2 Resolution	14.0
Ion Energy 2	3.0
Multiplier (V)	650

Ionentransities:

	mod e		Paren t ion	Daughte r ion	rt	dwell time	span	con e V	Collision E
atrazine	ES +	MRM	216	174	6.13	0.05	0.1	40	20
cyanazine	ES +	MRM	241	214	5.18	0.05	0.1	40	20
desethylatrazine	ES +	MRM	188	146	7.14	0.05	0.1	40	20
desisopropylatrazine	ES +	MRM	174	104	7.03	0.05	0.1	40	20
hexazinone	ES +	MRM	253	171	4.81	0.05	0.1	30	15
prometryn	ES +	MRM	242	200	7.22	0.05	0.1	40	20
propazine	ES +	MRM	230	146	7.14	0.05	0.1	30	20
sebutylazine	ES +	MRM	230	174	7.02	0.05	0.1	40	20
simazine	ES +	MRM	202	132	5.05	0.05	0.1	40	20
terbutryn	ES +	MRM	242	186	7.34	0.05	0.1	35	15
terbutylazine	ES +	MRM	230	174	7.38	0.05	0.1	40	20
alachlor	ES +	MRM	270	238	8.55	0.075	0.1	25	10
chlorotoluron	ES +	MRM	213	72	5.95	0.05	0.1	40	18
diuron	ES +	MRM	233	72	6.35	0.05	0.1	40	20
isoproturon	ES +	MRM	207	72	6.33	0.05	0.1	35	15
linuron	ES +	MRM	249	182	7.48	0.05	0.1	35	15
methabenzthiazuron	ES +	MRM	222	165	5.83	0.05	0.1	25	15
metobromuron	ES +	MRM	259	170	6.57	0.05	0.1	35	15
metazachlor	ES +	MRM	278	210	6.76	0.075	0.1	20	10
metolachlor	ES +	MRM	284	252	8.54	0.05	0.1	25	10
metoxuron	ES +	MRM	229	72	4.67	0.05	0.1	40	15
monolinuron	ES +	MRM	215	126	6.27	0.05	0.1	35	15
propachlor	ES +	MRM	212	170	6.76	0.075	0.1	25	20

chloridazon	ES +	MRM	222	104	3.57	0.05	0.1	35	20
carbendazim	ES +	MRM	192	160	2.24	0.075	0.1	25	15
carbetamide	ES +	MRM	237	192	4.75	0.05	0.1	20	10
chloorprofam	ES +	MRM	214	172	6.76	0.075	0.1	20	10
ethofumesate	ES +	MRM	304 287	287 121,259, 162	8.12	0.05	0.1	20	10
metamitron	ES +	MRM	203	175	3.35	0.05	0.1	35	20
methabenzthiazuron	ES +	MRM	222	165	5.83	0.05	0.1	25	15
desethylterbutylazine	ES +	MRM	202	146	5.29	0.05	0.1	30	15
BAM (2,6-dichlorobenzamide)	ES +	MRM	190	173	2.98	0.075	0.1	40	20
azinfos-ethyl	ES +	MRM	346	132	8.63	0.05	0.1	20	15
azinfos-methyl	ES +	MRM	318	160	7.42	0.05	0.1	15	10
chlorfenvinphos	ES +	MRM	359	155	8.96	0.05	0.1	30	15
chlorpyrifos	ES +	MRM	350	198	10.9 2	0.15	0.1	25	15
chlorpyrifos-methyl	ES +	MRM	322	125	9.79	0.05	0.1	35	15
diazinon	ES +	MRM	305	169	9.50	0.075	0.1	35	15
dichloorvos	ES +	MRM	221	127	5.27	0.05	0.1	35	20
dimethoat	ES +	MRM	230	171	3.79	0.05	0.1	20	20
ethoprosfos	ES +	MRM	243	173	8.05	0.05	0.1	30	15
fenthion	ES +	MRM	279	169	9.28	0.075	0.1	35	20
fonofos	ES +	MRM	247	137	9.62	0.075	0.1	25	15
malathion	ES +	MRM	331	127	8.36	0.05	0.1	25	10
methidathion	ES +	MRM	303	145	7.36	0.05	0.1	25	10
mevinfos	ES +	MRM	225	127	4.11	0.05	0.1	20	10
pirimiphos-methyl	ES +	MRM	306	164	9.86	0.05	0.1	50	25
terbufos	ES +	MRM	289	103	10.7 2	0.10	0.1	15	10
disulfoton	ES +	MRM	275	89	9.92	0.05	0.1	15	15
demeton	ES +	MRM	259	89	6.81	0.05	0.1	20	10
cumafos	ES +	MRM	363	227	9.47	0.075	0.1	50	25
triazophos	ES +	MRM	314	162	8.44	0.05	0.1	50	25
omethoat	ES +	MRM	214	183	1.62	0.15	0.1	20	10
oxydemeton-methyl	ES +	MRM	247	169	2.26	0.075	0.1	25	15
foxim	ES +	MRM	299	129	9.76	0.05	0.1	25	10
D ₆ -diuron	ES +	MRM	239	78	6.35	0.05	0.1	40	15
D ₆ -metolachlor	ES +	MRM	290		8.54	0.05	0.1	25	10
D ₆ -desethylatrazine	ES +	MRM	194		7.14	0.05	0.1	40	20
¹³ C-atrazine	ES +	MRM	219	177	6.13	0.05	0.1	40	20
D ₃ -BAM	ES +	MRM	193		2.98	0.075	0.1	40	20

UPLC-MS (ES- modus):

Polarity	ES-
Capillary (kV)	3.00
Cone (V)	Afhankelijk van de component
Extractor (V)	3.00
RF Lens (V)	0.1
Source Temperature (°C)	120
Desolvation Temperature (°C)	350
Drying gas (L/Hr)	800
Nebulising Gas Flow (L/Hr)	50
LM 1 Resolution	13.0
HM 1 Resolution	13.0
Ion Energy 1	0.3
Collision	20
LM 2 Resolution	14.0
HM 2 Resolution	14.0
Ion Energy 2	3.0
Multiplier (V)	650

Ionentransities

	mode		Parent ion	Daughter ion	rt	dwell time	span	cone V	Collision E
2,4,5-T	ES -	MRM	253	195	5.27	0.05	0.1	25	10
2,4-D	ES -	MRM	219	161	4.73	0.05	0.1	20	12
2,4-DB	ES -	MRM	247	161	5.78	0.05	0.1	20	13
bentazon	ES -	MRM	239	132	4.32	0.05	0.1	55	25
dichlorprop	ES -	MRM	233	161	5.30	0.05	0.1	20	10
fenoprop	ES -	MRM	267	195	5.78	0.05	0.1	20	6
dicamba	ES -	MRM	219						
fluroxypyr	ES -	MRM	253	195	3.87	0.05	0.1	20	12
MCPA	ES -	MRM	199	141	4.85	0.05	0.1	20	12
MCPB	ES -	MRM	227	141	5.81	0.05	0.1	20	5
mecoprop (MCP)	ES -	MRM	213	141	5.36	0.05	0.1	25	15
pentachloorfenol	ES -	SIM	265		7.10	0.05	0.1	40	
bromacil	ES -	MRM	261	205	4.02	0.05	0.1	30	20
propanil	ES -	MRM	218	162	5.52	0.05	0.1	38	15
D ₇ -bentazon	ES -	MRM	249		4.32	0.05	0.1	55	25
D ₃ -dicamba	ES -	MRM	222						

BIJLAGE 3 TYPISCHE INSTRUMENTELE DETECTIELIMIETEN IN µG/L

De onderstaande instrumentele detectielimieten zijn bekomen voor een oude HPLC-Quattro II (Micromass) (1) en een nieuwere UPLC-Quattro Premier (Waters)(2)

ES+

	(1)	(2)
atrazine	0,01	0,008
cyanazine	0,17	0,008
desethylatrazine	0,04	0,05
desisopropylatrazine	0,12	0,11
hexazinone	0,14	0,002
prometryn	0,01	0,010
propazine	0,01	0,001
sebuthylazine	0,01	0,07
simazine	0,12	0,01
terbutryn	0,01	0,002
terbuthylazine	0,01	0,009
alachlor	0,03	0,01
chlorotoluron	0,03	0,008
diuron	0,03	0,002
isoproturon	0,02	0,03
linuron	0,38	0,04
methabenzthiazuron	0,01	0,002
metobromuron	0,68	0,33
metazachlor	0,04	0,03
metolachlor	0,01	0,05
metoxuron	0,11	0,004
monolinuron	0,17	0,04
propachlor	0,09	0,01
chloridazon	0,06	0,002
carbendazim	0,02	0,006
carbetamide	0,33	0,01
chloorprofam	0,59	0,16
ethofumesate	0,54	1,2
metamitron	0,07	0,007
methabenzthiazuron	0,01	0,002
desethylterbutylazine	0,33	0,005
BAM (2,6-dichlorobenzamide)	0,15	0,05
azinfos-ethyl	0,05	0,03
azinfos-methyl	0,14	0,01
chlorfenvinphos	0,03	0,01
diazinon	0,12	0,007
dimethoaat	0,16	0,05
ethoprosfos	0,03	0,004
malathion	0,01	0,001
methidathion	0,05	0,02

mevinfos	0,43	0,04
pirimiphos-methyl	0,19	0,003
demeton	0,81	0,009
cumafos	0,02	0,57
triazophos	0,01	0,011
omethoat	0,15	0,003
oxydemeton-methyl	0,04	0,003
foxim	0,48	2,5

ES-

2,4,5-T	1,9	0,09
2,4-D	0,6	0,03
2,4-DB	3,4	0,04
bentazon	0,6	0,003
dichlorprop	0,5	0,08
fenoprop	4,9	0,15
fluroxypyr	1,2	0,09
MCPA	0,8	0,11
MCPB	2,6	0,14
mecoprop (MCP)	0,8	0,03
pentachloorfenol	0,1	0,25
bromacil	1,2	0,09
propanil	0,2	0,02