

## Specifieke bepaling van niet-ionogene surfactanten in water met LC-am-MS

## INHOUD

|          |                                                                                 |           |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>Doel en toepassingsgebied</b>                                                | <b>3</b>  |
| <b>2</b> | <b>Principe</b>                                                                 | <b>3</b>  |
| <b>3</b> | <b>Materiaal</b>                                                                | <b>3</b>  |
| <b>4</b> | <b>Reagentia en standaarden</b>                                                 | <b>4</b>  |
| <b>5</b> | <b>Monsterbewaring</b>                                                          | <b>4</b>  |
| <b>6</b> | <b>Voorbehandeling</b>                                                          | <b>4</b>  |
| <b>7</b> | <b>LC-MS Meting</b>                                                             | <b>5</b>  |
| 7.1      | LC-condities                                                                    | 5         |
| 7.2      | MS-condities                                                                    | 6         |
| 7.3      | Identificatie en integratie                                                     | 8         |
| 7.4      | Kalibratie en kwantificatie                                                     | 8         |
| 7.5      | Gehalte van de surfactanten in het watermonster                                 | 9         |
| <b>8</b> | <b>Kwaliteitscontrole</b>                                                       | <b>10</b> |
| 8.1      | Responslineariteit                                                              | 10        |
| 8.2      | Instrumentele detectielimieten                                                  | 10        |
| 8.3      | Controle op de kalibratie                                                       | 10        |
| 8.4      | Procedureblanco                                                                 | 10        |
| 8.5      | QC monster                                                                      | 10        |
| 8.6      | Duplobepaling                                                                   | 11        |
| 8.7      | Matrixadditie                                                                   | 11        |
| <b>9</b> | <b>Veiligheid</b>                                                               | <b>11</b> |
|          | <b>BIJLAGE 1: Voorbeeld van kalibratiereeks voor niet-ionogene surfactanten</b> | <b>12</b> |
|          | <b>BIJLAGE 2: Chromatogram en massaspectrum voor nonylfenoethoxylaate</b>       | <b>13</b> |
|          | <b>BIJLAGE 3: Chromatogram en massaspectrum voor cocamide MEA</b>               | <b>14</b> |

## 1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure beschrijft een methode voor de extractie, zuivering en analyse van de meest voorkomende niet-ionogene surfactanten, met name:

- alcoholethoxylaten (AEO)
- alkylfenoethoxylaten (APEO)
- alkanolamides

De methode is toepasbaar op drink-, grond-, oppervlakte- en afvalwater vanaf een concentratie van 10 µg/l.

*Opmerkingen:*

- de meest voorkomende AEO zijn C10 tot C16 alcoholen met 0 tot 9 ethyleenoxide-eenheden; een AEO is steeds een mengsel van polyethoxylaatzet verbindingen met verschillende polymerisatiegraad; een C13-EO<sub>12</sub> bv. staat voor een tridecylalcoholethoxylaatzet (polyoxyethylene tridecyl ether, polyethylene glycol tridecyl ether) met gemiddelde polymerisatiegraad 12
- de meest voorkomende APEO zijn C8 en C9 fenolen met 1 tot 20 ethyleenoxide-eenheden; een APEO is steeds een mengsel van polyethoxylaatzet verbindingen met verschillende polymerisatiegraad; een C9P-EO<sub>12</sub> bv. staat voor een nonylfenoethoxylaatzet (polyoxyethylene nonylphenyl ether, polyethylene glycol nonylphenyl ether) met gemiddelde polymerisatiegraad 12
- de meest voorkomende alkanolamides zijn cocamide monoethanolamide (MEA), diethanolamide (DEA) en monoisopropanolamide (MIPA); cocamide is een mengsel van verzadigde even C8 tot C18 vetzuuramides
- vetzuuresterethoxylaten worden niet bepaald omwille van de snelle degradatie in water

## 2 PRINCIPE

Waterstalen worden verdund door toevoeging van een gelijke hoeveelheid acetonitrile. De oplossingen worden vervolgens gefiltreerd over een 0,45 µm membraanfilter ofwel gecentrifugeerd. Het filtraat wordt overgebracht naar een meetvial en geanalyseerd met vloeistofchromatografie met accurate massa massaspectrometrische detectie. Het gehalte aan niet-ionogene surfactanten wordt bepaald aan de hand van externe kalibratie.

## 3 MATERIAAL

- Gebruikelijk laboratoriumglaswerk
- Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg
- Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
- LC-MS bestaande uit:
  - o een LC-systeem (hoge druk of ultra hoge druk) met injectie-automaat, vloeistofpomp, gethermostatiseerde kolom en ontgassingseenheid

- een hoge resolutie massaspectrometer, time-of-flight (TOF) of Orbitrap Fourier Transform, met electrospray interface
  - een datastation voor de instelling van de instrumentele settings, de data-acquisitie en de data-analyse
- LC-kolom: een reversed phase kolom met een C18-fase, bv. XTerra C18, 100 x 2.1 mm, 3.5 µm of Acquity BEH C18 100 x 2.1 mm, 1.7 µm of gelijkwaardig.

#### 4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

- Methanol: bv. Merck 'gradiënt grade, for liquid chromatography'
- Acetonitrile: bv. Merck 'gradiënt grade, for liquid chromatography'
- Water: ultrapuur
- Azijnzuur : bv. Merck p.a.
- Ammoniumacetaat: bv. Merck 99,999 %
- Stockstandaarden van bovenvermelde niet-ionogene surfactanten: vaste en vloeibare producten van ChemService of andere leveranciers, bv. AEO C12, AEO C13, AEO C16, AEO C18, APEO C8, APEO C9, APEO C12, cocamide MEA, cocamide DEA en cocamide MIPA; verifieer de zuiverheid aan de hand van een LC-chromatogram en MS spectrum; bepaal ook het droge stof gehalte; maak hiervan oplossingen in methanol/water 1/1 voor het vastleggen van de retentietijdsgebieden
- Kalibratiestockstandaardoplossingen: maak uitgaande van de zuivere producten van AEO C12, APEO C9, cocamide MEA, cocamide DEA en cocamide MIPA een verdunning van 200 mg/l in methanol
- Kalibratiewerkstandaarden: maak uitgaande van de bovenstaande stockstandaardoplossingen een reeks verdunningen met concentraties lopende van ca 50 tot 2500 µg/l in methanol/water 1/1 (zie voorbeeld in bijlage 1)
- Kalibratiecontrolestandaard: deze bevat de bovenstaande surfactanten in een concentratie van ca 1 mg/l in methanol/water 1/1  
*Opmerking:* De kalibratiewerkstandaarden zijn maximaal 1 maand houdbaar.
- Additiestockstandaardoplossing: maak uitgaande van de zuivere producten van AEO C12, AEO C13, AEO C16, AEO C18, APEO C8, APEO C9, APEO C12, cocamide MEA, cocamide DEA en cocamide MIPA een verdunning van 200 mg/l in methanol
- QC referentiestockoplossing; dit is een door VITO ter beschikking gestelde onafhankelijke standaardoplossing in methanol die een aantal AEO, APEO en alkanolamides bevat in een concentratie van 200 mg/L.
- QC-referentiemonster: maak uitgaande van de QC-referentie stockoplossing een verdunning in water/ACN 1/1 van 1 mg/L

#### 5 MONSTERBEWARING

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

#### 6 VOORBEHANDELING

Waterstalen die zwevend materiaal bevatten, worden voor de deelmonsternamen gehomogeniseerd door opschudden. De deelmonsters worden voorafgaandelijk aan de filtratie

tweemaal verdund door toevoeging van een gelijke hoeveelheid acetonitrile (deze verdunningsstap vervalt indien aan het monster reeds ter bewaring een gelijke hoeveelheid acetonitrile werd toegevoegd); typisch wordt aan 10 ml waterstaal 10 ml acetonitrile toegevoegd. De filtratie wordt uitgevoerd met een 0,45 µm membraanfilter. Alternatief kan gekozen worden voor ultracentrifugatie.

De verdunning met acetonitrile verhindert de adsorptie van niet-ionogene surfactanten aan zowel zwevend materiaal in het monster als aan de membraanfilter. 1 ml van het filtraat wordt overgebracht in een meetvial en hiervan wordt een deel geïnjecteerd in de LC-MS.

*Opmerking:*

- Controleer vooraf of het gekozen filtreermateriaal vrij is van surfactanten
- De bepaling van niet-ionogene surfactanten met deze LC-MS methode is voldoende gevoelig, zodat er geen nood is aan opconcentreren.

## 7 LC-MS METING

### 7.1 LC-CONDITIES

Geschikte LC-instellingen zijn bij wijze van voorbeeld hieronder opgenomen. Andere LC-instellingen kunnen tot vergelijkbare resultaten leiden.

Van de monsterextracten wordt typisch 5 µl in de LC-MS geïnjecteerd. Elk monster wordt minstens in duplo gemeten (zie ook 8.6).

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

Een voorbeeld van een geschikte UPLC kolom is Acquity BEH C18, 100 mm × 2,1 mm × 1.7 µm

De kolomtemperatuur bedraagt 40°C.

De samenstelling van de gradiënt is:

A = water + 20 mM NH<sub>4</sub>Ac+0.1% azijnzuur

B = ACN/MeOH (1/1) + 20mM NH<sub>4</sub>Ac +0.1% azijnzuur

De gradiënt is als volgt geprogrammeerd:

| Tijd (min) | A %  | B %   | Debiet (ml/min) |
|------------|------|-------|-----------------|
| 0,00       | 50,0 | 50,0  | 0,40            |
| 9,00       | 0    | 100,0 | 0,40            |
| 11,00      | 0    | 100,0 | 0,40            |
| 11,10      | 50,0 | 50,0  | 0,40            |
| 15,00      | 50,0 | 50,0  | 0,40            |

Typische retentietijden voor de verschillende niet-ionogene surfactanten bekomen op een Acquity UPLC BEH C18 kolom zijn opgenomen in tabel 1.

*Opmerking:* Aan de mobiele fase wordt 20 mM NH<sub>4</sub>Ac toegevoegd om de vorming van NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-adducten van AEO en APEO te bevorderen.

## 7.2 MS-CONDITIES

De ionisatie gebeurt via electrospray, met acquisitie van de gevormde ionen in positieve modus (ES+).

De MS opname gebeurt met volgende typische instellingen:

Scan range: 100 – 1000 m/z  
Resolution: 10.000 of hoger  
Lock mass: 391.28428  
Sheat gas flow rate: 60 ml/min  
Aux gas flow rate: 30 ml/min  
Spray voltage: 3500 V  
Capillary temp.: 350°C  
Capillary voltage: 38 V  
Tube lens voltage: 120 V  
Skimmer voltage: 21V

De identificatie en kwantificatie van de surfactanten gebeuren op basis van de exacte massa's opgenomen in tabel 1.

De dataverwerking gebeurt met de software van het apparaat.

Voorbeelden van UPLC-MS chromatogramen zijn voor APEO C8 en cocamide MEA opgenomen in bijlage 2, samen met de typische MS spectra. Spectra van AEO en APEO worden gekenmerkt door een gaussiaanse verdeling van pieken gescheiden door 44 massa-eenheden, overeenkomend met de massa van ethyleenoxide. De scheiding van niet-ionogene surfactanten op een omgekeerde fase kolom gebeurt op basis van de alkyl(fenol)ketenlengte en is quasi onafhankelijk van de polyethoxylaatketenlengte. Vertakte alkylketens vertonen minder retentie dan lineaire ketens.

Tabel 1: m/z waarden voor niet-ionogene surfactanten

| surfactant       | structuur                                                                                                         | retentietijd (min)                  | m/z ([M+H] <sup>+</sup> of [M-NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> )                                                                                                                    |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| cocamide MEA     | mengsel                                                                                                           | 2,31, 4,23, 6,14, 7,68, 8,9, 9,9    | 188,16451, 216,19581, 244,22711, 272,25841, 300,28971, 328,32101                                                                                                                  |
| cocamide DEA     | mengsel                                                                                                           | 2,23, 4,12, 5,98, 7,51, 8,74, 9,74  | 232,19072, 260,22202, 288,25332, 316,28462, 344,31592, 372,34722                                                                                                                  |
| cocamide MIPA    | mengsel                                                                                                           | 2,62, 4,59, 6,42, 7,89, 9,08, 10,05 | 202,18016, 230,21146, 258,24276, 286,27406, 314,30536, 342,33666                                                                                                                  |
| APEO C6          | C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH  | 6,67                                | 328,24883, 372,27504, 416,30125, 460,32746, 504,35367, 548,37988, 592,40609, 636,4323, 680,45851, 724,48472, 768,51093, 812,53714, 856,56335, 900,58956, 944,61577, 988,64198     |
| APEO C7          | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH  | 7,21                                | 342,26449, 386,2907, 430,31691, 474,34312, 518,36933, 562,39554, 606,42175, 650,44796, 694,47417, 738,50038, 782,52659, 826,5528, 870,57901, 914,60522, 958,63143, 1002,65764     |
| APEO C8          | C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH  | 7,5                                 | 356,28015, 400,30636, 444,33257, 488,35878, 532,38499, 576,64112, 620,43741, 664,46362, 708,48983, 752,51604, 796,54225, 840,56846, 884,59467, 928,62088, 972,64709, 1016,6733    |
| APEO C9          | C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH  | 8,14                                | 370,29581, 414,32202, 458,34823, 502,37444, 546,40065, 590,42686, 634,45307, 678,47928, 722,50549, 766,5317, 810,55791, 854,58412, 898,61033, 942,63654, 986,66275, 1030,68896    |
| APEO C10         | C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 8,58                                | 384,31147, 428,33768, 472,36389, 516,3901, 560,41631, 604,44252, 648,46873, 692,49494, 736,52115, 780,54736, 824,57357, 868,59978, 912,62599, 956,6522, 1000,67841, 1044,70462    |
| APEO C11         | C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 8,89                                | 398,32713, 442,35334, 486,37955, 530,40576, 574,43197, 618,45818, 662,48439, 706,5106, 750,53681, 794,56302, 838,58923, 882,61544, 926,64165, 970,66786, 1014,69407, 1058,72028   |
| APEO C12         | C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 9,28                                | 412,34279, 456,369, 500,39521, 544,42142, 588,44763, 632,47384, 676,50005, 720,52626, 764,55247, 808,57868, 852,60489, 896,6311, 940,65731, 984,68352, 1028,70973, 1072,73594     |
| APEO C13         | C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 9,56                                | 426,35845, 470,38466, 514,41087, 558,43708, 602,46329, 646,4895, 690,51571, 734,54192, 778,56813, 822,59434, 866,62055, 910,64676, 954,67297, 998,69918, 1042,72539, 1086,7516    |
| APEO C14         | C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 9,92                                | 440,37411, 484,40032, 528,42653, 572,45274, 616,47895, 660,50516, 704,53137, 748,55758, 792,58379, 836,61, 880,63621, 924,66242, 968,68863, 1012,71484, 1056,74105, 1100,76726    |
| APEO C15         | C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 10,18                               | 454,38977, 498,41598, 542,44219, 586,4684, 630,49461, 674,52082, 718,54703, 762,57324, 806,59945, 850,62566, 894,65187, 938,67808, 982,70429, 1026,7305, 1070,75671, 1114,78292   |
| APEO C16         | C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 10,39                               | 468,40543, 512,43164, 556,45785, 600,48406, 644,51027, 688,53648, 732,56269, 776,5889, 820,61511, 864,64132, 908,66753, 952,69374, 996,71995, 1040,74616, 1084,77237, 1128,79858  |
| APEO C17         | C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 10,94                               | 482,42109, 526,4473, 570,47351, 614,49972, 658,52593, 702,55214, 746,57835, 790,60456, 834,63077, 878,65698, 922,68319, 966,7094, 1010,73564, 1054,76182, 1098,78803, 1142,81424  |
| APEO C18         | C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 11,34                               | 496,43675, 540,46296, 584,48917, 628,51538, 672,54159, 716,5678, 760,59401, 804,62022, 848,64643, 892,67264, 936,69885, 980,72506, 1024,75127, 1068,77748, 1112,80369, 1156,8299  |
| APEO C19         | C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH | 11,61                               | 510,45241, 554,47862, 598,50483, 642,53104, 686,55725, 730,58346, 774,60967, 818,63588, 862,66209, 906,6883, 950,71451, 994,74072, 1038,76693, 1082,79314, 1126,81935, 1170,84556 |
| AEO C10          | C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 7,36                                | 308,28017, 352,30638, 396,33259, 440,3588, 484,38501, 528,41122, 572,43743, 616,46364, 660,48985, 704,51606, 748,54227, 792,56848, 836,59469, 880,6209, 924,64711, 968,67332      |
| AEO C10 branched | C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 7,08                                | 308,28017, 352,30638, 396,33259, 440,3588, 484,38501, 528,41122, 572,43743, 616,46364, 660,48985, 704,51606, 748,54227, 792,56848, 836,59469, 880,6209, 924,64711, 968,67332      |
| AEO C11          | C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 8,02                                | 322,29583, 366,32204, 410,34825, 454,37446, 498,40067, 542,42688, 586,45309, 630,4793, 674,50551, 718,53172, 762,55793, 806,58414, 850,61035, 894,63656, 938,66277, 982,68898     |
| AEO C11 branched | C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 7,63                                | 322,29583, 366,32204, 410,34825, 454,37446, 498,40067, 542,42688, 586,45309, 630,4793, 674,50551, 718,53172, 762,55793, 806,58414, 850,61035, 894,63656, 938,66277, 982,68898     |
| AEO C12          | C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 8,62                                | 336,31149, 380,3377, 424,36391, 468,39012, 512,41633, 556,44254, 600,46875, 644,49496, 688,52117, 732,54738, 776,57359, 820,5998, 864,62601, 908,65222, 952,67843, 996,70464      |
| AEO C12 branched | C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 8,1                                 | 336,31149, 380,3377, 424,36391, 468,39012, 512,41633, 556,44254, 600,46875, 644,49496, 688,52117, 732,54738, 776,57359, 820,5998, 864,62601, 908,65222, 952,67843, 996,70464      |
| AEO C13          | C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 9,14                                | 350,32715, 394,35336, 438,37957, 482,40578, 526,43199, 570,4582, 614,48441, 658,51062, 702,53683, 746,56304, 790,58925, 834,61546, 878,64167, 922,66788, 966,69409, 1010,7203     |
| AEO C13 branched | C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 8,52                                | 350,32715, 394,35336, 438,37957, 482,40578, 526,43199, 570,4582, 614,48441, 658,51062, 702,53683, 746,56304, 790,58925, 834,61546, 878,64167, 922,66788, 966,69409, 1010,7203     |
| AEO C14          | C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 9,61                                | 364,34281, 408,36902, 452,39523, 496,42144, 540,44765, 584,47386, 628,50007, 672,52628, 716,55249, 760,5787, 804,60491, 848,63112, 892,65733, 936,68354, 980,70975, 1024,73596    |
| AEO C14 branched | C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 8,94                                | 364,34281, 408,36902, 452,39523, 496,42144, 540,44765, 584,47386, 628,50007, 672,52628, 716,55249, 760,5787, 804,60491, 848,63112, 892,65733, 936,68354, 980,70975, 1024,73596    |
| AEO C15          | C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 10,06                               | 378,35847, 422,38468, 466,41089, 510,4371, 554,46331, 598,48952, 642,51573, 686,54194, 730,56815, 774,59436, 818,62057, 862,64678, 906,67299, 950,6992, 994,72541, 1038,75162     |
| AEO C15 branched | C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 9,2                                 | 378,35847, 422,38468, 466,41089, 510,4371, 554,46331, 598,48952, 642,51573, 686,54194, 730,56815, 774,59436, 818,62057, 862,64678, 906,67299, 950,6992, 994,72541, 1038,75162     |
| AEO C16          | C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 10,46                               | 392,37413, 436,40034, 480,42655, 524,45276, 568,47897, 612,50518, 656,53139, 700,5576, 744,58381, 788,61002, 832,63623, 876,66244, 920,68865, 964,71486, 1008,74107, 1052,76728   |
| AEO C18          | C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH                               | 11,4                                | 420,40545, 464,43166, 508,45787, 552,48408, 596,51029, 640,5365, 684,56271, 728,58892, 772,61513, 816,64134, 860,66755, 904,69376, 948,71997, 992,74618, 1036,77239, 1080,7986    |

### 7.3 IDENTIFICATIE EN INTEGRATIE

Extraheer voor elke surfactant uit tabel 1 het overeenstemmende ionchromatogram op basis van de gesommeerde ionen.

De identificatiecriteria zijn:

- het voorkomen van pieken met een signaal-ruisverhouding groter dan 6 en met een retentietijd overeenkomstig met deze uit tabel 1
- van elke LC-piek wordt het geregistreerde spectrum weergegeven; een positieve identificatie van AEO en APEO gebeurt op basis van het voorkomen van een regelmatige verdeling van ionen in het massaspectrum, waarbij de ionen gescheiden zijn met 44 massa-eenheden

In bijlage 2 en 3 zijn bij wijze van voorbeeld de chromatogrammen en massaspectra voor resp. nonylfenoethoxylaate en cocamide MEA weergegeven.

Bepaal van elke geïdentificeerde piek de oppervlakte.

Ga voor de kalibratiestandaarden (APEO C9, AEO C12 en de alkanolamides) op dezelfde manier te werk.

*Opmerkingen:*

- gezien de samenstelling van de mobiele fase worden in geval van AEO en APEO voornamelijk ammonium adducten gemeten
- in geval van lange ethoxylaatketenlengtes (>C20) kunnen ook dikationen waargenomen worden; deze zijn gescheiden met  $\Delta m/z = 22$ ; deze ionen worden niet in rekening gebracht
- in het chromatogram kunnen andere pieken aangetroffen worden met een regelmatig  $\Delta m/z$  44 of  $\Delta m/z$  22 patroon zonder dat deze toegewezen kunnen worden aan de APEO of AEO uit tabel 1; het betreft in dit geval andere niet-ionogene surfactanten zoals onverzadigde AEO, gehydrogeneerde APEO of vetzuuresterethoxylaten

### 7.4 KALIBRATIE EN KWANTIFICATIE

De kwantificatie gebeurt met de externe standaardmethode, waarbij de gehalten van de gedetecteerde APEO, AEO en alkanolamides berekend worden aan de hand van de uit de kalibratiereeks bekomen kalibratiecoëfficiënten. AEO worden gekwantificeerd t.o.v. AEO C12, APEO t.o.v. APEO C9, alkanolamides t.o.v. de overeenkomstige standaarden.

De kalibratie omvat de injectie van minstens 5 standaardoplossingen die de te bepalen surfactantstandaarden bevatten in oplopende concentraties (zie voorbeeld in bijlage 1). De kalibratievergelijking heeft gewoonlijk een lineair verloop:

$$A_i = aC_i + b$$

met

- $A_i$  = de gemeten piekoppervlakte voor de surfactant i in de standaardoplossing  
 $C_i$  = de concentratie van de surfactant i in  $\mu\text{g/l}$  in de standaardoplossing



De gemeten piekoppervlakten worden voor elke te bepalen surfactant uitgezet i.f.v. van de concentratie. De coëfficiënten  $a$  (helling of reponsfactor) en  $b$  (afgesneden stuk) worden bepaald door lineaire regressie met inbegrip van het punt (0,0) en met  $1/X$  weging (dit gebeurt al dan niet automatisch met de software van het apparaat).

De correlatiecoëfficiënt dient  $> 0.994$ . Het werkgebied wordt bepaald door de concentraties waarvoor de residuele afwijking tot de rechte  $< 30\%$ .

De berekening van de kalibratiecurve gebeurt bij elke analysereeks. Om een aantal monsterinjecties (bv. 6) wordt de geldigheid van de kalibratierechte gecontroleerd door injectie van een kalibratiecontrolestandaard.

## 7.5 GEHALTE VAN DE SURFACTANTEN IN HET WATERMONSTER

De concentraties in het monster worden vervolgens berekend als volgt:

$$C_i(\text{monster}) = \left( \frac{A_i - b}{a} \right) * vf$$

met

|                       |   |                                                                                   |
|-----------------------|---|-----------------------------------------------------------------------------------|
| $C_i(\text{monster})$ | = | de concentratie van de surfactantverbinding $i$ in het monster in $\mu\text{g/l}$ |
| $A_i$                 | = | de gemeten piekoppervlakte voor de surfactantverbinding $i$ in het monsterextract |
| $a$ en $b$            | = | de coëfficiënten van de kalibratievergelijking                                    |
| $vf$                  | = | de verdunningsfactor (gewoonlijk 2)                                               |

De gemiddelde waarde van de duplo of meervoudige bepaling wordt gerapporteerd.

Het totaal gehalte niet-ionogene surfactanten wordt tenslotte berekend door de sommatie van de gehalten van de gedetecteerde surfactanten:

$$C_{\text{totaal}} = \sum C_i$$

### Opmerkingen:

- Bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied dient voor de bepaling van de betrokken surfactantverbinding het extract verdund te worden met ACN/water 1/1 en opnieuw gemeten.
- In geval van zwaar beladen monsters (dit kan afgeleid worden uit het *total ion chromatogram*) kan het signaal van de surfactanten beïnvloed zijn door coëlutie met matrixcomponenten waarbij meestal ionisatiesuppressie maar soms ook ionisatieversterking optreedt. Een controle op de aanwezigheid van matrixeffecten kan gebeuren met behulp van standaardadditie (zie ook hieronder 8.7 matrixadditie). Aan het monsterextract worden a.d.h.v. de additiestockstandaard gekende hoeveelheden surfactanten aan het monster toegevoegd in de verwachte concentratie(s) en de terugvindingen worden bepaald o.b.v. de gemeten oppervlakten bekomen met en zonder additie. De terugvindingen moet gelegen zijn tussen 70-130%. In het andere geval dient voor de terugvinding gecorrigeerd te worden of wordt in het rapport aangegeven dat het gehalte mogelijk overschat resp. onderschat is.

## 8 KWALITEITSCONTROLE

### 8.1 RESPONSLINEARITEIT

Voor de werkwijze voor de bepaling van de lineariteit wordt verwezen naar de validatieprocedure 6/A van het CMA. 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.

### 8.2 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 surfactantstandaard de kleinste meetbare concentratie bepaald, gedefinieerd als:

$$DL(instr) = 3 * RG * conc/PH$$

met

|           |                                                                                                |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DL(instr) | = de instrumentele detectielimiet in µg/l                                                      |
| RG        | = de "peak-to-peak" ruishoogte aan de voet van de chromatogrampiek van de surfactantverbinding |
| PH        | = de piekhoogte van de surfactantverbinding                                                    |
| C         | = concentratie van de surfactantverbinding in de kalibratie-oplossing in µg/l                  |

De instrumentele detectielimieten moeten van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrenzen kunnen gehaald worden. Een streefwaarde is 50 µg/l voor elke surfactant.

### 8.3 CONTROLE OP DE KALIBRATIE

Om een welbepaald aantal monsters (bv. 6) wordt de geldigheid van de kalibratievergelijking gecontroleerd. Hiertoe wordt één van de standaardoplossingen uit de kalibratiereeks opnieuw geïnjecteerd. De concentraties in de oplossing worden berekend met de kalibratievergelijking en mogen niet meer dan 15% afwijken van de werkelijke concentraties. Indien de afwijking groter is dan 15% dient een herkalibratie te gebeuren met inzetten van de volledige kalibratiereeks.

### 8.4 PROCEDUREBLANCO

Bij elke analysereeks wordt tenminste één procedureblanco bepaald. Hierbij wordt de volledige analyseprocedure gevolgd, doch zonder inname van monster.

M.b.t. de blancobijdrage worden volgende regels gehanteerd:

- voor monsterwaarden groter dan 5 maal de rapporteergrens: de chromatogrammen dienen vrij te zijn van pieken in een concentratie groter dan 10% van de monsterwaarde
- voor monsterwaarden kleiner dan 5 maal de rapporteergrens: de chromatogrammen dienen vrij te zijn van pieken in een concentratie groter dan de helft van de rapporteergrens.

### 8.5 QC MONSTER

Om de terugvinding en de reproduceerbaarheid te controleren wordt bij elke meetreeks het QC referentiemonster geanalyseerd. De terugvindingen moeten gelegen zijn tussen 75% en 125%. De

gehalten worden opgetekend in controlekaarten en de opgetekende waarden worden getoetst aan de voor controlekaarten geldende criteria.

#### **8.6 DUPLOBEPALING**

Elk monster wordt in 2-voud opgewerkt en gemeten. De bekomen gehalten mogen niet meer dan 20% van mekaar afwijken.

#### **8.7 MATRIXADDITIE**

Aan een deel van het watermonster wordt een gekende hoeveelheid van de additiestockstandaard toegevoegd. Het monster worden opgewerkt en gemeten en de terugvindingen worden bepaald, rekening houdend met het oorspronkelijk aanwezige gehalte. De terugvindingen dienen gelegen te zijn tussen 70 en 130% (dit criterium geldt voor addities die minstens het in het monster aanwezige gehalte bedragen). Bij afwijkende terugvindingen dient het gehalte bepaald te worden a.d.h.v. standaardadditie.

### **9 VEILIGHEID**

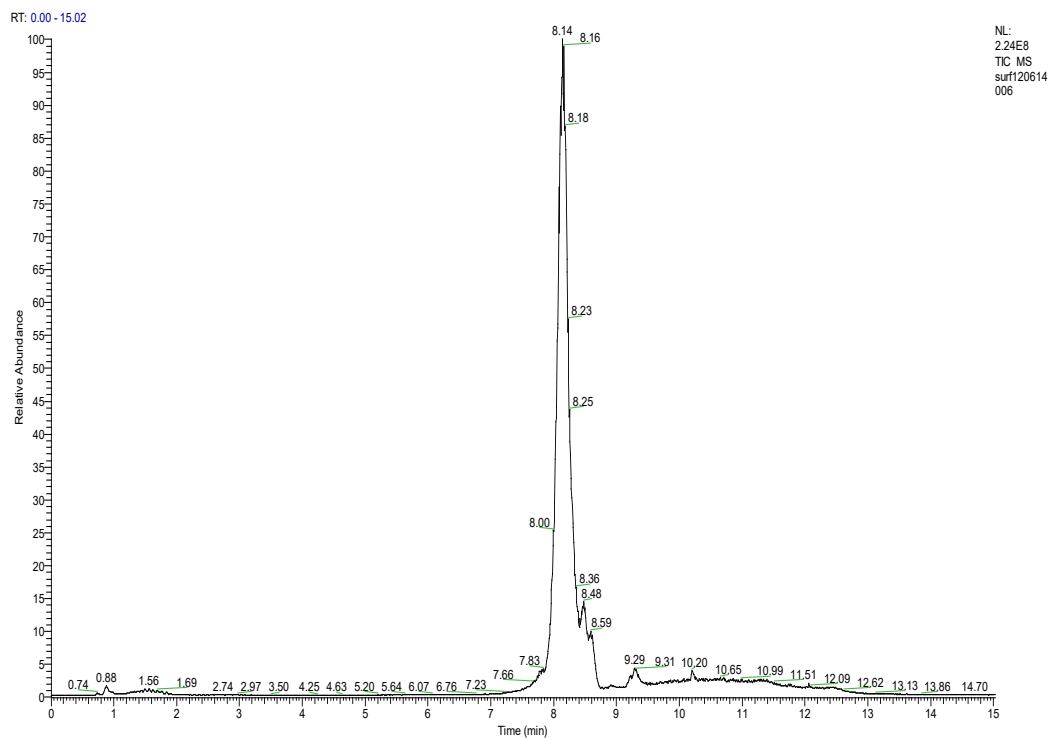
De scheikundige producten die bij deze analysemethode gebruikt worden, zijn ondergebracht bij de potentieel giftige en kankerverwekkende stoffen. Dit maakt het noodzakelijk de voorziene maatregelen in het laboratorium toe te passen om blootstelling aan of contact met deze producten tot een minimum te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

**BIJLAGE 1: VOORBEELD VAN KALIBRATIEREEKS VOOR NIET-IONOGENE SURFACTANTEN**

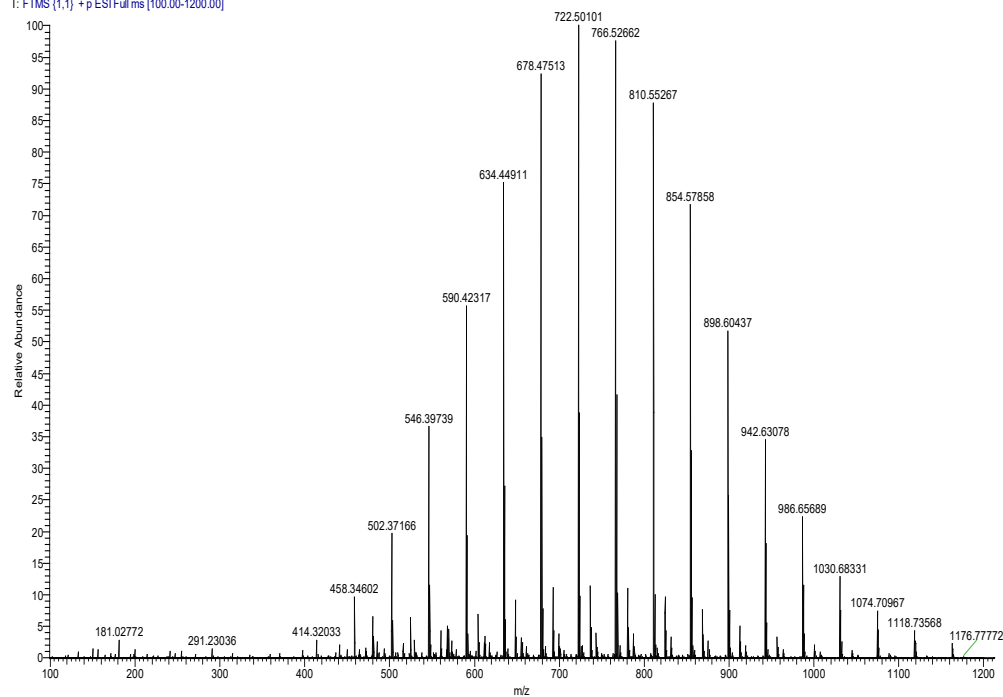
Meetoplossingen in 50/50 MeOH/water, in µg/l

| Surfactant    | St1  | St2 | St3 | St4 | St5 |
|---------------|------|-----|-----|-----|-----|
| APEO C9       | 2578 | 537 | 255 | 127 | 54  |
| AEO C12       | 1405 | 293 | 139 | 69  | 29  |
| Cocamide MEA  | 2811 | 586 | 278 | 138 | 59  |
| Cocamide DEA  | 2576 | 537 | 255 | 127 | 54  |
| Cocamide MIPA | 2530 | 527 | 250 | 124 | 53  |

## BIJLAGE 2: CHROMATOGRAM EN MASSASPECTRUM VOOR NONYLFENOLETHOXYLAAT



surf120614006 #682-804 RT: 7.75-8.70 AV: 123 NL: 3.11E6  
T: FTMS (1,1) +p ESI Full ms [100.00-1200.00]



### BIJLAGE 3: CHROMATOGRAM EN MASSASPECTRUM VOOR COCAMIDE MEA

