

Bepaling van gehalogeneerde azijnzuren (HAA's) in water

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	3
3	Materiaal	3
4	Reagentia en standaarden	4
5	Monsterbewaring	5
6	Voorbehandeling	5
7	Meting	5
7.1	<i>Meetcondities</i>	5
7.2	<i>Identificatie en integratie</i>	6
7.3	<i>Kalibratie en kwantificatie</i>	7
8	Kwaliteitscontrole	7
8.1	<i>Terugvinding van de interne standaarden</i>	7
8.2	<i>QC monster</i>	7
9	Veiligheid	Error! Bookmark not defined.
BIJLAGE 1: VOORBEELD VAN MEETCONDITIES IC-ESI-MS/MS		8
BIJLAGE 2: VOORBEELD VAN MEETCONDITIES LC-MS/MS		9

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure is nieuw en beschrijft een methode voor de analyse van 5 gehalogeneerde azijnzuren (HAA's), met name:

Naam	Afkorting	CAS-nr
Monochloorazijnzuur	MCAA	79-11-8
Monobroomazijnzuur	MBAA	79-08-3
Dichloorazijnzuur	DCAA	79-43-6
Dibroomazijnzuur	DBAA	631-64-1
Trichloorazijnzuur	TCAA	76-03-9

De methode is toepasbaar op drinkwater; afhankelijk van de toegepaste analysetechniek ligt de bepalingsgrens tussen 1 en 10 µg/l per component.

Met de methode kunnen optioneel ook volgende verbindingen bepaald worden:

Naam	Afkorting	CAS-nr
Broomchloorazijnzuur	BCAA	5589-96-8
Chloordibroomazijnzuur	CDBAA	5278-95-5
Broomdichloorazijnzuur	BDCAA	71133-14-7
Tribroomazijnzuur	TBAA	75-96-7
2,2-Dichloropropaanzuur (Dalapon)	DCPA	75-99-0

2 PRINCIPE

De waterstalen worden na additie van isotoopgemerkte interne standaarden rechtstreeks geanalyseerd (directe injectie). De analyse gebeurt ofwel met behulp van een ionenchromatograaf gekoppeld aan een electrospray tandem massaspectrometer (IC-ESI-MS/MS) ofwel met behulp van een vloeistofchromatograaf gekoppeld aan een tandem massaspectrometer (LC-MS/MS). De HAA's worden gekwantificeerd met de interne standaard methode.

3 MATERIAAL

- Gebruikelijk laboratoriumglaswerk
- Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg
- Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
- Injectiespuiten of micropipetten voor de additie van isotoopgemerkte HAA's of van natieve HAA's (matrixaddities)
- Meetvials

In geval van IC-ESI-MS/MS:

- Een ionenchromatograaf met een injectie-automaat met gethermostatiseerd vial compartiment, een vloeistofpomp, een gethermostatiseerde kolom (die kan verwarmen en koelen) en een ontgassingseenheid.
- IC-kolom: bv. Dionex IonPac AS24A (2 x 250 mm), voorzien van een Guard kolom.
Opmerking: eventueel kan voor de Guard-kolom nog een extra voorkolom (type metal-free MCF) geplaatst worden ter bescherming tegen sommige metaalionen zoals Al en Fe.
- Een tandem quadrupool massaspectrometer met electrospray ionisatiekamer.
- Een datastation voor de instelling van de instrumentele settings, de data-acquisitie en de data-analyse.

In geval van LC-MS/MS:

- Een UPLC vloeistofchromatograaf met een injectie-automaat met gethermostatiseerd vial compartiment, een vloeistofpomp, een gethermostatiseerde kolom en een ontgassingseenheid.
- LC-kolom: bv. Waters Atlantis T3 kolom (4.6 x 100 mm – 3 µm) of Agilent InfinityLab Poroshell 120 Aq-C18 (2.1 x 150 mm - 2.7 µm) of gelijkwaardig.
- Een tandem quadrupool massaspectrometer met electrospray ionisatiekamer.
- Een datastation voor de instelling van de instrumentele settings, de data-acquisitie en de data-analyse.

4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

- Methanol (MeOH): gradient grade
- Acetonitrile: gradiënt grade
- Water: ultrapuur
- Mierenzuur: p.a.
- Ammoniumchloride: p.a. (conserveringsmiddel)
- Natriumbicarbonaat: p.a.
- Natriumchloride: p.a.
- Natriumnitraat: p.a.
- Natriumsulfaat: p.a.
- Interne standaarden: minstens de volgende 3 interne standaarden worden gebruikt: ¹³C₂-monochloorazijnzuur, ¹³C₂-monobroomazijnzuur, ¹³C₂-dichloorazijnzuur.
Opmerking: 13C-trichloorazijnzuur mag niet gebruikt worden, omwille van bijdrage op het ion van natief trichloorazijnzuur.
- Stockstandaarden natieve HAA's: van elke HAA wordt, uitgaande van zuiver vast product of van een aangekochte oplossing, een stockoplossing van bv. 1000 µg/ml in MeOH bereid.
- Mengstandaard natieve HAA's: uitgaande van de stockstandaarden wordt een mengstandaard gemaakt in MTBE die bv. 20 µg/ml bevat van elke HAA.
Opmerking: alternatief kan gebruik gemaakt worden van in de handel verkrijgbare HAA-oplossingen.
- Stockstandaarden interne standaarden: van elke 13C-gelabelde HAA wordt, uitgaande van zuiver vast product of van een aangekochte oplossing, een stockoplossing van bv. 1000 µg/ml in MeOH bereid.
- Mengstandaard interne standaarden: uitgaande van de stockstandaarden van 13C-HAA's wordt een mengstandaard gemaakt in MTBE die bv. 100 µg/ml bevat van elke 13C-HAA.

Opmerking: alternatief kan gebruik gemaakt worden van in de handel verkrijgbare ¹³C-HAA-oplossingen.

- Kalibratiewerkstandaarden: maak uitgaande van de mengstandaarden een reeks van minstens 4 verdunningen (bij kwadratische kalibratie: 5 verdunningen) in ultrapuur water dat 100 mg/l ammoniumchloride bevat (conserveringsmiddel). Voor de bepaling met LC-MS/MS wordt eveneens 2% mierenzuur toegevoegd. De concentraties van de natieve HAA's variëren van bv. 0.5 tot 50 µg/l en de concentraties van de interne standaarden zijn constant, bv. 5 µg/l.

Opmerkingen:

- o *de kalibratiewerkstandaarden zijn 2 weken houdbaar indien bewaard in de koelkast in glazen vials met teflon-lined septa.*
- Stockoplossing QC-Matrix (voor aanmaak van het controlestaal): los op in 0.5 l ultrapuur water: 500 mg ammoniumchloride, 137 mg natriumnitraat, 1030 mg natriumbicarbonaat, 2060 mg natriumchloride en 1850 mg natriumsulfaat.
- Werkoplossing QC-Matrix (voor aanmaak van het controlestaal): verdun de stockoplossing 10 keer met ultrapuur water. Deze oplossing bevat 100 mg/l ammoniumchloride (conserveringsmiddel), 20 mg/l nitraat ion, 150 mg/l bicarbonaat ion, 250 mg/l chloride ion en 250 mg/l sulfaat ion.
- QC-controlestaal: maak een controlestaal door additie van de mengstandaard natieve HAA's aan de werkoplossing QC-Matrix. De concentraties van de natieve HAA's liggen bij voorkeur in het midden van het meetbereik.

5 MONSTERBEWARING

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

6 VOORBEHANDELING

Alle stalen, inclusief procedureblanco's en controlestalen, dienen conserveringsmiddel te bevatten (100 mg/l ammoniumchloride).

De stalen worden niet gefiltreerd. Voeg een hoeveelheid mengstandaard interne standaarden toe aan een afgemeten hoeveelheid staal zodat de concentratie van de interne standaarden in het staal ongeveer gelijk zijn aan de concentratie van de IS in de kalibratiewerkoplossingen. Homogeniseer en breng een hoeveelheid over in een meetvial.

Opmerkingen:

- o *De stalen en kalibratiewerkoplossingen dienen ten allen tijd koel gehouden te worden, ook terwijl ze in de autosampler staan (maximum 15°C)*
- o *in geval van LC-MS/MS meting wordt aan elk staal 2% mierenzuur toegevoegd.*

7 METING

7.1 MEETCONDITIES

Geschikte instellingen voor IC-ESI-MS/MS en LC-MS/MS zijn bij wijze van voorbeeld opgenomen in bijlagen 1 en 2. Andere instellingen kunnen tot vergelijkbare resultaten leiden. Van de stalen en kalibratieoplossingen wordt typisch 10 tot 100 µl geïnjecteerd.

De MS/MS opnamen gebeuren met electrospray ionisatie in negatieve modus. In onderstaande tabel zijn typische ionentransities weergegeven.

Component	Q / q	Precursor ion	Product ion	IS
Monochloorazijnzuur (MCAA)	Q	93	35	¹³ C ₂ -MCAA
	q	95	37	
Monobroomazijnzuur (MBAA)	Q	139	81	¹³ C ₂ -MBAA
	q	137	79	
Dichloorazijnzuur (DCAA)	Q	127	83	¹³ C ₂ -DCAA
	q	129	85	
Dibroomazijnzuur (DBAA)	Q	217	173	¹³ C ₂ -DCAA
	q	219	175	
Broomchloorazijnzuur (BCAA)	Q	173	81	¹³ C ₂ -DCAA
	q	127	79	
Chloordibroomazijnzuur (CDBAA)	Q	207	79	¹³ C ₂ -DCAA
	q	209	81	
Broomdichloorazijnzuur (BDCAA)	Q	161	79	¹³ C ₂ -DCAA
	q	163	81	
Trichloorazijnzuur (TCAA)	Q	117	35	¹³ C ₂ -DCAA
	q	119	35	
Tribroomazijnzuur (TBAA)	Q	251	79	¹³ C ₂ -DCAA
	q	253	81	
Dalapon(DCPA)	Q	141	97	¹³ C ₂ -DCAA
	q	143	99	
¹³ C ₂ -Monochloorazijnzuur	Q	97	37	-
	q	95	34	-
¹³ C ₂ -Monobroomazijnzuur	Q	139	79	-
¹³ C ₂ -Dichloorazijnzuur	Q	129	71	-
	q	129	97	-

Q = kwantificeringsion

q = confirmatie-ion

7.2 IDENTIFICATIE EN INTEGRATIE

De dataverwerking gebeurt met de software van het apparaat. Extraheer voor elke verbinding uit tabel 1 de overeenstemmende ionchromatogram en bepaal van elke geïdentificeerde piek de oppervlakte. De identificatie en kwantificatie van de HAA's gebeuren op basis van de retentietijden

en van de ionenratio's van de transitie's in bovenstaande tabel, op basis van de criteria vermeld in WAC/VI/A/003.

7.3 KALIBRATIE EN KWANTIFICATIE

De kalibratie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren, zie WAC/VI/A/003. Voor de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt eveneens verwezen naar WAC/VI/A/003.

De concentraties van de HAA's in het monster worden vervolgens berekend met behulp van de kalibratierechte of curve.

Opmerking: bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied dient voor de bepaling van de betrokken verbinding het staal verdund te worden met ultrapuur water.

8 KWALITEITSCONTROLE

Voor de kwaliteitseisen ivm procedureblanco en controle op gevoeligheid wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

8.1 TERUGVINDING VAN DE INTERNE STANDAARDEN

Voor elk monster wordt de terugvinding van de isotoopgemerkte interne standaarden bepaald, dit is de experimenteel teruggevonden hoeveelheid van elk van de bij het begin van de analyse toegevoegde interne standaarden. Dit gebeurt door vergelijking van de piekoppervlakte van de isotoop gemerkte verbinding bekomen voor het monster ($A_{is(monster)}$) t.o.v. de gemiddelde piekoppervlakte bekomen voor een kalibratiestandaarden ($A_{is(standaard)}$).

De terugvinding wordt gegeven door:

$$\text{Terugvinding \%} = A_{is(monster)} / A_{is(standaard)} * 100$$

Voor een verantwoorde kwantificering dient het terugvindingsrendement van de ^{13}C -gemerkte HAA's minimaal 50 % en maximaal 200% te bedragen.

8.2 QC MONSTER

Om de terugvinding en de reproduceerbaarheid te controleren wordt bij elke meetreeks het QC-controlestaal geanalyseerd (zie punt 4: Reagentia en standaarden). De terugvindingen van de natieve HAA's moeten gelegen zijn tussen 70% en 130%. De gehalten worden opgetekend in controlekaarten en de opgetekende waarden worden getoetst aan de voor controlekaarten geldende criteria.

BIJLAGE 1: VOORBEELD VAN MEETCONDITIES IC-ESI-MS/MS

De IC-analyse gebeurt bv. op een Dionex IonPac AS24A (2 x 250 mm) kolom met gradiëntelutie. De kolom is voorzien van een Guard-kolom. Eventueel wordt nog een extra voorkolom toegepast als bescherming tegen bepaalde metaalionen (bv. type metal-free MCF).

Het injectievolume bedraagt bv. 100 µl.

De kolomtemperatuur bedraagt maximum 15°C.

Onderstaande IC-instellingen worden gegeven bij wijze van voorbeeld.

Kolom	Dionex IonPac AS24 250 mm x 2 mm i.d.
Voorkolom	Dionex IonPac AG24 50 mm x 2 mm i.d.
Column compartment temperature	15 °C
Autosampler tray temperature	4 °C
Hydroxide gradient*	7 mM for - 1 to 16.8 min, then 18 mM for 16.8 to 34.2 min, then 60 mM for 34.4 to 51.2 min, then 7 mM for 51.4 to 56 min
Eluent flow rate	0.30 mL/min
Post-column solvent	100% acetonitrile at 0.2 mL/min
Suppressor	Dionex ASRS300 2 mm, external water mode
Matrix diversion divert windows	0 to 8 min, 16.5 to 21.2 min, and 33 to 39.2 min

** manueel bereid of gegenereerd dmv een electrolytic eluent generation systeem (bv. Dionex ICS3000 EG). Indien manueel bereid dient men maatregelen te nemen tegen carbonaatvorming door blootstelling aan de lucht. De vorming van carbonaat in het eluens kan aanleiding geven tot drift van de retentietijden.*

De instellingen van de MS/MS zijn toestelafhankelijk, onderstaande instellingen worden bij wijze van voorbeeld gegeven:

Experiment Type: SRM

Chrom Filter Peak Width (s): 18.0

Collision Gas Pressure (mTorr): 1.5

Use Tuned Tube Lens Value: No

Q1 Peak Width (FWHM): 0.70

Q3 Peak Width (FWHM): 0.70

Cycle Time (s): 4.000

Skimmer Offset (V): Not used

Tune Method - Adjustable parameters:

Capillary Temperature: 200.0

Vaporizer Temperature: 200.0

Sheath Gas Pressure: 45.0

Ion Sweep Gas Pressure: 0.0

Aux Valve Flow: 10.0

Spray Voltage: Positive polarity - 3600.0 , Negative polarity - 3200.0

Discharge Current: Positive polarity - 0.0 , Negative polarity - 0.0

BIJLAGE 2: VOORBEELD VAN MEETCONDITIES LC-MS/MS

De LC-analyse gebeurt met gradiëntelutie op een Agilent InfinityLab Poroshell 120 Aq-C18 (2.1 × 150 mm - 2.7 µm).

Het injectievolume bedraagt 10 µl.

De kolomtemperatuur bedraagt 50°C.

De samenstelling van de gradiënt is:

A = 0.05% mierenzuur in ultrapuur water

B = MeOH

De gradiënt is als volgt geprogrammeerd:

Tijd (min)	A %	B %	Debiet (ml/min)
0	95	5	0.25
9	5	95	0.25
9.1	95	5	0.25
12	95	5	0.25

De instellingen van de MS/MS zijn toestelafhankelijk, onderstaande instellingen worden bij wijze van voorbeeld gegeven:

Sheath Gas Heater: 150 °C

Sheath Gas Flow: 10 l/min

Drying Gas Flow (N₂): 6 L/min

Drying Gas Temperature: 120 °C

Nebulizer Pressure: 40 psi

Capillary Voltage: 2,500 V

V Charging: 0 V